



# tfos DEWS II™

## DEWS II-Pathophysiologiebericht

Übersetzung in **DEUTSCH** unterstützt von



Ursprünglich veröffentlicht in *The Ocular Surface*:

*Bron A et al., TFOS DEWS II Pathophysiology Report, The Ocular Surface (2017),  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.011>*

TFOS möchte die Unterstützung der Partner aus der Industrie in der ursprünglichen Veröffentlichung anerkennen:





Inhaltsverzeichnis verfügbar unter [ScienceDirect](#)

## The Ocular Surface

Homepage des Journals: [www.theocularsurface.com](http://www.theocularsurface.com)



### TFOS DEWS II-Pathophysiologiebericht

Anthony J. Bron, FRCOph, FMedSci, Co-Vorsitzender <sup>a, b, \*</sup>, Cintia S. de Paiva, MD, PhD, Co-Vorsitzender <sup>c</sup>, Sunil K. Chauhan, DVM, PhD, Co-Vorsitzender <sup>d</sup>, Stefano Bonini, MD <sup>e</sup>, Eric E. Gabison, MD <sup>f</sup>, Sandeep Jain, MD <sup>g</sup>, Erich Knop, MD, PhD <sup>h</sup>, Maria Markoulli, PhD, MOptom <sup>i</sup>, Yoko Ogawa, MD <sup>j</sup>, Victor Perez, MD <sup>k</sup>, Yuichi Uchino, MD, PhD <sup>j</sup>, Norihiko Yokoi, MD, PhD <sup>l</sup>, Driss Zoukhri, PhD <sup>m</sup>, David A. Sullivan, PhD <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Nuffield Department of Clinical Neurosciences, University of Oxford, Oxford, UK

<sup>b</sup> Vision and Eye Research Unit, Anglia Ruskin University, Cambridge, UK

<sup>c</sup> Department of Ophthalmology, Baylor College of Medicine, Houston, TX, USA

<sup>d</sup> Schepens Eye Research Institute & Massachusetts Eye and Ear, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

<sup>e</sup> Department of Ophthalmology, University Campus Biomedico, Rome, Italy

<sup>f</sup> Department of Ophthalmology, Fondation Ophtalmologique Rothschild & Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France

<sup>g</sup> Department of Ophthalmology and Visual Sciences, University of Illinois at Chicago, Chicago, IL, USA

<sup>h</sup> Departments of Cell and Neurobiology and Ocular Surface Center Berlin, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

<sup>i</sup> School of Optometry and Vision Science, University of New South Wales, Sydney, Australia

<sup>j</sup> Department of Ophthalmology, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

<sup>k</sup> Department of Ophthalmology, Bascom Palmer Eye Institute, University of Miami, Miami, FL, USA

<sup>l</sup> Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan

<sup>m</sup> Tufts University School of Dental Medicine, Boston, MA, USA

#### INFORMATIONEN ÜBER DIE ARBEIT

##### Artikelhistorie:

Eingegangen am 26. Mai 2017

Angenommen am 26. Mai 2017

##### Schlüsselwörter:

TFOS

DEWS II

Dry Eye Workshop

Keratokonjunktivitis sicca

Pathophysiologie

Glykokalix

Hyperosmolarität

Entzündung

Circulus vitiosus

#### ABSTRACT

Der TFOS DEWS II Pathophysiologie-Unterausschuss hat die an der Auslösung und Aufrechterhaltung der Keratokonjunktivitis sicca beteiligten Mechanismen überprüft. Der zentrale Mechanismus ist Wasserverlust durch Verdunstung, der zu einer hyperosmolaren Gewebeschädigung führt. Forschung zu der Erkrankung beim Menschen und an Tiermodellen hat gezeigt, dass dies entweder direkt oder durch Induktion einer Entzündung zum Verlust von sowohl Epithel- als auch Becherzellen führt. Die daraus resultierende Reduktion der Oberflächenbenetzbarkeit führt zu einem frühen Aufreißen des Tränenfilms und verstärkt durch diesen Circulus vitiosus die Hyperosmolarität. Der Schmerz bei trockenem Auge wird durch Tränenhyperosmolarität, mangelnde Benetzung, Entzündungsmediatoren und neurosensorische Faktoren verursacht, während die visuellen Symptome aufgrund von Unregelmäßigkeiten der Tränenflüssigkeit und der Augenoberfläche entstehen. Vermehrte Reibung verursacht eine Schädigung der Lider und der Augenoberfläche, was zu charakteristischer Keratopathia superficialis punctata, superiorer limbalter Keratokonjunktivitis, filamentöser Keratitis, lidkantenparallelen Bindehautfalten und Lid Wiper-Epitheliopathie führt. Häufig tritt eine hybride Keratokonjunktivitis sicca auf, die sowohl Merkmale einer hypovolämen als auch einer evaporativen KCS aufweist, und es sollten Bemühungen unternommen werden, den relativen Beitrag jeder Form zum Gesamtbild zu ermitteln. Zu diesem Zweck werden praktische Methoden zum Messen der Tränenevaporation in der Klinik als auch Methoden zum Messen der Osmolarität auf Gewebeebe benötigt, um die Schwere des trockenen Auges besser zu bestimmen. Bereiche für künftige Forschung umfassen die Rolle genetischer Mechanismen bei trockenem Auge ohne Vorliegen eines Sjögren-Syndroms, die Rolle der terminalen Ducti bei der Meibom-Drüsen-Dysfunktion und der Einfluss der Blickdynamik und des Zustands bei geschlossenem Auge auf die Tränenfilmstabilität und die Entzündung der Augenoberfläche.

© 2017 Elsevier Inc. Alle Rechte vorbehalten.

#### 1. Ziele

Ziele:

\* Korrespondenzautor. Nuffield Department of Clinical Neurosciences, University of Oxford, Oxford, Vereinigtes Königreich.

E-Mail-Adresse: [anthony.bron@eye.ox.ac.uk](mailto:anthony.bron@eye.ox.ac.uk) (A. J. Bron).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.011>

1542-0124/© 2017 Elsevier Inc. Alle Rechte vorbehalten.

Translated into German by Allergan

Zusammenfassung des aktuellen Verständnisses der Tränenphysiologie in Bezug auf die Keratokonjunktivitis sicca (KCS)

Bereitstellung einer ätiologischen Klassifikation der KCS

Identifikation der Kernmechanismen der KCS, insbesondere der Hyperosmolarität der Augenoberfläche, der Tränenfilminstabilität und der Entzündungsreaktion

Betrachtung des Circulus vitiosus von KCS und chronischer KCS als eine sich selbst erhaltende Erkrankung

Diskussion der asymptomatischen und symptomatischen KCS und der Grundlage von KCS-Symptomen

Überdenken der Rolle der Umwelt bei der Entstehung der KCS bei gefährdeten Patienten und ihr Einfluss auf die Schwere der KCS

## 2. Definition der Keratokonjunktivitis sicca

Die Keratokonjunktivitis sicca ist eine multifaktorielle Erkrankung der Augenoberfläche, die durch einen Verlust der Homöostase des Tränenfilms gekennzeichnet ist und die von Augensymptomen begleitet wird, bei denen Instabilität und Hyperosmolarität des Tränenfilms, eine Entzündung und Schädigung der Augenoberfläche sowie neurosensorische Anomalien eine ätiologische Rolle spielen (siehe den Bericht des Unterausschusses für Definition und Klassifikation).

## 3. Einführung

Der Zweck dieses Berichts ist es, unser Verständnis der Pathophysiologie der KCS zu überprüfen und die Fortschritte hervorzuheben, die seit dem TFOS DEWS Report gemacht wurden [1]. Unsere allgemeine These besagt, dass die KCS durch Austrocknungsstress ausgelöst und durch einen Circulus vitiosus einer Entzündung der Augenoberfläche aufrechterhalten wird.

Der Daseinszweck des Auges ist das Sehen, und der präkorneale Tränenfilm und die Kornea stellen das erste lichtbrechende Element des Auges dar, das ein Bild der visuellen Welt auf der Retina fokussiert. Zur Aufrechterhaltung der optischen Qualität muss der Tränenfilm fortlaufend durch Blinzeln und Tränenausscheidung aufgefrischt werden. Ohne diese Auffrischung würde der Tränenfilm destabilisiert und die Augenoberfläche schädigender Austrocknung ausgesetzt werden. Für das Erreichen einer Homöostase sind verschiedene Mechanismen vorhanden.

## 4. Anatomie und Physiologie der Augenoberfläche und des Tränensystems

### 4.1. Augenoberfläche

Die Augenoberfläche ist durch ein ununterbrochenes Epithelblatt bedeckt, das die Kornea, den vorderen Augapfel und die Tarsi bedeckt und bis zu den mukokutanen Übergängen (mucocutaneous junction, MCJ) der Lidkanten reicht. Die Hydratation der Augenoberfläche wird durch die Tränen aufrechterhalten, die das Auge kontinuierlich benetzen und für einen geschlossenen Film auf seiner exponierten Oberfläche sorgen. Die Tränen werden hauptsächlich von den Tränendrüsen ausgeschieden, während die Konjunktiva, einschließlich der Becherzellen und der Meibom-Drüsen, ebenfalls einen Beitrag zur Benetzung leistet.

Das offene Auge wird durch Verdunstung der Tränenflüssigkeit einem permanenten Austrocknungsstress ausgesetzt, ist aber durch homöostatische Mechanismen, die die Tränenausscheidung und -verteilung in Reaktion auf Signale von der Augenoberfläche regulieren, vor Schädigung geschützt. Bei der KCS führt ein Versagen dieser Mechanismen zu einem quantitativen oder qualitativen Mangel an Tränenflüssigkeit, was in der Regel zu Tränenfilminstabilität, unzureichender Benetzung und hyperosmolarer Belastung, verstärkter Reibung und chronischer mechanischer Reizung auf der Augenoberfläche führt. Dadurch

Translated into German by Allergan

wird eine Kette entzündlicher Ereignisse und Oberflächenschädigungen ausgelöst, die die Erkrankung charakterisieren.

### 4.2. Haupt- und Nebentränendrüsen

Die Haupttränendrüse ist eine seröse Tubulus-Azinus-Drüse, die hauptsächlich aus Azinus-, Ductus- und Myoepithelzellen besteht, wobei die Azinuszellen 80 % der Gesamtmenge ausmachen. Sie entwickelt sich durch einen Prozess der Abzweigung, an dem reziproke Wechselwirkungen zwischen dem Epithel und dem umgebenden Mesenchym beteiligt sind [2,3], und bildet ein dreidimensionales tubuläres Netzwerk [4]. Beim Menschen besteht die Hauptdrüse aus einem größeren Orbitalappen und einem kleineren Lidappen, der an den Bindehautsack angrenzt. Die Gänge des Orbitalappens verlaufen durch die Lidrüse, verbinden sich mit deren Gängen und münden in die superiore Fornix [5] über 6 bis 12 Öffnungen [6]. Zusätzlich befinden sich in der oberen Fornix etwa 40 und in der unteren Fornix 6 bis 8 Krause-Nebendrüsen. Die Wolfring-Nebentränendrüsen, die sich in den oberen (2–5 Drüsen) und unteren (1–3 Drüsen) Lidern befinden, sind etwas größer als Krause-Drüsen. Die Nebentränendrüsen sind tubuläre Drüsen, die bei Menschen keine Azini enthalten [7], die jedoch bei Kaninchen vorhanden sind [8]. Die Nebendrüsen stellen etwa 10 % der gesamten Tränengewebemasse dar [9] und sind ähnlich wie die Hauptdrüse innerviert [10]. Es wird daher angenommen, dass sie auf ähnliche Weise auf Reflexstimulation reagieren.

#### 4.2.1. Residente Immunzellen der Tränendrüse

Die Tränendrüse wird durch Immunzellen, die sich im Interstitium befinden, ausgiebig versorgt. Dazu gehören: Plasmazellen, B- und T-Zellen, dendritische Zellen, Makrophagen, im Knochenmark gebildete Monozyten und Mastzellen [11], (Tabelle 1).

Plasmazellen überwiegen (53,9 % der Gesamtmenge), darunter hauptsächlich Immunglobulin (Ig) A+ mit einigen IgG+, IgM+ oder IgD+-Zellen. Die IgA+-Zellen synthetisieren und sondern IgA ab, was in Azinus- und Ductuszellen transportiert, mit J-Stück- und der sekretorischen Komponente (secretory component, SC) kombiniert und als dimerisches sekretorisches IgA (sIgA) abgegeben wird [12,13]. Ein ähnlicher Vorgang kann in der Bindehaut und anderen Augen-assoziierten lymphatischen Geweben (Eye-Associated Lymphoid Tissues, EALT) ablaufen [14].

T-Zellen sind die zweithäufigsten Zellen (40,3 % der Gesamtmenge), die mit Plasmazellen im Interstitium, in Follikeln und Aggregaten und gelegentlich zwischen Azinuszellen dispergiert werden. T-Zellen-Aggregate sind typischerweise mit intralobulären Ducti assoziiert. Insgesamt sind T-Suppressor-/zytotoxische Zellen (T8) zahlreicher als T-Helferzellen (T4) und nahezu gleichmäßig auf Azini, Ducti und Interstitium verteilt. Das Verhältnis von T4 zu T8 beträgt im Interstitium 0,26. Allerdings überwiegen T4-Zellen in Follikeln und Lymphozytenaggregaten. Dendritische Zellen, Makrophagen, im Knochenmark gebildete Monozyten und Mastzellen sind ebenfalls vorhanden.

B-Zellen sind ausschließlich im Zentrum primärer Follikel und Aggregate sowie in einzelnen sekundären Follikeln zu finden, umgeben von T-Helferzellen und einer kleineren Anzahl von Suppressor-/zytotoxischen Zellen. Sie sind im Interstitium nicht zu finden. Sie machen 5,7 % der mononukleären Population aus. B-

Zellen und die dendritischen Zellen von Follikeln und Aggregaten exprimieren HLA-DR, ebenso wie Ductus-auskleidende Zellen und das Gefäßendothel. Makrophagen und dendritische Zellen treten gelegentlich auf.

4.2.2. Regulierung der Tränensekretion

Die Azinuszellen sind in Lappen um ein zentrales Lumen herum angeordnet, wobei jede Zelle an der apikalen (luminalen) Seite von Tight junctions umgeben ist [12,15]. Diese Konfiguration ermöglicht die unidirektionale, Sekretion von Wasser, Elektrolyten, Proteinen und Muzinen von basal nach apikal [12,15]. Der basale Teil der Zelle enthält einen großen Kern, ein raues endoplasmatisches Retikulum, Mitochondrien und den Golgi-Apparat, während der apikale Teil mit sekretorischen Granula gefüllt ist [12,15]. Die Azinuszellen synthetisieren, speichern und sezernieren Proteine und Muzine in Reaktion auf neurale und hormonelle Stimuli [13,15]. Sie sezernieren auch Elektrolyte und Wasser. Viele der sezernierten Proteine weisen entweder Wachstumsfaktor- oder bakterizide Eigenschaften auf, die für die Gesundheit der Augenoberfläche entscheidend sind. Mehrere sowohl sezernierte

Tränendrüsenfunktionen kontrollieren können [23,24]. Die Stimulation der Tränendrüsensekretion erfolgt teilweise über einen neuralen Reflexbogen, der von der Augenoberfläche ausgeht [13,15,23,25], und ein weiteres Trigemini-Eingangssignal kommt von der Nasenschleimhaut [26]. Zu den Neurotransmittern und Neuropeptiden, die von den innervierenden Nerven freigesetzt werden, gehören Acetylcholin, vasoaktives intestinales Peptid (VIP), Norepinephrin, Neuropeptid Y (NPY), Substanz P (SP) und Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP). Jeder dieser Neuromediatoren interagiert mit spezifischen Rezeptoren auf der Oberfläche von Tränendrüsenzellen, um eine bestimmte Reaktion hervorzurufen [13,15,25]. Acetylcholin und Norepinephrin sind die leistungsstärksten Stimuli für die Protein-, Muzin-, Wasser- und Elektrolytsekretion durch die Tränendrüsen [13,15].

4.2.3. Tränendrüsen-Stammzellen

Wie die Speicheldrüsen und die Brustdrüsen behalten auch die Tränendrüsen ihre Fähigkeit bei, sich während der gesamten Lebensspanne zu regenerieren. Für Epithelzellen der

Tabelle 1  
Residente Immunzellen der gesunden menschlichen Tränendrüse.

Gewebeschicht	Plasmazellen	T-Zellen	T-Zellen-Phänotyp	B-Zellen	Macs	DCs	pDCs
Azinus	53,9 %	40,3 %	Im Allgemeinen dominieren	5,7 %	0,01 %	5,6 %	+
Ductus			Suppressor-/zytotoxische T-Zellen				+
Interstitium	++++						+
Follikel + Aggregate		Insbesondere periduktal	Im Allgemeinen dominieren Helferzellen die aktivierten T-Zellen um 0,01 %	++			
Anmerkungen	Hauptsächlich IgA+ einige IgG, M, D						

Macs = Makrophagen; DCs = dendritische Zellen; pDC = plasmazytoide Zellen; Daten aus Literatur [11].

als auch membrangebundene Muzine wurden in der Tränendrüse gefunden, einschließlich MUC1, MUC4, MUC5B, MUC5Ac, MUC6, MUC7 und MUC16 [16–18]. Einige von diesen spielen lokal eine Rolle, abgesehen davon sind ihre Funktionen aber nicht bekannt.

Wie die Azinuszellen sind auch die Ductuszellen durch apikal positionierte Tight junctions polarisiert [12]. Zudem modifizieren die Ductuszellen die von den Azinuszellen sezernierte Hauptflüssigkeit durch Absorption oder Sekretion von Wasser und Elektrolyten [19,20]. Die Ductuszellen sezernieren eine KCl-reiche Lösung, so dass die letztlich ausgeschiedene Tränendrüsenflüssigkeit reich an K<sup>+</sup>-Ionen ist. Es wurde geschätzt, dass bis zu 30 % des Volumens der endgültigen Tränendrüsenflüssigkeit von den Ductuszellen sezerniert werden [19,20].

Die Myoepithel-Zellen liegen verstreut zwischen den Azinus- und Ductuszellen und der basalen Lamina und sind durch Gap junctions und Desmosomen verbunden [21]. Sie synthetisieren die basale Lamina, und ihre multiplen Prozesse bilden ein funktionelles Netzwerk um die Azinus- und Ductuszellen herum und trennen sie von der basalen Lamina und den Mesenchym-Stromazellen [22]. Myoepithelzellen enthalten kontraktile Muskelproteine ( $\alpha$ -Glattmuskelaktin, Myosin, Tropomyosin) [21], und es wird angenommen, dass sie beim Ausstoßen von Flüssigkeit aus den Azini und den Ducti helfen.

Die Tränendrüse wird vom parasympatischen und vom sympatischen Nervensystem innerviert [23,24]. In unmittelbarer Nähe der Azinus-, Ductus- und Myoepithelzellen befinden sich Nervenenden sowie Blutgefäße, die so eine große Vielfalt von

Speicheldrüsen beträgt die berichtete Zellerneuerungszeit 40–65 Tage für seröse Azinus- und 95 Tage für Ductuszellen [27]. Da die Tränendrüsen viele Merkmale mit den Speicheldrüsen gemein haben, ist es möglich, dass die Tränenepithelzellen eine ähnliche Zellerneuerungsrate haben.

In den Tränendrüsen von Mäusen [28], Ratten [29] und Menschen [28] sind Stammzellen vorhanden, und deren Beteiligung an der Reparatur wurde in Mäusen untersucht [30]. In einem Tränendrüsen-Verletzungsmodell waren Stammzellen an der Tränendrüsenregenerierung beteiligt [31], und diejenigen, die von Ackermann et al. aus Mausdrüsen isoliert wurden, hatten die Fähigkeit, in alle drei Keimschichten zu differenzieren [28].

4.2.4. Mechanismen von Drüsen-schädigung und -reparatur

Wenn die Tränendrüse akut (z. B. nach einer Strahlenexposition) oder chronisch geschädigt ist (z. B. bei Sjögren-Syndrom und anderen Autoimmunerkrankungen) [32], wird sie von Lymphozyten und anderen Immunzellen infiltriert, und zwar mit einer Prädisposition für die periduktalen Bereiche. Dies führt zu einem Verlust von Azinus-, Ductus- und Myoepithelzellen – wahrscheinlich sowohl durch Apoptose als auch durch Autophagie.

Bei einer Neumodellierung nach einer Schädigung werden häufig Ereignisse rekapituliert, die die Entwicklung von Embryogewebe regulieren, und es überrascht daher nicht, dass programmierter Zelltod und eine Reihe von Wachstumsfaktoren und Zytokinen, die die Gewebeentwicklung bekanntermaßen regulieren, bei der Regeneration der Tränendrüse eine Rolle spielen

[30,32]. Ein wichtiger Mechanismus bei der Maudrüse ist die *epithelial-mesenchymale Transition* (EMT), die Epithelzellen während der Embryogenese hilft, migratorische und/oder invasive Eigenschaften anzunehmen [33]. Während der EMT verlieren Epithelzellen die Zell-Zell-Adhäsion und die Zell-Matrix-Adhäsion, die Polarität und die epithelspezifischen Marker, sie durchlaufen eine zytoskelettale Remodellierung und erlangen einen mesenchymalen Phänotyp [33]. Die Induktion der EMT erzeugt Zellen mit mesenchymalen stammzellenähnlichen Eigenschaften, die eine signifikante Rolle bei der Gewebereparatur spielen können [34,35].

### 4.3. Die Meibom-Drüsen

Die Meibom-Drüsen sind modifizierte, seröse, holokrine Drüsen, deren Azini beim Sekretionsprozess ihren gesamten Inhalt ausschütten. Das sekretorische Produkt (Meibomlipid oder Meibum) wird in ein flaches Reservoir in der Lidkante direkt vor der mukokutanen Verbindung geleitet und bei jedem Lidschlag auf dem präokulären Tränenfilm verteilt. Die Embryologie, Anatomie, Histologie und Physiologie der Drüsen wurden im Bericht zu dem TFOS-Workshop zur Meibom-Drüse (2011) [36] und an anderen Stellen [37] behandelt, und hier werden nur einzelne Aspekte besprochen.

Die Entwicklung der Meibom-Drüsen hat Merkmale mit der Entwicklung der Haartalgdrüsen gemein [38]. Die Luminalzellen der Meibom-Kanäle, die dem verhornten Belag des Wimpernschafts entsprechen, exprimieren Keratohyalin granula und werden als ein modifiziertes, keratinisiertes Epithel angesehen [39]. Die Zeis-Drüsen, die den Talgbedarf der Wimpern decken, entsprechen den Meibom-Drüsen. Es scheint, dass die Verhornungskapazität der Meibom-Ductuszellen unter bestimmten Bedingungen, wie beispielsweise bei der Meibom-Drüsen-Dysfunktion (MGD) verstärkt wird. Hierbei stellt die Verhornung der terminalen Ducti ein wichtiges Merkmal dar bei der metaplastischen Trichiasis, bei der dystopische Wimpern aus Meibom-Öffnungen erwachsen können, bei der Distichiasis, bei der eine Reihe aberranter Wimpern die der Meibom-Drüsen ersetzt, und bei der folliculären Ichthyose, bei der sowohl die Meibom-Drüsen als auch die Haartalgdrüsen der Haut gemeinsam betroffen sind.

Die menschliche Meibom-Drüse ist reich mit sensorischen, sympathischen und parasympathischen Nerven innerviert [40,41]. Diese Nervenfasern exprimieren Substanz P (SP), vasoaktives intestinales Peptid (VIP), Dopamin  $\beta$ -Hydroxylase, Acetylcholinesterase, Stickoxidsynthase, Tyrosinhydroxylase, Somatostatin, Neuropeptid Y (NPY) und das Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) [40,41]. Epithelzellen der menschlichen Meibom-Drüse exprimieren auch funktionelle Muskarin- und VIP-Rezeptoren und reagieren auf ein Acetylcholinanalogon, Carbamoylcholin, und/oder VIP mit Alterationen in zyklischen AMP- und intrazellulären  $[Ca^{2+}]$ -Konzentrationen und zellulärer Proliferation [42]. Während der Differenzierung weisen diese Zellen auch eine erhöhte Expression von Genen auf, die für Proteine mit Neuronremodellierung und axonalen Wegfindungsaktivitäten kodiert sind (z. B. Netrin 4 und Alpha-2-Typ-V-Kollagen) [43]. Neben der menschlichen Meibom-Drüse enthält auch die Meibom-Drüse von Mäusen mRNA von Rezeptoren für cholinerge und adrenerge Substanzen, NPY, Serotonin, CGRP, Dopamin,  $\gamma$ -Aminobuttersäure, Glutamat,

Neurotensin und Somatostatin [36,44].

Es ist bekannt, dass die Meibom-Drüse von zahlreichen Faktoren reguliert wird. Die Meibom-Drüse *in vivo* [36] (siehe den Bericht des Unterausschusses für Sexus, Geschlecht und Hormone) und Epithelzellen der menschlichen Meibom-Drüse *in vitro* [42,43,45–61] reagieren auf zahlreiche Wirkstoffe mit Alterationen in der Proliferation, Differenzierung, cAMP-Akkumulation, Signalwegen, Genexpression und/oder Lipogenese. Zu diesen Verbindungen gehören Androgene, Östrogene, Progesteron, Glukokortikoide, Insulin, Hypophysenhormone, Mineralkortikoide, Wachstumsfaktoren, bakterielle Toxine, Antibiotika, Kationen-amphiphile Medikamente, Omega-Fettsäuren, Retinsäure, langkettige Glukose, Cyclosporin A, ein IL-1-Rezeptorantagonist, Rebamipid, Bimatoprost, Pilocarpin und Timolol [42,43,45–54,56–60,62,63].

Die chemische Analyse von exprimiertem Meibomlipid zeigt, dass es aus ca. 95 % nicht-polaren Lipiden (hauptsächlich Wachs und Cholesterolestern mit einer geringen Menge von Triglyceriden) und 5 % polaren Lipiden (das amphipathische Lipid, O-Acyl- $\omega$ -Hydroxy-Fettsäure, OAHFA) [64] und Phospholipiden (PL) besteht [65]. Die OAHFA-Konzentration übersteigt im Meibum die von PL, aber im Tränenfilm ist das Verhältnis umgekehrt [66]. Die Lipidzusammensetzung von Meibum und Tränenflüssigkeit wird im Bericht des Unterausschusses für Tränenfilm umfassend besprochen.

Der entscheidende Baustein für Cholesterin und Fettsäuresynthese ist Cytosol-Acetyl-CoA, ein Produkt des Kohlenhydrat-, Fettsäure oder Aminosäuremetabolismus [67]. Cholesterinbiosynthese umfasst die sukzessive Umwandlung von Acetyl-CoA in Acetoacetyl-CoA, 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) und Mevalonat, die jeweils von Acetoacetyl-CoA-Synthase, HMG-CoA-Synthase 1 und HMGCoA-Reduktase katalysiert werden. Cholesterin selbst wird bei der Synthese von Sexualsteroidhormonen verwendet, und die Enzyme, die diesen Prozess regulieren, sind in der menschlichen Meibom-Drüse enthalten [68].

Die Fettsäurebiosynthese umfasst die anfängliche Umwandlung von Cytosol-Acetyl-CoA in Malonyl-CoA, katalysiert durch das geschwindigkeitsbegrenzende Enzym Acetyl-CoA-Carboxylase. Malonyl-CoA wird dann bei vorhandener Enzymfettsäuresynthese in Palmitoyl-CoA umgewandelt, und letztendlich wird Palmitoyl-CoA durch das Hinzufügen von 2-Carbon-Einheiten zu länger-kettigen gesättigten Fettsäuren verlängert. Die Erzeugung ungesättigter Fettsäuren erfordert die Wirkung von Fettsäuredesaturasen. Die Fettsäuren werden zur Erzeugung neutraler und polarer Lipide genutzt. Messenger-RNAs für jedes der oben genannten Enzyme und andere Enzyme, die an der Cholesterin- und Fettsäuresynthese beteiligt sind, wurden in der Meibom-Drüse von Mäusen zusätzlich zu mRNAs für die *sterolregulierenden, elementbindenden Proteine* (SREBP) 1 und 2 nachgewiesen, die eine entscheidende Rolle bei der Regulierung ihrer Aktivität auf einer Transkriptionsebene spielen [69]. SREBP 1 wurde auch in Epithelzellen der menschlichen Meibom-Drüse nachgewiesen [52].

Die SREBPs, zusammen mit den *membranbindenden Transkriptionsfaktorproteasen* (MBTP), Site-1 und -2 (auch bekannt unter der Bezeichnung Site-1- und Site-2-Proteasen – S1P und S2P) sind wichtige Regulatoren der Cholesterin- und Fettsäuresynthese

und Homöostase [70].

SREBP-1 und SREBP-2 sind membrangebundene Transkriptionsfaktoren, die sich im endoplasmatischen Retikulum (ER) befinden. Wenn der zelluläre Bedarf für Lipide steigt, werden an das Eskortprotein Scap angelagerte SREBP in beschichteten Vesikeln zum Golgi-Apparat transportiert, wo sie eine Aktivierung innerhalb der Golgi-Membran durchlaufen. Dies findet in zwei Stufen statt. Im ersten Schritt spaltet die Site-1-Serinprotease, SIP, das SREBP-Protein in der Golgi-Membran. Im zweiten Schritt wird das Aminoterminalfragment, das den Transkriptionsfaktor enthält, von der Site-2-Protease schnell freigesetzt und migriert in den Zellnucleus, wo es die Transkription von Genen, die für die Cholesterinaufnahme und -synthese erforderlich sind, und von solchen Genen aktiviert, die am Fettsäuremetabolismus beteiligt sind [67,71,72].

Im ER befinden sich zusätzliche membrangebundene Transkriptionsfaktoren, die als sogenannte ER-Belastungssensoren agieren. Ein Mangel an einer der Funktionen, Sterolbiosynthese oder der ER-Belastungsreaktion, kann die Basis des X-Syndroms von *Ichthyosis follicularis, Atrichie und Photophobie* (IFAP-Syndrom) sein, bei dem aufgrund von Mutationen im MBTPS2-Gen keine Haartalgentwicklung in der Haut und in den Augenlidern stattfindet [73].

Relevant für die Rolle von Hormonen in Bezug auf die Meibom-Drüsenfunktion und -dysfunktion ist der Nachweis, dass die mRNA für jedes der oben aufgeführten Gene im Mausmodell mit kastrierten Mäusen durch Testosteron hochreguliert wird; dies schließt auch die ATP-Citratlyase und die Acetyl-CoA-Synthase ein, Enzyme, die für die Einleitung der Lipogenese entscheidend sind [44,69]. Schirra et al. haben nahegelegt, dass die verstärkte Expression von Genen für SREBP 1 und 2 in Reaktion auf Androgenexposition möglicherweise die hormonelle Induktion von Meibomlipiden erklärt [68]. Es ist bekannt, dass SREBP 1 von Androgenen an anderen Stellen kontrolliert wird [72].

#### 4.4. Die Konjunktiva

Die Konjunktiva ist eine Schleimhaut mit einer Lamina propria (Stroma) aus losem Bindegewebe, das von einem Epithel bedeckt ist, das permanent feucht gehalten wird. Die Konjunktiva wirkt als eine Barriere gegen Umwelteinflüsse und sondert eine Vielzahl von Produkten in den Tränenfilm ab. Sie nimmt auch selektiv Antigene für den Immunschutz auf. Die Konjunktiva kann in mehrere Bereiche unterteilt werden [74,75]. Der „Randbereich“ reicht von der Subtarsalfalte bis zur MCJ an der Lidkante [76] und schließt die Schleimhaut des Lid Wiper-Bereichs ein [36]. Proximal dazu ist die tarsale Konjunktiva fest an der Tarsalplatte angeheftet und verläuft dann weiter als ein lockerer orbitaler Bereich in Richtung auf die Fornix.

##### 4.4.1. Konjunktivaepithel

Die Konjunktivaepithelzellen sind durch *Adhäsionsverbindungen* zusammengeschlossen, die Stabilität gegenüber Scherbeanspruchung bieten, und die oberflächlichsten Zellen (d. h. in Schicht 1) sind durch *Tight junctions versiegelt*, die als eine Barriere gegen die Außenwelt agieren. Diese Barriere ist weniger dicht als die des Korneaepithels [77]. Veränderungen der Integrität der Konjunktiva und der Kornea sind mit Erkrankungen der Augenoberfläche assoziiert [78]. Zwischen den Konjunktivaepithelzellen befinden sich erhebliche interzelluläre

Räume [79], von denen angenommen wird, dass sie mit einer Rolle beim Wassertransport über das Epithel assoziiert sind. Das Konjunktivaepithel besteht aus zwei Zelltypen, den Epithelzellen und den Becherzellen, die beide von derselben Konjunktivastammzelle abgeleitet sind [80].

Abgesehen von Wasser, Elektrolyten und Muzinen erzeugen die Konjunktivaepithelzellen [81] funktionelle Proteine wie z. B. Lubrigin [82]. Die Zellen der Schicht 1 erzeugen integrale Membranmuzine, die die Oberflächenglykokalyx der Zelle darstellen, die für die Benetzung durch die wässrigen Tränen erforderlich ist [83]. Konjunktivaepithelzellen enthalten transmembrane Wasserkanäle (Aquaporine), die für die Bewegung von Wasser zwischen der Konjunktiva und der wässrigen Phase des Tränenfilms sorgen [84]. Eine weitere Epithelfunktion kann eine SC-vermittelte Transzytose von IgA von Plasmazellen in der Lamina propria sein, dies ist jedoch noch nicht nachgewiesen [85].

##### 4.4.2. Konjunktivaepithel-Stammzellen

Stammzellen können definiert werden als Progenitorzellen mit einer großen Kapazität für Zellteilung und der Fähigkeit, terminal differenzierte Nachkommen zu erzeugen [86,87]. Die Stammzellen des Korneaepithels befinden sich am Limbus, und das Thema wurde umfassend behandelt [88-91]. Die Lokalisation der Konjunktivastammzellen beim Menschen ist kontroverser. Wei et al. verwendeten überschweres Thymidin bei Kaninchen und kamen zu dem Schluss, dass die Fornix ein wichtiger Ort für Konjunktivastammzellen ist [92,93]. Allerdings berichteten Pellegrini et al., die eine klonale Analyse von Zellen verschiedener Stellen verwendeten, dass Konjunktivastammzellen gleichmäßig in der menschlichen bulbären Konjunktiva verteilt sind [80]. Pe'er und Kollegen, die mit Mäusen arbeiteten und ein Tritiumthymidin-Label verwendeten, identifizierten Konjunktivaprogenitorzellen sowohl am Limbus als auch an der mukokutanen Verbindung (MCJ), wobei die MCJ Zellen entstehen ließ, die in Richtung auf die Fornix strömten [94]. Wirtschaftler et al. berichtete von einer ähnlichen Feststellung bei Kaninchen mit einem Fokus auf Label-beibehaltende Zellen an der MCJ der Lidkante, deren transitorisch amplifizierende Nachkommen im Lauf der Zeit in Richtung auf die Fornix migrierten [95]. Sie kamen zu der Schlussfolgerung, dass sich die Konjunktivastammzellen hauptsächlich an der MCJ befanden. Zuletzt berichteten Stewart et al. aus ihrer Arbeit mit menschlichen Leichengewebe von der Expression von Stammzellenmarkern, die überall in der Konjunktiva verstreut waren und die höchsten Konzentrationen in den medialen Lid- und inferioren Fornixbereichen erreichten [96].

##### 4.4.3. Becherzellen der Konjunktiva

Menschliche Becherzellen der Konjunktiva sind als einzelne Zellen vorhanden, die mit Ausnahme eines kleinen, temporalen, perilimbalen Flecks über das Konjunktivaepithel verstreut sind. Ihre Anzahl steigt vom superioren temporalen Bereich in Richtung auf den inferioren nasalen Bereich des Bindehautsacks an [97]. Sie bündeln und scheiden das gelbildende Muzin MUC5AC aus [83], das nach vollständiger Glykosylierung eine Masse von bis zu 40 MDa hat [98,99].

Gelmuzine haben eine enorme Wasserbindungskapazität und wandeln so die wässrigen Tränen in ein muko-wässriges Gel um, das das Hauptvolumen des präokulären Tränenfilms ausmacht und die Feuchtigkeit auf der Augenoberfläche aufrecht erhält [100]. Muzine haben zudem eine schmierende Funktion an der

**Tabelle 2**

Residente Immunzellen der normalen menschlichen Konjunktiva.

Schicht	T-Zellen	Macs	LCs	PMNs	B-Zellen	Plasmazellen	NK-Zellen	Mastzellen
A. J. Bron et al. / <i>The Ocular Surface</i> xxx (2017) 441–515								
Epithel	++++ T-Zellen CD8 <sup>+</sup> > CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> /CD4 <sup>+</sup> = 3,3	+++	+	+	±			
Stroma	++++ T-Zellen CD8 <sup>+</sup> γ CD4 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> = 1,3	+++			±	+	+	+

Macs = Makrophagen; LCs = Langerhans-Zellen; PMNs = Neutrophile; NK = natürliche Killerzellen; Daten aus Literatur [114,121,1104,1105].

**Tabelle 3**

Residente Immunzellen der normalen menschlichen Kornea.

Korneaschicht	Zelltyp (Phänotyp) <sup>a</sup>	Periphere Kornea <sup>b</sup>	Zentrale Kornea
Epithelstroma	<b>Langerhans-Zellen</b> (CD45 <sup>+</sup> CD11c <sup>+</sup> CD11b <sup>lo</sup> MHC II <sup>+</sup> Langerin <sup>+</sup> )	++++	++
	<b>Im Knochenmark gebildete DCs<sup>a</sup></b> (CD45 <sup>+</sup> CD11c <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> CD8α MHCII <sup>+/−</sup> CD80/86 <sup>+/−</sup> )	++++	++
	<b>Nicht-LC DCs<sup>a</sup></b> (CD11c <sup>+</sup> Langerin <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> CD103 <sup>lo</sup> )	+++	++
	<b>Makrophagen</b> (CD45 <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> CD11c <sup>−</sup> )	+++	++
	<b>Monozytische Vorläuferzellen</b> CD14 <sup>+</sup> MHCII <sup>−</sup> B7 <sup>+</sup> CD40 <sup>+</sup> GR1 <sup>−</sup> CD3 <sup>−</sup> )	+++	+++
	<b>Gewebe-PMNs</b> (CD45 <sup>+</sup> Ly6G <sup>+</sup> )	+	-

<sup>a</sup> DCs = dendritische Zellen; LC = Langerhans-Zellen; PMNs = polymorphonukleäre Zellen.

<sup>b</sup> Einschließlich Limbusbereich; Daten aus Literatur [474,1106–1111].

Verbindungsstelle zwischen Lid und Augapfel, die wichtig für die Bewegungen des Augapfels relativ zu den Lidern ist. Diese Schmierfunktion ist besonders an der erhöhten Epithellippe des *Lid Wipers* notwendig, wo die hintere Grenze jedes Lids in engen Kontakt mit dem Augapfel kommt. Hier werden die Becherzellen in den Schleimkrypten versorgt [101], ähnlich wie die in der tarsalen Konjunktiva [102]. Das Muzin der muko-wässrigen Schicht hat noch andere schützende Eigenschaften, bindet Mikroorganismen und hemmt ihre Anheftung an das Epithel und bindet zudem sIgA und mehrere antimikrobielle Proteine und Peptide [103]. Auf diese Weise dient es als wesentlicher Bestandteil des Überwachungssystems der Augenoberfläche [104]. Die Rolle der T-Helferzellzytokine (Th1 und Th2) bei der Homöostase der Becherzellen [105] wird in einem späteren Abschnitt behandelt.

Die Freisetzung des sekretorischen Muzins, MUC5AC, kann durch parasymphatische oder sympathische Nervenreizung eingeleitet werden [106–108]. Bei Ratten stimulieren die parasymphatischen Neurotransmitter Acetylcholin und vasoaktives intestinales Peptid (VIP) die Sekretion der konjunktivalen Becherzellen *in vivo* sowohl in Zell- als auch in Organkulturen [108–110]. Zusätzlich können auch Nukleotide, die den P2Y<sub>2</sub>-Rezeptor aktivieren, wie beispielsweise ATP und UTP und P2Y<sub>2</sub>-Rezeptoragonisten, die Muzinsekretion der Becherzellen in der Konjunktiva von Ratten und Menschen stimulieren [111,112]. Zudem stimulieren die epidermalen Wachstumsfaktoren (epidermal growth factor, EGF) und der vom Gehirn stammende neurotrophe Wachstumsfaktor (brain-derived growth factor, BDNF) eine langsame Freisetzung von MUC5AC aus kultivierten konjunktivalen Becherzellen von Ratten [110,113].

#### 4.4.4. Residente Immunzellen der Konjunktiva

Eine Studie der menschlichen Konjunktiva von Hingorani et al. zeigte in der bulbären Konjunktiva eine größere Anzahl von residenten Leukozyten auf als in der Tarsalkonjunktiva [114], obwohl auch von anderen Verteilungen berichtet wurde [115].

T-Zellen (CD3<sup>+</sup>) machten die vorherrschende Zellpopulation aus, die zu 75 % aus Memory- oder vorbehandelten T-Zellen (CD45Ro<sup>+</sup>) bestand; diese Zahl stieg im Epithel auf 75–100 %. CD8<sup>+</sup>-T-Zellen traten im Epithel häufiger auf als CD4<sup>+</sup>-T-Zellen, während ihre Zahlen im Stroma etwa gleich waren. Makrophagen (CD68<sup>+</sup>) waren die zweithäufigsten Konjunktivaleukozyten sowohl im Epithel als auch im Stroma und machten zusammen mit Langerhans-Zellen die HLA DR exprimierenden Zellen aus. Die exakten Zahlen der Leukozyten im Allgemeinen und von Lymphozyten im Besonderen

variieren in verschiedenen Studien [114,116,117], aber die Autoren stimmen überein, dass T-Lymphozyten gegenüber B-Lymphozyten vorherrschen und dass die Plasmazellen, die IgA produzieren, bei weitem zahlreicher sind als solche, die IgM produzieren. Neutrophile und gelegentlich B-Zellen waren im Epithel sowohl der bulbären als auch der tarsalen Konjunktiva vorhanden, während sich Plasmazellen, natürliche Killerzellen (NK) und Mastzellen, die in kleiner Anzahl vorhanden waren, auf das Stroma beschränkten. Wie Hingorani et al. folgerten, können T-Zellen, Makrophagen und gelegentliche B-Zellen und Neutrophile im Epithel und T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, Plasmazellen, NK-Zellen Mastzellen und Neutrophile in der Substantia propria als normal angesehen werden. Eine umfassendere Besprechung des zellulären Immunabwehrsystems der Augenoberfläche ist an anderer Stelle zu finden [117–119].

Hingorani et al. fanden nur ein einziges Beispiel eines lymphatischen Aggregats, das mit der Präsenz von CALT (Konjunktiva-assoziiertes lymphatisches Gewebe) kompatibel, also Teil des MALT-Systems von schleimhautassoziiertem lymphatischem Gewebe war. Sie untersuchten aber kein Fornixgewebe, in dem CALT-Aggregate am wahrscheinlichsten zu finden sind [120]. Wotherspoon et al. [121], die die gesamte menschliche superiore und inferiore Fornixkonjunktiva in Autopsiematerial untersuchten, fanden nur in 31 % der Fälle lymphatisches Gewebe. Die residenten Immunzellen der Konjunktiva werden in Tabelle 2 und die der Kornea in Tabelle 3 zusammengefasst.

#### 4.5. Die Glykokalyx der Augenoberflächenepithel

Die apikalen Membranen der Zellen der Schicht 1 der Augenoberflächenepithel präsentieren Mikrovilli und Mikroplacae, die in die Tränenflüssigkeit hineinragen und den interaktiven Oberflächenbereich an der Schnittstelle zwischen Tränenflüssigkeit und Zelle vergrößern. Zusammenhängende Zellen der Schicht 1 sind durch Tight junctions verbunden, die den Eintritt von wasserlöslichen Lösungsmitteln in das Epithel einschränken, und eine weitere Barriere bildet die dichte apikale Glykokalyx [122], die reich an Transmembranmuzinen ist [83]. Eine starke Glykosylierung der Exodomänen der Muzine wandelt die Plasmamembranen von einer hydrophoben in eine hydrophile Oberfläche um, was für eine Benetzbarkeit des Epithels sorgt [123–125]. Die Glykokalyx agiert ebenfalls als Schmiermittel, das die Reibung an der Augenoberfläche reduziert [126,127], und als ein

Anti-Haftmittel, das eine Kolonisierung von Mikroben bekämpft [128,129].

#### 4.5.1. Die Transmembranmuzine

Die *Transmembranmuzine* der menschlichen Kornea- und Konjunktiva-Epithel-Glykokalyx [130] sind MUC1 [131], MUC4 [132] und MUC16 [133]; Galectin-3 hat weitere Rollen inne [134]. Die membranassoziierten Muzine haben kurze zytoplasmische Ausläufer, eine einzelne transmembranäre Domäne und hochgradig O-glykosilierte, extrazelluläre Ektodomänen mit einer variablen Anzahl von Tandemwiederholungen (variable number of tandem repeats, VNTR) [135,136], die mindestens 200–500 nm über die Plasmamembran, also weit über andere Zelloberflächen-Glykoproteine, hinausragen [137,138] und so in den Tränenfilm hineinreichen.

MUC1 ist das kleinste der drei Glykokalyxmuzine mit einem Molekulargewicht von ca. 120–300 kDa, und seine Größe ist nach der vollständigen Glykosylierung ungefähr verdoppelt [139]. MUC1 weist trennende Eigenschaften für die Zell-Zell-Adhäsion und die Adhäsion zwischen Zelle und extrazellulärer Matrix auf [140,141]. Der zytoplasmische Ausläufer von MUC1 (MUC1-CT) führt Signalaktivitäten unter Beteiligung von phosphorylierten Serin- und Tyrosinrückständen aus, die als Bindungsstellen für Moleküle wie beispielsweise NF- $\kappa$ B agieren [142]. Diese können die Transkription entzündungsfördernder Zytokine regulieren, die Wechselwirkung von  $\beta$ -Catenin mit E-Cadherin aufheben und die Expression der epithelial-mesenchymalen Transducer (EMT) hochregulieren [143].

MUC4 hat eine Molekularmasse von 900 kDa, ein Vielfaches der Masse von MUC1 [139]. Es wird hauptsächlich vom Konjunktivaepithel und in geringerem Maße vom Epithel des Limbus und der peripheren Kornea exprimiert. In der zentralen Kornea wird sehr wenig exprimiert [132,144].

Mit einer Molekularmasse von 2,5 MDa und einer potentiellen glykosylierten Masse von ca. 20 MDa ist MUC16 das größte Muzin, das bisher im menschlichen Körper identifiziert wurde [136,145,146]. Die Ektodomäne von MUC16 ist stark O-glykosyliert und länger als die der anderen Transmembranmuzine. Ihr zytoplasmischer Ausläufer bindet an die Ezrin/Radixin/Moesin (ERM)-Proteinfamilie, die das Muzin am Actin-Zytoskelett der Mikrovilli verankert [128]. Eine Reduzierung der MUC16-Expression in Zellen des menschlichen kornealen Limbusepithels führte zu einer verstärkten Bengalrosafarbstoffpenetration, verstärkter *Staphylococcus aureus*-Bindung an das Epithel [128] und einer Disruption der Tight junctions [147]. Diese und andere Evidenz [148] bestätigen MUC16 als eine Schlüsselkomponente der Epithel-Glykokalyx-Barriere beim Menschen, die auch zu der parazellulären Barriere mit Tight junctions an der Augenoberfläche beiträgt. Im Gegensatz dazu führt eine Reduzierung von MUC1 nicht zu einer reduzierten Barrierefunktion und verstärkt zudem signifikant die Barriere gegen die Farbstoffpenetration und das Eindringen von Bakterien [149].

Das lösliche Lektin Galectin-3, das am stärksten exprimierte kohlehydratbindende Protein des menschlichen Konjunktivaepithels [150] ist eine Komponente der Epithel-Glykokalyx. Seine Kohlehydraterkennungsdomänen (carbohydrate recognition domain, CRD) [151] binden sich an die  $\beta$ -Galactosid enthaltenden Glykane [152,153], MUC1 und MUC16 und bilden ein

polymeres *Galectin-Glykoprotein-Gitter*, das verschiedene biologische Funktionen erfüllt, wie beispielsweise die Regulierung des Rezeptor-Turnovers und die Modulation von Zell-Zell-, Zell-Matrix- und Zell-Pathogen-Wechselwirkungen [153]. Zudem trägt es zu der Barrierefunktion der Glykokalyx bei. Die Herunterregulierung der O-Glykan-Synthese durch menschliche korneale Epithelzellen in der Kultur reduziert die Barriere gegenüber der Bengalrosapenetrierung durch Reduzierung der Galectin-3-Bindung innerhalb der Glykokalyx [134], und ein ähnlicher Verlust der Barrierefunktion tritt auf, wenn keine Galectin-3-Expression stattfindet [134]. Diese Erkenntnisse weisen darauf hin, dass die Muzin-O-Glykan-Wechselwirkung mit Galectin-3 eine schützende Gitterbarriere innerhalb der apikalen Glykokalyx erzeugt [134,154]. Die Galectin-3-Konzentration in der Tränenflüssigkeit kann als ein Marker für die Schwere der KCS künftig von Interesse sein, da die Affinität von Galectin-3 für Glykane in der Glykokalyx durch Veränderungen in der Glykosylierung reduziert oder Galectin-3 von den inflammatorischen Zellen der Augenoberfläche freigesetzt werden kann [155].

#### 4.5.2. Sonstige Muzinarten

Das gelbildende Muzin MUC5AC ist das hauptsächliche sekretorische Muzin der Augenoberfläche beim Menschen [132,156,157], obwohl das lösliche Muzin MUC7 in der Tränendrüse und im Konjunktivaepithel gefunden wird [17,158]. Menschliche Tränen enthalten MUC1, MUC4, MUC16 und MUC5AC, und MUC2<sup>159</sup> wird auch in sehr geringen Konzentrationen in der Konjunktiva gefunden [157]. MUC20, das am stärksten exprimierte Muzin in der menschlichen Konjunktiva [150], befindet sich entlang der Zellmembranen der mittleren Zellschichten der kornealen und der konjunktivalen Epithelzellen [160]. mRNA-Transkripts der Transmembranmuzine MUC13, MUC15 und MUC17 wurden in der menschlichen Konjunktiva identifiziert [150,158,160]. Ihre Funktionen hier sowie die Funktion von MUC20 wurden noch nicht verdeutlicht.

#### 4.6. Die Tränenkompartimente

Wenn die Augen offen sind, werden die Tränen in 3 Kompartimenten verteilt. Das *Fornixkompartiment* belegt den Fornix- und den Retrotarsalraum, und die *Tränenmenisken* und der *Tränenfilm* bilden die *präokulären Tränen*. Es wird angenommen, dass das Fornixkompartiment das schmalste Kompartiment im *Lid Wiper*-Bereich der Lidkante ist, der direkt am Augapfel anliegt. Der präokuläre Tränenfilm überlagert die exponierte Konjunktiva und Kornea [161]. Der präkorneale Tränenfilm folgt den Konturen der Kornea, hat eine Dicke von ca. 3  $\mu$ m und ist äußerst stabil [162]. Der präbulbare Film folgt den variierenden Konturen der bulbären Konjunktiva, aber seine Dicke ist nicht bekannt.

##### 4.6.1. Die Tränenmenisken

Tränenmenisken sind Streifen wässriger Tränenflüssigkeit, die in dem Winkel zwischen dem Augapfel und den anliegenden Lidkanten liegen. Sie bilden sich durch die Kräfte der Oberflächenspannung in einigen hundert Millisekunden, wenn sich die Lider beim Blinzeln öffnen. Ein negativer hydrostatischer Druck in den entstehenden Tränenmenisken zieht Wasser aus dem sich bildenden Tränenfilm und führt so dazu, dass die beiden Kompartimente über einen Bereich *Tränenmeniskus-induzierter Verdünnung* getrennt werden. [163,164] Dies ist als eine *schwarze*



*Linie* reduzierter Fluoreszenz in dem mit Fluoreszein durchsetzten Tränenfilm zu beobachten, wo die wässrige Schicht nur eine minimale Dicke hat, während die Lipidschicht intakt bleibt (Abb. 1) [165]. Es gibt keine Evidenz für eine gelartige Schicht in den Tränenmenisken. Die Instillation eines wässrigen Tropfens expandiert das Volumen des Tränenmeniskus und des Tränenfilms und löscht die schwarze Linie vorübergehend [166].

Der negative hydrostatische Druck innerhalb der Tränenmenisken ist für deren konkave externe Oberfläche verantwortlich und arbeitet gegen den Ausfluss von wässriger Flüssigkeit in die Tränenpünktchen, sodass der Abfluss auf ca. die ersten 2 Sekunden des Blinzelnintervalls begrenzt ist [167,168]. Dieser Effekt wird verstärkt, wenn das Tränenmeniskusvolumen fällt, und kann eine bewahrende Rolle bei der hypovolämischen KCS (aqueous-deficient DED, ADDE) spielen.

**4.6.1.1. Tränenvolumen und -sekretion.** Das Volumen der Tränenmenisken steht in direktem Bezug zum Gesamtvolumen der Tränenflüssigkeit [169] und zur Tränensekretionsrate [170]. Da Höhe und Radius der Krümmung der Tränenmenisken bei ADDE reduziert sind, ist ihre Messung bei der Diagnose der KCS von diagnostischem Wert [168,171,172]. Das Volumen der Tränen wurde auf ca. 7  $\mu$ l [173] und die Sekretionsrate auf  $1,03 \pm 0,39 \mu$ l/min geschätzt mit einem Tränen-Turnover (tear turnover, TTR) von  $16,19 \pm 5,10 \%$ /min [174]. Die Tränendrüse ist für den Großteil des Tränenvolumens und -flusses verantwortlich [170], während ein kleinerer Anteil von der Konjunktiva sezerniert wird [81].

Tränenflüssigkeit wird während des Blinzeln auf dem präokulären Tränenfilm verteilt und mit diesem vermischt und geht dann durch Abfluss aus den Tränenmenisken über das Tränen-Nasengangsystem verloren. Weiterer Verlust erfolgt durch Verdunstung aus dem exponierten präokulären Tränenfilm [175–177].

#### 4.6.2. Der präkorneale Tränenfilm

Der präkorneale Tränenfilm hat eine oberflächliche Lipidschicht und eine muko-wässrige Schicht, die den größten Teil der Trändicke ausmachen und direkt mit der Glykokalyx des Epithels interagieren (siehe den Bericht des Unterausschusses für den Tränenfilm). Es gibt auch eine dünne, oberflächliche wässrige Schicht. Der Tränenfilm ist sehr stabil, und seine Schichten haften während Bewegungen des Auges zusammen [178].

#### 4.6.3. Lipidschicht des Tränenfilms

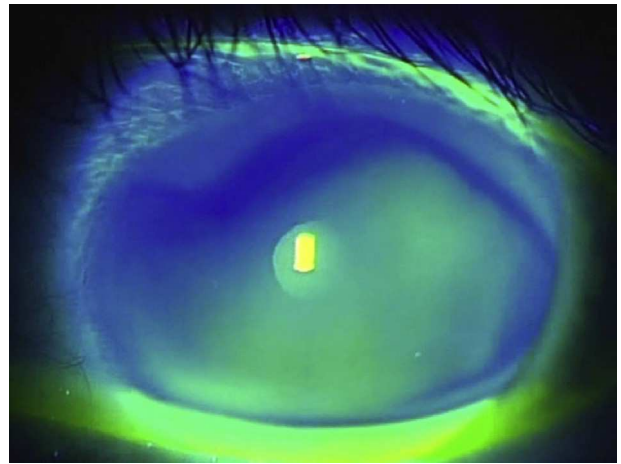
Die Lipidschicht des Tränenfilms (tear film lipid layer, TFLL) stammt aus dem Meibum-Reservoir an den Lidkanten und wird bei jedem Blinzeln durch Oberflächenspannungskräfte auf dem Tränenfilm verteilt. Sie hat eine mittlere Dicke von 42 nm (15–157 nm) [179]. Sie spielt eine signifikante Rolle bei der Stabilisierung des Tränenfilms, und bis vor kurzem wurde angenommen, dass sie eine Barriere gegen Tränenverdunstung bietet [36,180,181]. Allerdings deuteten einige Studien in der älteren und jüngeren Vergangenheit darauf hin, dass sie die Verdunstung aus der muko-wässrigen Subphase um nicht mehr als 10 % reduziert [182]. Diese Frage ist entscheidend wichtig für die Bezeichnung einiger Formen von KCS als „evaporativ“ oder „verdunstungsbedingt“ (evaporative dry eye, EDE), d. h. abhängig von einem übermäßigen Verdunstungsverlust von der

Augenoberfläche, und wird in dem Bericht des Unterausschusses für Tränenfilm weiter erörtert.

Die Meibom-Drüsen sondern eine Lipidmischung ab (Meibum), die bei Körpertemperatur flüssig ist und nach Tiffany einen Schmelzbereich zwischen 19,5 und 32,9 °C [181] bzw. zwischen 10 und 40 °C gemäß Butovich et al. aufweist. [183] Das durchsichtige Öl kann durch Drücken auf den Bereich über den Drüsen durch die geschlossenen Augenlider hindurch aus den Meibom-Öffnungen exprimiert werden. Die Exprimierbarkeit ist nasal am stärksten und temporär am schwächsten [184]. Der Transport des Öls zur Lidkante erfolgt teilweise durch Sekretion und teilweise durch die Expression kleiner Aliquoten bei jedem Blinzeln. Das Lidreservoir enthält mindestens das 30-Fache der Lipidmenge, die auf der Oberfläche des Tränenfilms vorhanden ist (ca. 300  $\mu$ g verglichen mit 10  $\mu$ g) [185,186].

Es ist wahrscheinlich, dass die Ausscheidung von Meibum durch den Lipidfluss aus den Reservoirs über die Haut der Lidkante und die Wimpern erfolgt. Dies würde dazu dienen, der Kontaminierung des Tränenfilms durch talgige Hautlipide (Sebum) entgegenzuwirken.

In Übereinstimmung mit der früheren Anregung von Holly [187] und weiteren Studien von McCulley [188] wird davon ausgegangen, dass sich die TFLL in eine tiefe Schicht mit einer Dicke von einigen Molekülen, die reich an polaren Lipiden und einigen Langketten-Fettsäuren ist, und eine oberflächliche Schicht aus nicht polaren Lipiden organisiert.



**Abb. 1.** Ein mit Fluoreszein durchsetzter unterer Tränenmeniskus nach Tropfeninstillation; der Tränenmeniskus ist breit und voll und ist von dem gefärbten präkornealen Tränenfilm durch eine schwarze Linie Tränenmeniskus-induzierter Verdünnung getrennt.

Von einigen Proteinen und Glykoproteinen, wie zum Beispiel Lipocalinen, Lysozymen und Muzin, wird angenommen, dass sie mit der Lipidschicht interkaliert sind und deren Stabilität verbessern [189–191].

**4.6.3.1. Ausbreitung der Lipidschicht.** Die Lipidschicht des Tränenfilms wird bei der Lidöffnung bei jedem Blinzeln gebildet, wenn Lipid aus dem unteren Meibom-Reservoir sich nach oben über die wässrige Subphase des präokulären Tränenfilms ausbreitet [192,193]. Es wurde zur Diskussion gestellt, dass die Verdünnung der Lipidschicht nach oben einen lokalen Anstieg der Oberflächenspannung verursacht, was die Antriebskraft für die Ausbreitung ist [193]. Es wurde ebenfalls zur Diskussion gestellt, dass die Ausbreitung anfänglich eine Wechselwirkung zwischen den polaren Meibom-Lipiden und der wässrigen Phase des

Tränenfilms involviert [190] und dass die polare Lipidschicht dann als ein Träger für die nicht polare Lipidfraktion agiert. Im gesunden Auge kann die Ausbreitung der Lipidschicht des Tränenfilms klinisch durch Interferenzvideomikroskopie beobachtet werden, bei der sie als eine sich nach oben bewegende Front horizontal angeordneter farbiger Streifen zu sehen ist. Der Lipidfilm breitet sich zunächst schnell aus (ca. 10 mm/s), und bleibt merklich hinter dem Oberlid zurück, dessen Exkursion in einigen hundert Millisekunden abgeschlossen ist [194]. Nach 1 Sekunde oder mehr verlangsamt und stabilisiert sich die Ausbreitung, während das Interferenzmuster eine beachtenswerte Stabilität über den Rest des Blinkintervalls zeigt [194,195].

Die Ausbreitung der TFLL erfolgt bei Patienten mit einer Lipiddefizienz des Tränenfilms (Goto 2003) und auch bei Mangel an wässriger Tränenflüssigkeit verzögert [194], was der geringen Dicke der wässrigen Phase zugeschrieben wird. Zudem weist unter den erstgenannten Bedingungen das TFLL-Ausbreitungsmuster eine stärker vertikale Anordnung auf [195].

Das Muster farbiger Streifen, das durch Interferometrie aufgezeigt wird, ist auf topographische Variationen in der Dicke der Lipidschicht über dem Film zurückzuführen und reflektiert seine intermolekulare Organisation. Diese kann während des Blinkens und bei Augenbewegungen nachweislich bemerkenswert stabil sein. Im Verlauf einer Reihe von Lidschlagbewegungen kann das Muster seine allgemeinen Merkmale bei jedem einzelnen Lidschlag beibehalten, die nur schrittweise abgeschwächt werden, bis sich das Muster abrupt ändert und der Prozess erneut beginnt [197]. In dieser Situation scheint es, als ob die TFLL während der Abwärtsbewegung des Lids beim Blinken von der muko-wässrigen Schicht abgezogen und komprimiert und bei der Aufwärtsbewegung wiederhergestellt wird, wobei nur eine mäßige Störung ihrer intermolekularen Organisation zwischen aufeinanderfolgenden Lidschlagbewegungen stattfindet. Der Zeitraum, über den dies beobachtet werden kann, kann bei Patienten mit einer Defizienz der Tränenlipidschicht stark verkürzt sein, was darauf hinweist, dass die intermolekulare Stabilität verloren geht [198]. Dies ist die Basis für einen klinischen Test [199].

Ähnlich zeigt das Interferenzmuster während einer Serie horizontaler Sakkaden große Stabilität und ebenfalls nur eine mäßige schrittweise Degradierung im Verlauf einer Reihe von Sakkaden. In diesem Fall verhalten sich die TFLL und die muko-wässrige Subphase wie eine flüssige Außenhaut, die sich bei jeder Sakkade mit der Kornea bewegt [197]. Der Einfluss eines KCS-Status auf dieses Verhalten wäre eine Studie wert.

#### 4.6.4. Die wässrige Schicht und die muko-wässrige Subphase

Tief in der TFLL befindet sich eine muzinreiche Schicht, die passenderweise als muko-wässrige Subphase bezeichnet wird [200]. Das Vorhandensein einer oberflächlichen wässrigen Schicht an ihrer Oberfläche, wie von Wolff (Wolff 1946) zur Diskussion gestellt, wurde debattiert [201], aber es kann davon ausgegangen werden, dass im Prozess der Tränenfilmbildung, wenn wässrige Tränen in die Tränenmenisken gezogen werden, etwas residuale Flüssigkeit an der Oberfläche der muko-wässrigen Schicht zurückgehalten wird. (Siehe den Bericht des Unterausschusses für Tränenfilm.) Diese Flüssigkeit kann vorübergehend durch Instillation eines Salzlösungstropfens expandiert werden [166].

Die Beobachtung des mit Fluoreszein durchsetzten Tränenfilms zeigt, dass die muko-wässrige Schicht des *präkornealen Films* bei

jedem Blinken neu deponiert wird und durch das vorhandene Becherzellen-Muzin die physikalischen Eigenschaften eines Gels aufweist [197]. Es wird angenommen, dass ihre Muzinkomponente hauptsächlich ein Produkt der tarsalen Becherzellen ist, während die Muzinkomponente des *präbulbären Films* wahrscheinlich eine Beimischung von Muzinen aus den tarsalen und den bulbären Drüsen ist. Eine zusätzliche Beschichtung erhält die periphere Kornea, wenn diese bei Augenbewegungen in eine beliebige Blickrichtung die Rückseite der Lider passiert [197].

Die muko-wässrige Subphase dient als Schmiermittel zwischen den Lidern und dem Augapfel [99] und hält wahrscheinlich die Benetzbarkeit der Augenoberfläche aufrecht, wo die Glykokalyx defekt ist, zum Beispiel nach einer Abrasion [201]. Sie schließt auch Epithelzellen, inflammatorische Zellen, Ablagerungen und Mikroorganismen ein, die in einem Schleimfaden im unteren konjunktivalen Sack gesammelt werden und letztendlich über das Tränenpünktchen verloren gehen [202,203].

Die muko-wässrige Schicht enthält Salze und zahlreiche, von der Tränendrüse, der Konjunktiva und der Meibom-Drüse stammende Proteine. Proteine umfassen Wachstumsfaktoren wie den epidermalen Wachstumsfaktor und den Hepatozytenwachstumsfaktor, die für die Pflege des Epithels unerlässlich sind [204,205]. Es gibt auch Abwehrproteine, wie zum Beispiel Lysozym, Laktoferrin, das oberflächenaktive Protein-D und das Kleeblatt-Peptid, das für die angeborene Immunität zuständig ist, sowie sIgA [205,206]. Proteine lakrimalen Ursprungs wie Lysozym und Laktoferrin sind bei ADDE in geringerer Menge vorhanden, was das Auge anfälliger für Infektionen macht. Es wurde prognostiziert, dass die Konzentration dieser Proteine bei EDE normal ist, bei der die Tränenfunktion normal ist, und dass eine Überprüfung dieser Prognose von Wert wäre [207].

Plasmaproteine wie Albumin können bei der KCS infolge einer Entzündung aufgrund einer stärkeren vaskulären Kapillardurchlässigkeit der Konjunktiva [205,208,209] und wahrscheinlich auch aufgrund der Durchlässigkeit des Konjunktivaepithels in die Tränenflüssigkeit gelangen. Die Tränendrüse kann als weitere Ursache nicht ausgeschlossen werden.

#### 4.7. Tränenflüssigkeit bei geschlossenen Augen

Das Schließen der Augen über Nacht verursacht eine Reihe von physiologischen Veränderungen an der Augenoberfläche. Der  $pO_2$ -Wert fällt, und es findet eine Verschiebung in Richtung anaerobem Gewebemetabolismus statt [210,211]. Der pH-Wert der Tränenflüssigkeit und die Tränenosmolarität fallen [212,213], die anteriore Kornea wird relativ hypoxisch, die Durchlässigkeit des Epithels verstärkt sich und es kommt zu einem Korneaödem [214,215]. Der Glukosekonzentration der Tränenflüssigkeit verändert sich nicht [216].

Jordan und Baum haben zur Diskussion gestellt, dass die Tränensekretion im Wachzustand zum Teil durch sensorische Stimuli von der Augenoberfläche angetrieben wird und gehen davon aus, dass sie bei minimaler Belastung durch die Umwelt am geringsten ist [217]. Dies wurde durch die Studien von Sack und Kollegen unterstützt, die gezeigt haben, dass die Tränensekretion nach einem längeren Zeitraum des Schlafs oder geschlossener Augen äußerst geringfügig ist, begleitet von einem plötzlichen Anstieg der Tränen-sIgA-Konzentration von etwa 2 % bei Reflextränenproben verglichen mit 58 % bei Tränenproben aus geschlossenen Augen [218]. Im Gegenzug sinken die

Konzentrationen der Proteine Lysozym, Laktoferrin und Lipocalin, die in der Tränenrüse gebildet werden und die etwa 85–88 % der Proteingesamtmenge in Basal- und Reflextränenproben ausmachen, in der Tränenflüssigkeit bei geschlossenen Augen auf weniger als 30 % der Gesamtmenge [218]. Der Anstieg der sIgA-Konzentration kann widerspiegeln, dass im Gegensatz zu den tränen-spezifischen Proteinen Lysozym, Laktoferrin, Lipocalin und Peroxidase [219] die Sekretion von sIgA, das in den Plasmazellen gebildet wird, nicht direkt mit der Tränensekretion gekoppelt ist. Daher könnte der Anstieg durch die fortlaufende Abgabe einer gleichmäßigen Menge IgA in eine Tränenflüssigkeit mit stark reduziertem Volumen erklärt werden. Dieser Rückgang des Sekretionsvolumens erklärt zum Teil auch den Anstieg der Tränenkonzentration bestimmter Plasmaproteine wie Vitronektin, Fibronektin,  $\alpha$ 1-Antiprotease,  $\alpha$ 2-Antiplasmin,  $\alpha$ 1-Antichymotrypsin und IgG [220,221], die durch Diffusion durch die konjunktivalen Kapillar- und Epithelbarrieren in die Tränenflüssigkeit gelangen. Solche Proteine machen bei geschlossenen Augen 2–4 % der Serumkonzentration in der Tränenflüssigkeit aus, was deutlich über der Konzentration liegt, die in Reflextränen zu finden ist. Sack verweist auch auf einen Anstieg der Gefäßdurchlässigkeit bei geschlossenen Augen [209].

Ein auffallendes Merkmal von Tränen bei geschlossenen Augen ist eine starke Ansammlung aktivierter PMNs in der Tränenflüssigkeit mehrere Stunden nach dem Schließen der Augen [218]. Ihrem Erscheinen gehen 1–2 Stunden [222] mit sehr hohen Konzentrationen von zwei wirkungsstarken leukotaxischen Mediatoren, IL-8 und LTB<sub>4</sub>, voraus.

Bis zu 70 % dieser leukotaxischen Aktivität werden durch Immunpräzipitation mit IL-8-Antikörpern beseitigt, was darauf hinweist, dass sie ihren Ursprung im Wesentlichen nicht in PMNs hat. Die Degranulation der PMNs setzt mehrere wirkungsstarke Proteasen frei, wie zum Beispiel Protease-3, Elastase, Kapthepsin G, MMP-9 und Urokinase, die aufgrund des gleichzeitigen Vorhandenseins einer großen Vielfalt von Antiproteasen nicht zur autolytischen Digestion führen. Zudem scheint auch trotz des Vorhandenseins des wirkungsstarken angiogenen Wirkstoffes 12 (R)-Hydroxyeicosa-trienoischer Säure [223] und von IL-8, was die korneale Neovaskularisation stimulieren kann, ein Anstieg von  $\alpha$ 2-Makroglobulin ( $\alpha$ 2-M) und die Umwandlung von Plasminogen zu Angiostatin dieses Ergebnis zu verhindern.

Die Tränen bei geschlossenen Augen sind auch äußerst reich an reaktiven Komplementprodukten, die in der Regel [224] in bei offenen Augen nicht in der Tränenflüssigkeit vorkommen. Tränen bei geschlossenen Augen enthalten alle Komplementkomponenten,

die für die klassische und alternative Komplementaktivierung erforderlich sind, in einer Konzentration von 2–4 % von Serum. Die Faktoren B und C3 erreichen allerdings Konzentrationen von nahezu einem Drittel der Konzentration im Serum, was auf eine lokale Quelle hindeutet [224]. Ein signifikanter Anteil von C3 in Tränen bei geschlossenen Augen wird in C3c umgewandelt, und Sack et al. folgerten, dass die C3-Umwandlung wahrscheinlich auf dem alternativen Weg oder durch Plasminspaltung stattfindet, da Tränen bei geschlossenen Augen zwei Komplementumwandlungshemmer (Laktoferrin und sIgA) enthalten [218]. Es wurde auch zur Diskussion gestellt, dass Modulatoren der Komplementaktivierung das Komplementsystem weg von der Membranattacken-Komplexbildung und hin zur Opsonierung umleiten.

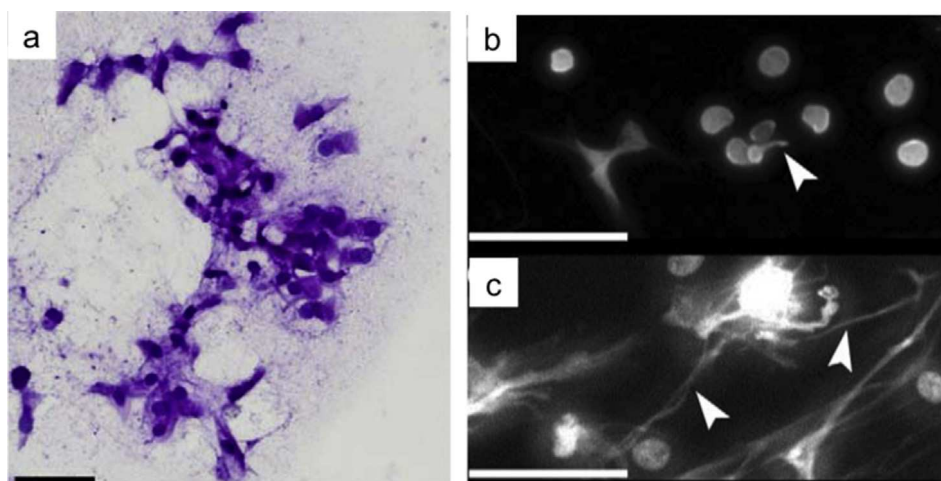
Zusammenfassend ist zu sagen, dass während einer längeren Phase geschlossener Augen leistungsstarke Abwehr- und Spülmechanismen ins Spiel kommen, die dazu dienen, Bedrohungen der Augenoberfläche durch Mikroben zu abzuwehren. Diese Ereignisse sind stark reguliert, damit der Augenoberfläche selbst kein Schaden zugefügt wird. Allerdings ist dies eine potentiell risikobehaftete Strategie, die im KCS-Status destabilisiert sein kann, und der Unterausschuss empfiehlt bei KCS-Patienten die Untersuchung von Tränen bei geschlossenen Augen und von Impressions-Zytologieproben der Konjunktiva nach einer längeren Zeit geschlossener Augen. Es besteht zusätzlich Interesse daran, Patienten mit Sjögren-Syndrom zu untersuchen, da eine genetisch bestimmte dysfunktionale Reaktion auf Entzündungsauslöser eine dysfunktionale Reaktion der Tränenflüssigkeit bei geschlossenen Augen auslösen könnte.

#### 4.8. Extrazelluläre DNA und NETs bei trockenem Auge

Seit dem TFOS DEWS-Bericht wurde ein neuer Mechanismus identifiziert, der bei KCS zu Gewebeschäden führt [1] und der die Freisetzung von DNA von abschilfernden Epithelzellen der Augenoberfläche und eindringenden Neutrophilen in die Tränenflüssigkeit beinhaltet. Diese extrazelluläre DNA (eDNA) kann allein oder in Kombination mit molekularen Komponenten neutrophilen Ursprungs eine direkte Schädigung der Augenoberfläche verursachen.

##### 4.8.1. Extrazelluläre DNA mit Ursprung im Epithel

Eine Quelle von eDNA bilden abschilfernde Epithelzellen der Augenoberfläche mit Ursprung in der Konjunktiva [114,225] und vermutlich der Kornea. Extrazelluläre DNA, die durch die



**Abb. 2.** a. HE-Färbung von exfoliativen Oberflächenzellen. b. Weitwinkel-Fluoreszenzmikroskopie-Bild nach DAPI-Färbung von Impressionsmaterial der Konjunktiva zeigt kurze, spärliche eDNA-Stränge (Pfeil) bei gesunden Probanden und c. zahlreiche lange eDNA-Stränge bei einem KCS-Patienten (Pfeile). (Aus Sonawane, S., et al., 2012.) „Ocular surface extracellular DNA and nuclease activity imbalance: a new paradigm for inflammation in DED.“ Invest Ophthalmol Vis Sci 53(13): 8253–8263. – mit freundlicher Genehmigung) [225].

Cathelicidin-Bindung ermöglicht wird [226], kann in Zellen eindringen und durch Bindung an TLR9 innerhalb der Zelle und durch Auslösen einer Signalkaskade durch MyD88 einen inflammatorischen Signalweg stimulieren [227]. Dies hat zwei Konsequenzen: i. die Einleitung einer IFN-Reaktion des Typs 1 [228] und ii. die Erzeugung eines leistungsstarken Neutrophilen-Rekrutierungssignals [229–231]. Unterstützt wird diese Annahme durch die Tatsache, dass eine topische Anwendung eines synthetischen bakteriellen DNA-Imitators auf das verletzte Korneaepithel zur Rekrutierung von Neutrophilen bei Mäusen des Wildtyps, aber nicht des TLR9<sup>-/-</sup>-Typs führt [232]. Eine verstärkte Expression von mRNA für TLR9-, MyD88- und IFN-Typ-I-Signalweggene wurde in den exfoliativen Konjunktivazellen von Patienten mit schwerem ADDE [114,225] und Patienten mit primärem Sjögren-Syndrom gefunden [233], was darauf hindeutet, dass Epithelzellen direkt zur Entzündungsreaktion beitragen und auch an der PMN-Rekrutierung beteiligt sind. INFs des Typs 1 (IFN- $\alpha/\beta$ ) verstärken die Reifung dendritischer Zellen und aktivieren das adaptive Immunsystem. Die verstärkte Expression von mRNA für IL-6 und TNF- $\alpha$  wurde auch bei exfoliativen Konjunktivazellen nachgewiesen. Die Expression dieser inflammatorischen Zytokine wird bei einigen Formen experimenteller KCS im Kornea- und im Konjunktivaepithel verstärkt [234,235].

#### 4.8.2. Extrazelluläre DNA neutrophilen Ursprungs

Neutrophile spielen eine wichtige Rolle bei der angeborenen Immunantwort des Hosts und stellen eine erste Abwehrlinie dar. In der gesunden Konjunktiva sind sie zwar nur in geringer Zahl vorhanden [114], werden aber bei Entzündung im Überfluss auf die Augenoberfläche rekrutiert und sind auf der Augenoberfläche und in der Tränenflüssigkeit von Patienten mit schwerem ADDE in großen Mengen vorhanden [114,225].

Eine Strategie, die von Neutrophilen bei ihrer Abwehr gegen Mikroorganismen genutzt wird, ist die Freisetzung zellulärer Inhalte in den extrazellulären Raum, um neutrophile extrazelluläre Fallen oder „NETs“ (Neutrophil Extracellular Traps) zu bilden [236]. Diese enthalten extrazelluläre Netze oder Gerüste mit dekondensiertem Chromatin, Histonen, neutrophiler Elastase und antimikrobielle Peptide wie Cathelicidin, von denen jedes einzelne für Epithelzellen toxisch sein kann [237]. Extrazelluläre Histone sind wichtige Mediatoren für Zelltod bei Sepsis [238], Cathelicidin-Fragmente werden als eine Ursache für Erythem, Entzündung und Telangiectasie bei Patienten mit Rosacea angesehen [239], und neutrophile Elastase verursacht die Epithelzellenapoptose [240]. NETs mit allen ihren molekularen Komponenten wurden bei der KCS in mukoiden Filmen an der Augenoberfläche nachgewiesen [114,225] (Abb. 2). Es wurde zur Diskussion gestellt, dass ihre Assoziation mit Muzin in Verbindung mit der Aktion der neutrophilen Elastase bei der Spaltung der extrazellulären Domänen membranassoziierter Muzine steht [241]. In anderen Studien wurde nachgewiesen, dass Muzine die neutrophile Aktivierung auslösen können [242].

Im gesunden Auge können NETs eine physiologische Rolle bei der Abwehr gegen Pathogene mittels antimikrobieller Aktion und durch Beschränkung von Pathogenen auf eine lokale Infektionsstelle spielen [243]. Zusätzlich kann die Immobilisierung von neutrophilen Granula innerhalb von NETs die Verbreitung von potentiell schädlichen Proteinen und Proteasen auf der Augenoberfläche verhindern. Allerdings sind eDNA und NETs bei Patienten mit schwerem ADDE in übermäßigen Mengen an der Augenoberfläche vorhanden [225], und Evidenz deutet darauf hin, dass sie an der Pathogenese der Erkrankung beteiligt sind [225]. Es gibt zwei Erklärungen für ihre hohen Konzentrationen:

i. Die Exposition von Neutrophilen gegenüber hyperosmolarer

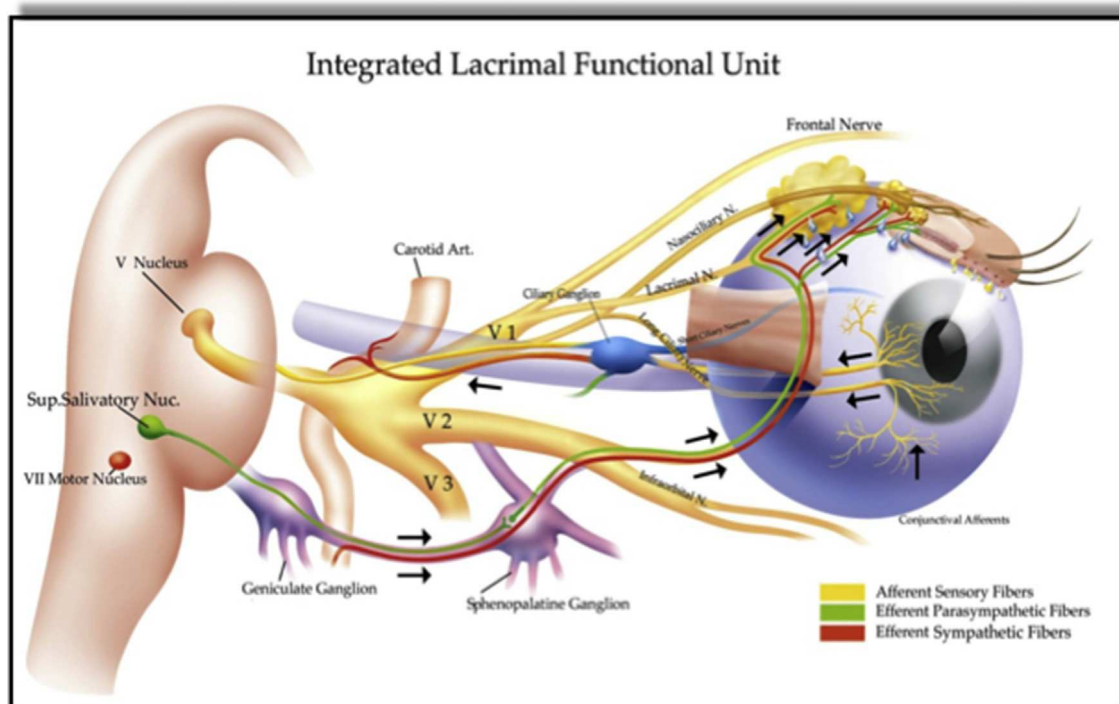


Abb. 3. Darstellung der lakrimalen Funktionseinheit. Im Wachzustand wird der wässrige Tränenfluss durch reflexauslösende Impulse von der Augenoberfläche und den Nasengängen moduliert, die sich im Trigeminaserv zur Synapse im superioren Nucleus salivatorius bewegen. (Aus Dry Eye and Ocular Surface Disorders, Pflugfelder, Beuerman, Stern, 2004 – mit freundlicher Genehmigung) [1102].

Belastung ist ein Stimulus für die NET-Bildung, und die quantitative Freisetzung von NETs wird mit einem Anstieg der Hyperosmolarität exponentiell erhöht. Dies ist für die Situation bei schwerer KCS relevant, wo aus an anderer Stelle besprochenen Gründen eine hohe Osmolarität in der Tränenflüssigkeit erreicht werden kann [244]. Hyperosmolare Belastung hat auch eine hemmende Wirkung auf einige kritische neutrophile Funktionen wie Migration und Degranulation. So können in einer hyperosmolaren Umgebung die klassischen neutrophilenbezogenen Abwehrmechanismen gestört sein.

- ii. Unter physiologischen Bedingungen werden die Konzentrationen von eDNA und NETs in der Tränenflüssigkeit durch Tränennukleasen lakrimalen Ursprungs, DNase I und durch Lipocalin (eine Endonuklease mit einem niedrigeren Aktivitätsniveau) reguliert. Nukleasen hydrolysieren eDNA und ermöglichen ihre Clearance von der Augenoberfläche. Die Konzentration von DNase I in der Tränenflüssigkeit ist ähnlich wie die in Serum und Speichel. Wichtig ist, dass die Nukleaseaktivität in der Tränenflüssigkeit von ADDE-Patienten als gering oder nicht vorhanden nachgewiesen wurde [114,225], was eine weitere Basis für den Anstieg der Konzentration von eDNA und NETs in der Tränenflüssigkeit bei KCS bietet, sowohl bei Sjögren-Syndrom-KCS (SSDE), Non-Sjögren-Syndrom-KCS (NSDE) und GVHD [245].

Es scheint also, dass die NET-Produktion bei der KCS durch Tränenhyperosmolarität stimuliert und die Clearance von sowohl eDNA als auch NETs durch die Tränennukleasedefizienz gestört wird. Möglicherweise sind beide an der weiteren Rekrutierung von Neutrophilen beteiligt [225,244]. Die Anwendung topischer DNase-I-Therapie bei KCS wird untersucht [245].

Der Unterausschuss empfiehlt, dies als einen wichtigen Bereich für zukünftige Forschung anzusehen und ihre Beteiligung bei der KCS niedrigerer Schweregrade sowie jegliche Wechselwirkung mit der PMN-Reaktion der Tränenflüssigkeit bei geschlossenen Augen zu untersuchen.

#### 4.9. Homöostase der Tränen an der Augenoberfläche

##### 4.9.1. Die lakrimale Funktionseinheit (LFU)

Die Produktion wässriger Tränen wird reguliert, um die Tränenosmolarität jederzeit innerhalb von engen Grenzwerten zu halten [246]. Die Tränenhomöostase wird von der *lakrimalen Funktionseinheit* (lacrimal functional unit, LFU) reflexartig erreicht; die LFU besteht aus der Augenoberfläche, ihren sekretorischen Anhängseln und der verbindenden Innervation (Abb. 3) [247]. Die trigeminale Innervation der Augenoberflächenepithel, einschließlich der Kornea, Konjunktiva und Lidkanten, bildet das afferente Glied der Feedback-Schleife. Die parasympathische sekretomotorische Innervation der Augenanhängsel, einschließlich der Tränendrüse (Haupt-, Lid- und Nebendrüse), Meibom-Drüsen und der konjunktivalen Becherzellen, stellen das efferente Glied dieser Schleife dar. Vom Tränen-Nasengang wird ebenfalls angenommen, dass er zu diesem Reflexsystem beiträgt [248]. Ein weiterer Reflexbogen, der zum Schutz der Augenoberfläche dient, ist die Unterstützung des Blinzeln.

##### 4.9.2. Der sekretorische Reflexbogen

Das afferente Glied des Reflexbogens entsteht im Trigeminierv, dessen zentrale Enden eine Synapse mit Neuronen im superiores Nucleus salivatorius im Hirnstamm bilden, wahrscheinlich kaudal zum Nucleus des siebten Kraniaalnervs befindlich [77]. Bei Kaninchen beträgt die sensorische Innervation der zentralen Kornea ungefähr das 10- bis 20-Fache der Innervation des Zahnnervs, während die der Konjunktiva in der Regel einen geringeren Grad aufweist [249]. Allerdings ist die Empfindlichkeit der posterioren Lidkante ähnlich wie die der zentralen Kornea [250], was für die Symptome von Blepharitis relevant ist.

Das efferente Glied des Reflexbogens ist ein parasympathischer Signalweg, dessen sekretomotorische, präganglionäre Fasern im superiores Nucleus salivatorius entstehen. Diese Fasern treten über den *Nervus intermedius* des siebten Kraniaalnervs aus der Brücke aus und erreichen das *Flügelgaumenganglion* über den Nerv des Vidianus-Kanals. Hier übermitteln sie das Signal, und die postganglionären Fasern erreichen die Tränendrüse über den Tränennerv. Es wurde ein alternativer postganglionärer Signalweg beschrieben, der die Drüse über den retro-orbitalen Nervenplexus erreicht [251].

Die Art der Übermittlung zwischen den afferenten und den efferenten Fasern im superiores Nucleus salivatorius, die Beteiligung von Interneuronen und die Wechselwirkung mit anderen Eingangssignalen und supranukleären Signalwegen ist nicht bekannt, noch ist die Stufe der zentralen Kreuzkonnektivität zwischen ipsilateralen Eingangssignalen und kontralateralen Ausgangssignalen vollständig geklärt. Aktuelle Studien schließen ihre Existenz nicht aus [252]. Dies steht im Gegensatz zu Beobachtungen zum Antrieb der Tränensekretion durch die Tränen-Nasen-Schleimhaut, wo die Kreuzkonnektivität nachgewiesen wurde [26] – eine ipsilaterale Anästhesie der Nasenschleimhaut reduziert die Tränensekretion auf beiden Seiten.

##### 4.9.3. Afferente Eingangssignale von der Augenoberfläche

4.9.3.1. *Tränensekretion und das Blinzeln.* Die trigeminalen Afferenten von der Kornea dienen einer Reihe von sensorischen Modalitäten, einschließlich Schmerzen, Mechanorezeption und Temperatur; umfassende Einzelheiten sind im Bericht des Unterausschusses für Schmerzen und Empfindung zu finden. Hier kann festgestellt werden, dass sensorische Eingangssignale von der Augenoberfläche die Tränenproduktion und die Blinzelfrequenz regeln und die Grundlage für das Gefühl von Beschwerden bei KCS bilden.

4.9.3.2. *Sensorischer Tränensekretionsreiz.* Evidenz deutet darauf hin, dass die Tränensekretion unter alltäglichen Bedingungen durch sensorische Impulse von kornealen kalteempfindlichen Thermorezeptoren angetrieben wird. Zudem scheint es, dass bei der KCS die Oberflächenausdörrung, die diese Untergruppe von Rezeptoren in Reaktion auf Hyperosmolarität und Oberflächenabkühlung stimuliert, den kompensatorischen Anstieg der Tränensekretion, die Steigerung der Blinzelfrequenz und das Gefühl des Bewusstseins für das Auge bis zur Stufe von Beschwerden steigert. Diese kompensatorische Reaktion auf das Austrocknen, dass bei der MGD-bezogenen KCS auftritt, bei der die Tränendrüse gesund ist, kann erklären, warum bei einigen Patienten mit KCS Epiphora auftritt und sie ein „nasses trockenes Auge“ zu haben scheinen [253].

Bilaterale topische Anästhesie verursacht eine Reduzierung der

Reflextränensekretion von bis zu zwei Dritteln [217], ein Wert, der manchmal als „Tränen-Grundsekretion“ bezeichnet wird. Dies ist ein angemessener Begriff, solange anerkannt wird, dass er sich auf eine Messung bezieht, die unter bestimmten Umweltbedingungen vorgenommen wurde und die Eingangssignale für die Tränensekretion aus nicht-okulären Quellen nicht ausschließt. Jordan und Baum [217] haben zur Diskussion gestellt, dass die Tränensekretionsrate in Reaktion auf Umweltbedingungen angepasst wurde, und wie erwähnt ist die Tränenproduktion nach einem längeren Zeitraum geschlossener Augen, wie beispielsweise beim Schlafen über Nacht, auf ihrem niedrigsten Niveau [218]. Zudem, wie Cross und Krupin bei Probanden mit gesunden Augen beobachteten, fiel die nach topischer Anästhesie gemessene Tränen-Grundsekretion (Durchschnitt gemäß Schirmer: 12,8 mm) nach 1 Stunde Allgemeinanästhesie merkbar (auf 1,2 mm), was auf eine Unterdrückung eines Eingangssignals aus höheren Zentralnervenzentren hinweist [254]. Heigle et al. folgerten: „Vielleicht resultiert die Tränendrüsensstimulation aus der Summe sensorischer Eingangssignale aus ipsilateraler Adnexhaut, Kornea, Nasenschleimhaut, dem kontralateralen Auge und sogar zentraler Stimulation“ [255].

Es gibt andere sensorische Eingangssignale an den Ausflusssignalweg aus Nasenschleimhaut, Retina und Haut, die aus Schmerzen und anderen schädigenden Stimuli wie intensiver Kälte oder hellem Licht hervorgehen, deren quantitative Art unbekannt ist. Wenn die unilaterale Reizung des Nasengangs auf einer Seite zu einer verstärkten Schirmer-Benetzung beider anästhesierten Augen führt (Tränen-Nasengang-Reflex), kann dies nicht als Evidenz für eine Reflexreaktion oder für Kreuzverbindungen zwischen trigeminalen Eingangssignalen von der Nasenhöhle an den superioren Nucleus salivatorius herangezogen werden. Sie könnten eine Reaktion höherer Zentren auf den schmerzhaften Stimulus darstellen. Tränenproduktion in Reaktion auf eine schmerzhafte Verletzung oder eine Retinareizung mit grellem Licht könnte eine ähnliche Grundlage haben. Die emotionale Tränenproduktion unterliegt der Steuerung höherer Zentren [256], und es gibt einen Einfluss des Hypothalamus auf autonome Zentren im Hirnstamm [257]. Unter Steady State-Bedingungen stammt der größte Teil des Tränenvolumens aus der Tränendrüse, und ihre Osmolarität reflektiert daher die der Tränensekretion, modifiziert durch Exposition gegenüber der Umwelt, wenn die Augen offen sind. Es wird vorhergesagt, dass ein längeres Blinzelintervall zu einem größeren Anstieg der Osmolarität des präokulären Tränenfilms und des Tränenmeniskus führt als ein kürzeres Blinzelintervall.

**4.9.3.3. Sensorischer Blinzelreiz.** Es wird angenommen, dass spontanes Blinzeln aufgrund der Aktivität eines „Blinzelgenerators“ im Hirnstamm auftritt und durch reflexauslösende Eingangssignale von der Augenoberfläche und Eingangssignale von höheren Zentren modifiziert wird. Einzelheiten zum Blinzelgenerator sind nicht vollständig bekannt, aber er kann in der pontomedullären Reticulärformation und dem medullären Nucleus reticularis liegen, die sowohl den Nucleus nervi facialis als auch den Nucleus des dritten Hirnnervs bedienen. Die Blinzelhäufigkeit nimmt nach bilateraler, topischer Augenanästhesie [258] sowie nach einer LASIK-Operation ab [259].

**4.9.3.4. Der Blinzelzyklus und die Trändendynamik.** Der Tränenfilm

Translated into German by Allergan

wird regelmäßig durch spontanes Blinzeln aufgefrischt [258,260], dessen Frequenz den Umweltbedingungen angepasst wird und gemäß dem persönlichen Verhalten variiert. Blinzeln spielt eine Schlüsselrolle in der Trändendynamik und sorgt für das Ausbreiten, Mischen und Verteilen der Tränenflüssigkeit und das Entfernen von Zell- und anderen Rückständen. Der Blinzelzyklus besteht aus dem Blinzeln selbst (etwa 200–300 ms) und dem Blinzelintervall, während dem der evaporative Wasserverlust stattfindet [261]. Die Blinzelhäufigkeit wird in Lidschlägen pro Minute ausgedrückt.

**4.9.3.5. Die Blinzelhäufigkeit.** Bei gesunden Erwachsenen wurde von großen Variationen der Blinzelhäufigkeit berichtet, was wahrscheinlich individuelle Variationen und den Einfluss von Umwelt- und experimentellen Bedingungen reflektiert. Sie wird stark von dem mentalen Zustand, der Aufmerksamkeit, der körperlichen Aktivität, der Augenexposition und der Umwelt beeinflusst. Wichtige Umweltfaktoren sind relative Luftfeuchtigkeit, Temperatur und Luftstrom über dem Auge. Die Blinzelhäufigkeit ist bei niedriger Luftfeuchtigkeit, Kälte und hohen Windgeschwindigkeiten erhöht.

Unter standardmäßigen Raumbedingungen (z. B. 22 °C mit einer Luftfeuchtigkeit von 40,0 %) liegt die Blinzelhäufigkeit bei gesunden Erwachsenen bei 15 bis 20 Lidschlägen pro Minute [261–263]. Bei KCS ist die Blinzelhäufigkeit erhöht, wobei angenommen wird, dass sie dort eine kompensatorische Rolle durch häufigeres Auffrischen des Tränenfilms spielt [264,265]. Die Blinzelhäufigkeit fällt während einer Reihe von häufigen visuellen Aufgaben, bei denen eine geistige Konzentration erforderlich ist, und es wird angenommen, dass der erhöhte Feuchtigkeitsverlust durch Verdunstung als ein Auslöser für die KCS agieren kann [261].

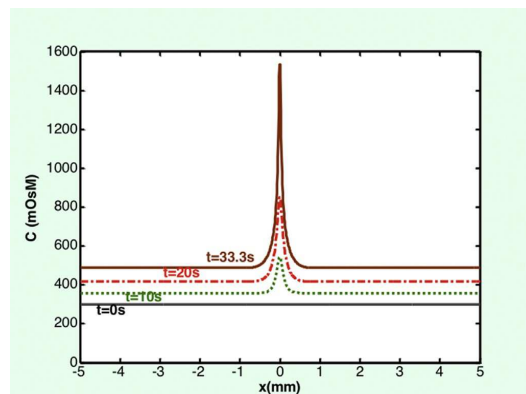
#### 4.10. Optische Leistung des Tränenfilms

Studien zu Wellenfront-Aberrationen haben gezeigt, dass die optische Qualität des Tränenfilms bei gesunden Augen während des Blinzelintervalls konstant abnimmt. Der Zeitraum, über den dies stattfindet, ist bei der KCS kürzer, wobei das Aberrationsminimum kurz vor dem Aufreißen des Tränenfilms eintritt [266].

#### 4.11. Tränenosmolarität

##### 4.11.1. Einführung

Die Tränenfilmosmolarität ist ein zentraler Faktor bei der



**Abb. 4.** Vorhergesagte Entwicklung einer Hyperosmolaritätsspitze während eines verlängerten Blinzelintervalls basierend auf Modellierungserwägungen. Die Oberflächenosmolarität steigt nach 10 s von 300 mOsm auf 545 bzw. 850 mOsm an und schnell nach 33 Sekunden zwischen Lidschlägen auf 1534 mOsm hoch, was einem Aufreißen des Tränenfilms entspricht. (Von Peng, C. C. et al., 2014). „Evaporation-driven instability of the precorneal tear film.“ *Advances in colloid and interface science* **206**: 250–264. – mit freundlicher Genehmigung [279].

Pathogenese von sowohl ADDE als auch EDE. Tränenhyperosmolarität, die aus einem geringeren Tränenfluss oder einem Aufreißen des Tränenfilms resultiert, trägt sowohl direkt als auch indirekt durch eine Kaskade von inflammatorischen Ereignissen zur Schädigung der Augenoberfläche bei. Diese hyperosmolare inflammatorische Umgebung begünstigt die Apoptose des kornealen und konjunktivalen Epithels sowie der Becherzellen, was zusätzlich zur Instabilität des Tränenfilms beiträgt. Die durch die Tränenfilminstabilität und Hyperosmolarität induzierte Entzündung trägt ebenfalls zur neurogenen chronischen Entzündung und zur Verstärkung der Schwere der Erkrankung bei [267,268].

Bei Probanden mit gesunden Augen und unter Standardbedingungen liegt die Tränenosmolarität, gemessen in Proben des unteren Tränenmeniskus, innerhalb enger Grenzwerte und ist bei gesunden Augen beachtenswert stabil [269]. Die Verdunstung während des Blinzelintervalls verursacht eine messbare Verdünnung des Tränenfilms, und es wird ein nachfolgender Anstieg der Tränenfilmosmolarität vorhergesagt [177]. Tomlinson berichtete von einem Wert von  $302 \pm 9,7$  mOsm/l basierend auf Daten aus mehreren Studien [270], und es ist von Bedeutung, dass die Variation zwischen rechten und linken Augen gering ist ( $6,9 \pm 5,9$  mOsm/l) [271]. Der kleine Bereich der Werte bei Einzelpersonen reflektiert den Einfluss homöostatischer Mechanismen, wobei das Blinzelintervall als hauptsächlicher Multiplikator der Verdunstung wahrscheinlich den Sollwert der Tränenosmolarität für die beiden Augen bestimmt [79].

Mathematische Modellierung weist darauf hin, dass es ein kleines osmolares Differential zwischen den Tränen und Tränenmenisken gibt, sodass die Osmolarität des Tränenfilms im Steady State höher ist als die der Tränenmenisken [176]. Dies kann mit dem Verhältnis der Dicke des Tränenfilms zu seiner Oberfläche, verglichen mit der Oberfläche der Tränenmenisken, sowie mit der Tränenmischung und dem Fluss in den Tränenmenisken in der frühen Phase des Intervalls zwischen Lidschlägen in Verbindung stehen [272]. Modellierungserwägungen weisen auch darauf hin, dass dieses Differenzial bei der KCS größer ist. Daher kann durch die Untersuchung einer Tränenprobe aus dem Tränenmeniskus die Osmolarität des Tränenfilms über der Oberfläche des Auges und somit des darunterliegenden Gewebes unterschätzt werden [176].

Während die bei KCS gemessenen höchsten Werte für die Tränenmeniskusosmolarität unter 500 mOsm/l liegen, ist es wahrscheinlich, dass die auf der Augenoberfläche erreichten Konzentrationen sehr viel höher sind als dieser Wert, besonders an der Stelle, wo der Tränenfilm aufreißt. Begley und Kollegen untersuchten die Beziehung zwischen dem Aufreißen des Tränenfilms und KCS, und haben zur Diskussion gestellt, dass lokale Fluktuationen in der Tränenfilmdicke Hyperosmolaritäts-„Hot-Spots“ mit signifikant höheren Konzentrationen als dem durchschnittlichen Tränenwert hervorrufen [273–275]. Liu et al. [276] verglichen die Eigenschaft und Intensität von Symptomen, die mit dem Aufreißen des Tränenfilms in Verbindung stehen, mit Symptomen, die von instillierten hyperosmolaren Lösungen hervorgerufen werden. Diese Studien zeigten für die Induktion von Symptomen einen Schwellenwert von 450 mOsm/l und für die Induktion von Symptomen, die von einem Aufreißen des Tränenfilms hervorgerufen werden, einen erforderlichen Wert von 800–900 mOsm/l. Diese Werte sind also erheblich höher als die im Tränenmeniskus von KCS-Patienten festgestellten Werte. Jüngste

mathematische Modellierung prognostiziert auch hohe Osmolaritätsspitzen in Bereichen, wo der Tränenfilm aufreißt [277–279].

Die Tränenfilmdicke wurde anhand der Fluoreszenzlöschung von Fluoreszein (FL) untersucht, der Reduzierung fluoreszenter Wirksamkeit bei steigender Konzentration, die bei hohen Konzentrationen auftritt [280]. Eine enge Übereinstimmung zwischen FL-Bildgebung und einem mathematischen Modell, das Verdunstung und Osmose einbezog, sagte eine Osmolarität des sich einheitlich verdünnenden Tränenfilms in einer Höhe von bis zu 3000 mOsm voraus. Die Spitzenwerte der Osmolarität variierten je nach der in dem Modell angewendeten Verdunstungsrate. Das mathematische Modell simulierte Osmolarität innerhalb von und um Bereiche des Tränenfilmaufreißen herum und ergab einen Osmolaritätsspitzenwert von etwa 1900 mOsm, was den Modellierungsergebnissen von Peng et al. nahekam [279] (Abb. 4). Diese lokalen Hyperosmolaritätsspitzen innerhalb von Bereichen, in denen der Tränenfilm aufreißt, werden als eine wichtige Ursache für wiederholte Belastung der Augenoberfläche angesehen.

#### 4.11.2. Tränenosmolarität bei trockenem Auge

In der Literatur variieren die Schwellenwerte für die Tränenosmolarität, die das gesunde Auge von einem Auge mit KCS unterscheiden, von 308 mOsm/L bis 316 mOsm/L [269,270]. Ein berichteter Grund für die Variabilität der Tränenosmolarität ist die Tränenfilminstabilität, ein Merkmal der Erkrankung. Normale, schwach oder mäßig und schwergradig trockene Augen haben durchschnittliche Tränenosmolaritätswerte von ca.  $302 \pm 8$  mOsm/L,  $315 \pm 10$  mOsm/L bzw.  $336 \pm 022$  mOsm/L [281]. Derzeit werden 308 mOsm/L als empfindlicher Schwellenwert für die Unterscheidung zwischen gesunden Augen und Augen im Frühstadium der KCS vorgeschlagen. Entsprechend würde der Schwellenwert von 316 mOsm/L besser zwischen leichter und mäßiger/schwerer KCS unterscheiden. Zusätzlich zu der absoluten Stufe der Tränenosmolarität kann die Variabilität im Lauf der Zeit und insbesondere die Variabilität zwischen den zwei Augen ein diagnostischer Indikator sein, und die Variabilität scheint mit der Schwere der KCS zuzunehmen [269,282].

#### 4.11.3. Faktoren, die die Tränenosmolarität beeinflussen

Die Tränenosmolarität wird durch die folgenden intrinsischen und extrinsischen Faktoren beeinflusst: i. Körperhydrierung, ii. Merkmale der Lipidschicht des Tränenfilms (TFL), iii. Weite der Lidöffnung, iv. Blinzelintervall, v. Tränenfilmstabilität und vi. Umweltbedingungen.

#### 4.11.4. Körperhydrierung

Beim Aufwachen ist die Tränenflüssigkeit leicht hypoton, und ihre Tonizität steigt im Lauf des Tages aufgrund der Verdunstung des Tränenfilms an. Es gibt eine positive Beziehung zwischen der Ganzkörperhydrierung, die als Plasmaosmolarität gemessen wird, und der Tränenosmolarität, und beide sind bei Patienten mit KCS erhöht. Zudem folgt die Tränenosmolarität bei Teilnehmern mit auferlegter systemischer Dehydrierung der Plasmaosmolarität [283–285]. Folglich wurde die Messung der Tränenosmolarität als möglicher Ersatz für die Plasmaosmolarität für die potentielle Verwendung bei der schnellen Erkennung einer Dehydrierung bei älteren Menschen oder in der Sportmedizin vorgeschlagen [283].

#### 4.11.5. Die Lipidschicht des Tränenfilms

Die Rate des Wasserverlusts aus dem Auge wird durch die

Qualität und Dicke der TFLL beeinflusst. Die Expression von Meibum bei gesunden Augen führt sowohl bei gesunden Probanden als auch bei Patienten mit KCS zu einer Verdickung der Lipidschicht des Tränenfilms [286] und zu einer Reduzierung der Verdunstung [287]. Wenn die Qualität oder Integrität der TFLL, wie durch Interferometrie untersucht, mangelhaft ist, können der Verlust durch Verdunstung und die Tränenosmolarität ebenfalls erhöht sein [175]. Es kann ein ähnliches Ergebnis vorhergesagt werden, wenn die Ausbreitung der TFLL durch einen ausgeprägten Mangel an wässriger Tränenflüssigkeit behindert wird [194].

#### 4.11.6. Weite der Lidöffnung

Wie zu erwarten wäre, wird der Verdunstungsverlust aus dem Auge durch die Größe des Tränenfilmbereichs beeinflusst. Tsubota und Nakamori untersuchten die Auswirkung der Blickposition auf die Verdunstungsrate (bei einer Luftfeuchtigkeit von 40 % und einer Blinzelfrequenz von 30 pro Minute) und zeigten auf, dass der Verdunstungsverlust beim Blick nach oben und geradeaus 3,4 bzw. 2,5 Mal größer ist als beim Blick nach unten, und zwar nicht nur pro Auge, sondern auch pro Flächeneinheit der Augenoberfläche [288], was möglicherweise darauf hinweist, dass bei einer größeren abzudeckenden Fläche die TFLL dünner wird.

#### 4.11.7. Blinzelintervall

Der Tränenfilm wird durch Blinzeln aufgefrischt [258], und die Blinzelfrequenz wird umweltbedingten und sozialen Umständen und dem persönlichen Verhalten angepasst. Das Blinzelintervall und somit die Blinzelfrequenz ist ein bestimmender Faktor für die Tränenosmolarität, wobei erwartet wird, dass eine Verlängerung des Intervalls (also eine langsamere Blinzelfrequenz) diese erhöht. Das Blinzelnverhalten kann bei Ausführung ausgewählter visueller Aufgaben so eingeschränkt werden, dass die Tränenstabilität und der Verdunstungsverlust beeinflusst werden. Eine Reduktion der Blinzelfrequenz wurde bei alltäglichen visuellen Aufgaben wie der Arbeit an einem Bildschirm, beim Lesen mit Blick nach unten [289], beim Spielen von Videospiele auf einem Monitor oder einem Handgerät und bei der Durchführung eines chirurgischen Eingriffs dokumentiert [290,291]. In diesen Situationen sind sowohl die Blickposition als auch die Schwierigkeit der visuellen Aufgabe Bestimmungsfaktoren für die Blinzelfrequenz.

Die Auswirkung einer Reduktion der Blinzelfrequenz auf die Verdunstungsbelastung während der Ausführung von Aufgaben mit Blick nach unten ist grundsätzlich schwer vorherzusagen. Sowohl die Blinzelfrequenz als auch der Lidöffnungsbereich sind verringert, wobei die Blinzelfrequenz dazu tendiert, die Tränenverdunstung zu steigern, und der Lidöffnungsbereich dazu tendiert, diese zu verringern. Zudem kann beim Ansehen von Computerbildschirmen mit den Augen in der primären Position der Kopf nach hinten geneigt sein, was die Lidöffnung reduziert.

#### 4.11.8. Aufreißen des Tränenfilms

Die Wichtigkeit eines stabilen Tränenfilms für die retinale Bildgebung ist bekannt [292], und es werden viele Ansätze verfolgt, um seinen Einfluss auf die Sehfunktion zu untersuchen. Das Aufreißen des Tränenfilms im Blinzelintervall ist ein Grund für eine Visusverschlechterung, und es wurde im Hinblick auf Art und Zeitverlauf bei Kontaktlinsesträgern im Detail untersucht [293]. Die Auswirkung des Aufreißen des präkornealen Tränenfilms auf den Visus ist den Variationen in der Filmdicke, der Ruptur des Films und, bei KCS, exponierten Epithelunregelmäßigkeiten an der

Aufrissstelle und der Präsenz von lichtstreuenden Epitheltrübungen geschuldet.

Obwohl die Sehschärfe das standardmäßige klinische Maß der Sehfunktion ist, bietet sie keine vollständige Darstellung der Sehleistung, und es kommen weitere Messungen der Sehfunktion zum Einsatz, wie beispielsweise die Kontrastempfindlichkeit [292], die Blendempfindlichkeit [294] und der Streuungsindex [295], die bei der KCS alle als gestört nachgewiesen wurden [296]. Zudem wurde ein funktionelles Maß für die Sehschärfe entwickelt [297,298].

Die Tränenfilmaufrisszeit ist das am häufigsten verwendete Maß für Tränenfilmstabilität und erhält pathologische Wichtigkeit, wenn sie kürzer ist als das Blinzelintervall. Bei den meisten gesunden Probanden ist der Tränenfilm extrem stabil, und die für die Tränenfilmaufrisszeit (tear film breakup time, TBUT) berichteten Werte liegen deutlich über denen des normalen Blinzelintervalls [299]. Allerdings tritt ein Aufreißen des Tränenfilms im Blinzelintervall auch bei einigen gesunden Probanden auf.

Die Beziehung zwischen dem Blinzelintervall und der Tränenfilmaufrisszeit kann als okulärer Schutzindex (Ocular Protection Index, OPI) erfasst werden, wobei die Tränenfilmaufrisszeit durch das Blinzelintervall geteilt wird [300]. Ein OPI von  $\geq 1$  zeigt an, dass die Aufrisszeit das Blinzelintervall übersteigt und das Auge somit während des gesamten Blinzelzyklus vor Austrocknung geschützt ist. Ein OPI von  $< 1$  zeigt an, dass das Filmaufreißen innerhalb des Blinzelintervalls stattfindet und das Auge schädlicher Austrocknung ausgesetzt ist. Bei der frühen KCS ist der OPI zunächst  $> 1$  und nähert sich bei zunehmender Schwere der Erkrankung dem Wert von 1; dies ist von der Ursache für die KCS unabhängig. Später, wenn die Erkrankung fortschreitet und der OPI unter den Wert von 1 fällt, wird die Hyperosmolarität an der Stelle, wo der Tränenfilm aufreißt, im Epithel durch den lokalen Anstieg der Verdunstung verstärkt. Für ein beliebiges Blinzelintervall gilt: je niedriger der OPI, desto stärker die Auswirkungen der Verdunstungshyperosmolarität auf der Augenoberfläche. In den Bereichen außerhalb der Stelle des Filmaufreißen ist die Osmolarität durch Tränendiffusion oder -mischung ebenfalls erhöht, aber in geringerem Maße.

Es ist erwiesen, dass durch die Messung der Tränenosmolarität in Tränenmeniskusproben der Grad der hyperosmolaren Belastung der Augenoberfläche bei einem individuellen trockenen Auge unterschätzt wird, und der Unterausschuss identifizierte einen Bedarf für die Entwicklung von Techniken für die Messung der Osmolarität auf Gewebeebene. Bei Mäusen wurden einige Erfolge beim Messen der Oberflächenkationenkonzentration mit Fluoreszenzverhältnis-Bildgebung berichtet [301], und es wurden Versuche in der klinischen Umgebung zum Messen von Tränen-[302] und Gewebeleitfähigkeit [303] unternommen, aber es steht derzeit kein klinisches Instrument zur Verfügung.

Lokale Tränenfilminstabilität, die durch mangelnde Benetzbarkeit der Augenoberfläche verursacht wird, wie Sie bei Xerophthalmie und chronischer Anwendung von topischen Konservierungsmitteln auftritt, kann ein unabhängiger Startpunkt für Tränenhyperosmolarität und KCS sein und durch den oben beschriebenen Mechanismus ausgelöst werden. Die sich daraus ergebende KCS wurde an früherer Stelle als eine „extrinsische“ Form des EDE bezeichnet, ein besserer Begriff ist jedoch



Augenoberflächen-bezogenes EDE.

#### 4.11.9. Einfluss der Umwelt

Bestimmte Umweltbedingungen erhöhen den Verdunstungsverlust und sind Risikofaktoren für KCS. Verdunstung wird durch Bedingungen mit niedriger Luftfeuchtigkeit und verstärktem Luftstrom über der Augenoberfläche erhöht [261,304,305]. Solche Bedingungen können in Kombination und auch bei natürlichen Bedingungen im Freien auftreten. Der Einfluss der Umgebung auf die Verdunstung ist die Grundlage für die Bereitstellung einer Schutzbrille oder einer Feuchtkammerbrille für die Prävention oder Behandlung von KCS-Zuständen. Es wurde nachgewiesen, dass eine Exposition gegenüber einer Umgebung mit niedriger Luftfeuchtigkeit über einen Zeitraum von nur 90 Minuten die Blinzelfrequenz erhöht, Augenbeschwerden verstärkt und die Präsenz von Zytokinen und Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) in der Tränenflüssigkeit erhöht [264,306].

#### 4.12. Disruption der kornealen Epithelbarriere

##### 4.12.1. Matrix-Metalloproteinasen und EMMPRIN

Die Disruption der Epithelbarriere auf der Augenoberfläche ist ein charakteristisches Merkmal der KCS. Die Exposition des Korneaepithels gegenüber erhöhter Osmolarität fördert Entzündung, abnormale Differenzierung, programmierten Zelltod (z. B. Apoptose) und beschleunigte Abschlüpfung [307] mit einer frühen Aktivierung von Mitogen-aktivierter Proteinkinase (MAPK) und Nuklearfaktor  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) Belastungs-Signalwegen [308,309]. Diese Signalwege lösen eine Kaskade von Ereignissen aus, unter anderem die transkriptionale Aktivierung von Genen, die inflammatorische Matrix-Metalloproteinasen (insbesondere MMP-9) und proapoptotische Faktoren kodieren [310–312].

Matrix-Metalloproteinasen (MMP) sind proteolytische Enzyme, die an der Wundheilung und Entzündungen beteiligt sind und durch die Disruption der dichten interzellulären Tight junctions der Epithelzellen, die zu einem Ausfall der Epithelbarriere führt, eine wichtige Rolle bei der KCS-Pathogenese spielen. Expression und Produktion von MMP-1, -3, -9 und -13 durch korneale Epithelzellen beim Menschen korrelieren positiv mit der Erhöhung der Osmolarität [310–312] und agieren zumindest teilweise durch den Signalweg der c-Jun N-Terminalkinase (JNK) [308]. Diese Aktivität wird durch Doxycyclin gehemmt [313]. Unter diesen Proteasen wird MMP-9 zentrale Bedeutung für die Reaktion auf hyperosmolare Belastung beigemessen [311,314]. Occludin, eine Komponente der Tight junction, ist ein bekanntes Substrat dieser Protease, und in einem Mausmodell der KCS wurden erhöhte Konzentrationen von MMP-9 mit einem Verlust der Epithelbarrierefunktion und der Oberflächenregelmäßigkeit des Epithels assoziiert [314,315]. Erhöhte MMP-9-Konzentrationen wurden auch in der Tränenflüssigkeit von Patienten mit KCS beobachtet, wobei die Konzentration von MMP-9 in der Tränenflüssigkeit mit der Schwere der KCS korreliert. Daher wurde ihre Quantifizierung als biologischer Marker für Krankheitsaktivität vorgeschlagen [316–318]. Es ist von Bedeutung, dass MMP-9-Knockout-Mäuse, die Austrocknungsstress ausgesetzt wurden, gegenüber Veränderungen der Epithelbarriere der Kornea resistenter waren als Tiere des Wildtyps [315].

Das membranübergreifende Molekül EMMPRIN (extrazellulärer Matrix-Metalloproteinase-Auslöser; auch CD\*147 genannt) ist ein

Auslöser für MMP-Expression, der durch die MMP-vermittelte Spaltung von Occludin an der Pathogenese von KCS beteiligt ist [314]. Das Molekül ist auch an der Pathogenese kornealer Geschwürbildung, Stromaeinschmelzung und Stromaremodellierung beteiligt [314,319]. Die EMMPRIN-Expression ist bei KCS-Patienten an der Augenoberfläche erhöht und korreliert mit MMP-9-Konzentrationen in der Tränenflüssigkeit und in kornealen Epithelzellkulturen [314]. Erhöhte Osmolarität oder das Hinzufügen von rekombinantem EMMPRIN in einem mit kornealen Epithelzellen konditionierten Medium war für die erhöhte Produktion von sowohl EMMPRIN als auch MMP-9 verantwortlich und führte zur Disruption von Epithelzellverbindungen durch Spaltung von Occludin. Entsprechend führte die selektive Hemmung von EMMPRIN durch siRNA in diesem System zur Hemmung sowohl der MMP-9-Induktion als auch zur Disruption der Epithelbarriere. Zudem weist eine umgekehrte Beziehung zwischen der Verteilung von Occludin und EMMPRIN als eine Funktion der Differenzierung und Stratifizierung von Epithelzellen sowohl in Kultur als auch im stratifizierten Korneaepithel *in vivo* auf eine physiologische Funktion dieses Moleküls bei der Homöostase der Epithelzellenbarriere hin. Interessanterweise wurde nachgewiesen, dass nicht konservierte künstliche Tränen die EMMPRIN-Zelloberflächenexpression bei Patienten mit KCS senkten und das Hinzufügen von Cyclosporin zu einem mit Korneaepithelzellen konditionierten Medium die Zelloberflächenexpression von EMMPRIN in einem *In-vitro*-Modell der Toxizität von Konservierungsmitteln für die Augenoberfläche selektiv hemmte [314,320].

Galectin-3 ist erforderlich, um die Barrierefunktion der Epithelglykokalyx aufrechtzuerhalten [321]. Seine Konzentrationen sind in der Tränenflüssigkeit von KCS-Patienten erhöht, was mit erhöhten Konzentrationen von MMP-9 assoziiert ist [155]. In einem *In-vitro*-Korneaepithel-Zellsystem wird davon ausgegangen, dass die Zell-Zell-Ablösung und Neuverteilung von Occludin, die durch exogenes Galectin-3 ausgelöst wird, mit der Induktion von MMP-9 einhergeht, ein Prozess, der von der Cluster-Bildung und der Wechselwirkung von Galectin-3 mit EMMPRIN auf der Zelloberfläche abhängt [321].

##### 4.13. Reibungsereignisse an der Oberfläche des Auges

Reibung zwischen Lidern und Augapfel, die sich während des Blinzeln und bei Augenbewegungen in Relation zueinander bewegen, wird als Ursache von Symptomen bei der KCS angesehen, und ihre Ursachen wurden von Pult besprochen [322]. Reibungssymptome treten nur zu Zeiten solcher relativen Bewegung zwischen Lidern und Augapfel auf.

Wenn sich zwei aneinander anliegende Oberflächen relativ zueinander bewegen, hängt der Grad der Reibung zwischen ihnen von der Art der Oberflächen, der Geschwindigkeit der Bewegung, der applizierten Belastung und der Gleitfähigkeit ab. Wenn die Oberflächen durch eine Flüssigkeitsschicht getrennt sind, wird dies als hydrodynamische Schmierung bezeichnet, während bei einem direkten Kontakt der Oberflächen der Begriff *Grenzflächenschmierung* verwendet wird [101,323–325]. Es kann auch ein gemischter Zustand existieren [326]. Eine geeignete Schmierung kann den Grad der Schädigung oder Abnutzung mindern, die durch Reibungskräfte verursacht wird.

#### 4.13.1. Grenzflächenschmierung

Grenzflächenschmierung trifft in der Regel zu, wenn die relative Bewegung von aneinander liegenden Oberflächen langsam ist, was in Bezug auf die Augenoberfläche während des Blinzelnintervalls der Fall ist, wenn die Augen nicht bewegt werden oder auf sich langsam bewegende Objekte gerichtet sind. Sie findet wahrscheinlich auch an den Anfangs-, End- und Umkehrpunkten des Blinzelnzyklus statt [325]. Zu diesem Zeitpunkt sind die Epithelglykokalzyzen von Tarsus und Augapfel in Kontakt mit einer veränderlichen Menge der intervenierenden muko-wässrigen Phase. Unter diesen Umständen agieren die vernetzten Muzin-Exodomänen der gesunden Glykokalyx als hydrophile Polymerbürsten, die den Reibungskoeffizienten zwischen den aneinander liegenden Oberflächen von Lid und Augapfel stark senken und Reibungsschäden minimieren [327,328].

##### 4.13.1.1. Lubrizin

Lubrizin, oder Proteoglycan 4, ist ein amphiphiles Glykoprotein, das von Synovial- und Knorpelzellen der Gelenke sowie in den großen Viszera, in Muskeln, Sehnen und Knochen, in den Augen und im Gehirn exprimiert wird [82]. In den Gelenken agiert es in Zusammenarbeit mit Hyaluronsäure als ein wirksames Grenzflächenschmiermittel und reduziert die Reibung zwischen aneinander liegenden Gelenkoberflächen [82,329–331]. In anderen Geweben kann es andere physiologische Funktionen ausüben, die die Zellproliferation und -anheftung und die Matrixbindung umfassen.

Im Auge wird Lubrizin von Trabekel-Maschenwerkzellen und vom Kornea- und Konjunktivaepithel exprimiert. Lubrizin-Messenger-RNA ist auch in Tränen- und Meibom-Drüsen vorhanden [82,330]. Laborstudien deuten darauf hin, dass Lubrizin als ein Grenzflächenschmiermittel zwischen den aneinander liegenden Oberflächen der Kornea und des Lid Wiper-Bereichs agieren kann [82]. Die Abwesenheit von Lubrizin bei PRG4-Knockout-Mäusen ist mit einem signifikanten Anstieg der kornealen Fluoreszeinfärbung assoziiert. Rekombinantes Lubrizin wurde erfolgreich synthetisiert [332] und kürzlich in einer klinischen Studie für die Behandlung von KCS untersucht [333].

##### 4.13.2. Hydrodynamische Schmierung

Hydrodynamische Schmierung wird unter Bedingungen hoher relativer Geschwindigkeit angewendet, bei der die aneinander liegenden Oberflächen durch eine Flüssigkeitsschicht getrennt sind. Für den Tarsus und den Augapfel findet dies während des Blinzeln und während Sakkaden statt. Während der Abwärtsbewegung des Lidschlags bewegt sich das Oberlid hauptsächlich in einer vertikalen Richtung, aber auch leicht nasal, über den exponierten Augapfel mit einer Durchschnittsgeschwindigkeit von  $17\text{--}28\text{ cm/s}^{-1}$  und einer maximalen Geschwindigkeit von ca.  $40\text{ cm/s}^{-1}$  [322,334]. Das untere Lid bewegt sich nasal etwa  $4,5 \pm 0,9\text{ mm}$  und leicht nach oben. Die Weite der Lidöffnung ist ebenfalls reduziert [322]. Während Sakkaden findet die Bewegung zwischen dem Tarsus und den nicht exponierten Oberflächen des Augapfels statt. Beim vertikalen Blick gibt es eine begrenzte relative Bewegung zwischen dem Oberlid und dem Augapfel.

Die Beziehung zwischen Reibung und Geschwindigkeit, Belastung und Viskosität wird durch die Stribeck-Kurve beschrieben [200,335,336]. Diese empirische Beziehung wurde

ursprünglich für Stahlzapfen-Drehlager, bei denen Ölschmierung verwendet wird, mit dem Reibungskoeffizienten auf der Y-Achse und der Hersey-Zahl (Viskosität  $\times$  Gleitgeschwindigkeit/normaler Druck) auf der X-Achse beschrieben. Viele biologische Oberflächen bestehen aus weichen, komplexen, heterogenen hydrierten Materialien (wie die Kornea und das Lidgewebe) und folgen daher möglicherweise nicht dem klassischen Verhalten nach Stribeck [337], aber die Kurve kann dennoch ein Bezugssystem für die Diskussion und Interpretation bieten.

Gemäß der Stribeck-Kurve gilt, dass wenn das Tränenvolumen ausreichend ist, die Reibung während des Blinzeln von der Rate der relativen Bewegung der aneinander liegenden Oberflächen und der Tränenviskosität abhängt.  $S = (v \cdot \eta)/t$ , wobei  $S =$  Scherreibung,  $v =$  die Geschwindigkeit des Oberlids während des Lidschlags,  $\eta =$  die Viskosität der Tränen und  $t =$  die Dicke der Tränenschicht zwischen den aneinander liegenden Oberflächen.

Die Gleichung oben legt nahe, dass für eine beliebige Tränenviskosität gilt: je dicker der Tränenfilm, desto geringer die Reibung. Bei einer Newtonschen Flüssigkeit, deren Viskosität nicht von der Scherrate abhängt, steigt die hydrodynamische Reibung mit steigender Viskosität, und dies kann für Ereignisse bei KCS relevant sein (siehe unten), aber normale Tränen verhalten sich wie eine Nicht-Newtonsche Flüssigkeit [338–340], deren Viskosität mit steigender Scherrate fällt (d. h. sie verdünnt sich bei Scherung), sodass diese Erwägung nicht anwendbar ist. Wenn also anerkannt wird, dass die Stribeck-Kurve klassischerweise für nichtporöse steife Materialien gilt und die Reibung während der Lidschläge/Sakkaden von der Rate der relativen Bewegung und der Tränenviskosität abhängt, kann gemäß dieser Beziehung davon ausgegangen werden, dass bei ausreichendem Tränenvolumen der Koeffizient der Reibung zwischen Lid und Augapfel niedrig ist. Es wird zur Diskussion gestellt, dass bei erhöhter Geschwindigkeit während des Lidschlags ein schneller Übergang von Bürste-zu-Bürste- oder Grenzflächen-Schmierung zu hydrodynamischer Schmierung stattfindet [322]. Das Lidkantenprofil kann beim Übergang von Grenzflächenschmierung zu hydrodynamischer Schmierung ebenfalls wichtig sein [322].

Reibung ist bei KCS-Zuständen aufgrund einer unzureichenden Benetzung [341] mit dem Verlust von Muzin und Glykokalyx oder, bei ADDE, von Flüssigkeitsvolumen stark erhöht. Dies kann eine Schädigung an bestimmten Stellen wie zum Beispiel bei der Lid Wiper-Epitheliopathie (LWE) [342], parallelen Konjunktivafalten (LIPCOF) [343] und bei Keratokonjunktivitis des superioren Limbus (superior limbic keratoconjunctivitis, SLK) verursachen.

##### 4.13.3. Reibungskräfte in der Lid Wiper-Region des Lids

Die Lid Wiper-Region des Lids wurde ursprünglich als der Teil des oberen Augenlids beschrieben, der in engen Kontakt mit dem Augapfel kommt und während des Lidschlags über ihn wischt [342,344]. Diese Rolle wurde zuvor von Parsons [345] und von Ehlers [323] basierend auf der Erkennung eines „stratifizierten squamösen“ Epithels an dieser Stelle vorgestellt. Sie ist nun als ein Merkmal sowohl des oberen als auch des unteren Lids anerkannt [346].

Der obere Lid Wiper besteht aus einem erhöhten Streifen marginalen Konjunktivaepithels mit einer anfänglichen Dicke von  $100\text{ }\mu\text{m}$  und einer variablen Breite von  $0,3\text{ bis }1,5\text{ mm}$ , die über die

volle Länge des Lidrands auf der Ebene des Riolan'schen Muskels reicht. Laut Knop besteht er aus einem stratifizierten cuboidalen Epithel [40], das während des Lidschlags eng am Augapfel anliegt [326,347], und dies ist wahrscheinlich der Bereich des engsten Kontakts zwischen dem Oberlid und vermutlich dem Unterlid und dem Augapfel. Es wird angenommen, dass die Tarsalschleimhaut im Oberlid, die proximal zu dieser Zone liegt und durch eine muko-wässrige Schicht unbekannter Dicke (innerhalb des „Kessing'schen Raums“) vom Augapfel getrennt ist [36,97], weniger eng mit dem Augapfel in Kontakt ist. Es wird angenommen, dass die Präsenz von sowohl Becherzellen als auch Becherzellkrypten im Lid Wiper-Epithel [40,101] ein lokales muzinöses Schmiersystem an diesem Punkt des primären Kontakts bereitstellt, was während des Lidschlags wichtig und bei Augenbewegungen, wenn die angewendeten Kräfte geringer sind, weniger wichtig ist.

#### 4.13.4. Die Konsequenzen von Scherkräften an der Augenoberfläche

Nach einer konservativen Schätzung unter Annahme einer Blinkfrequenz von 12 Mal pro Minute über einen 16 Stunden langen Tag würde eine Person im Verlauf eines Tages 11.000 Mal blinzeln, und bei Annahme einer Lidöffnung von 10 mm Höhe würde der Lid Wiper eine Distanz von mindestens 100 m über die Oberfläche der Kornea zurücklegen [101]. Ungeachtet der Präsenz eines Schmiersystems hoher Qualität ist dies eine Ursache für Scherbelastung an der Augenoberfläche. Es wird angenommen, dass dies eine Rolle bei der Epithelabschilferung, bei der punktförmigen Epithelfärbung, die im gesunden Auge an der Augenoberfläche zu finden ist, und bei der verstärkten punktförmigen Epithelfärbung bei KCS spielt. Zudem und wie bereits angemerkt trägt dies zu anderen klinischen Merkmalen der KCS bei, wie beispielsweise zur Lid Wiper-Epitheliopathie, LIPCOF und SLK, die jeweils auch in geringerem Maße ohne Vorliegen einer KCS auftreten können.

#### 4.14. Epithelabschilferung

Das folgende, auf die Kornea bezogene Szenario kann für die Abstoßung von Epithelzellen in Betracht gezogen werden. Ein ähnlicher Prozess wird für die Konjunktiva angenommen [348]. Epithelzellen treten durch die Teilung von Stammzellen am kornealen Limbus auf, und ihre Zahl wird durch Teilung von *transitorisch amplifizierenden Zellen* in der Peripherie erhöht [349]. Neu gebildete Zellen durchlaufen eine terminale Differenzierung, wenn sie zentripetal und zur Oberfläche migrieren, und nach einem Residenzzeitraum durchlaufen sie einen Prozess, der zur Abstoßung führt und dem eine Apoptose vorangehen kann [350]. Die Epithelabschilferung umfasst die Entkopplung von Zellen der Schicht 1 von benachbarten Zellen mit einem Verlust von Verbindungen, einschließlich Tight junctions und Adhärenzverbindungen, und die Dissolution der apikalen Glykokalyx. An einem bestimmten Punkt nach dem Verlust der Adhärenz zu umliegenden Zellen wird die für die Abstoßung bestimmte Zelle einfach durch Reibungskräfte verdrängt. Der Platz wird durch eine jüngere Zelle eingenommen, die bereits mit einer reifenden Glykokalyx ausgestattet ist, die durch Bildung von Tight junctions schnell mit benachbarten Zellen verbunden wird, wodurch die funktionelle Integrität der Oberfläche wiederhergestellt wird. Es ist dieser Prozess, der das vereinzelt Auftreten punktförmiger Epithelfärbung im gesunden Auge am

wahrscheinlichsten erklärt.

#### 4.14.1. Physiologische punktförmige Epithelfärbung

Das Thema der punktförmigen Epithelfärbung wurde kürzlich besprochen [348]. Ein geringer Grad punktförmiger Epithelfärbung ist ein regulärer Befund bei gesunder Kornea und Konjunktiva nach der Instillation von Färbemitteln wie Fluoreszein, Lissamingrün und Bengalrosa und kann als ein physiologisches Phänomen angesehen werden. Basierend auf Berichten in der Literatur tritt sie mit einer Häufigkeit von 4–78 % auf [351], die mit den Beurteilungsmethoden variiert, besonders mit dem Volumen und der Konzentration des instillierten Farbstoffs und dem Beobachtungszeitraum. Die Anzahl der punktförmigen Färbungen steigt mit dem Beobachtungszeitraum. Punktförmige Epithelfärbung auf Kornea und Konjunktiva mit einem charakteristischen horizontalen Muster zwischen den Lidern ist ein diagnostisches Merkmal der KCS.

Bei gesunden Probanden zeigt ein Teil der Kornea eine leichte punktförmige Färbung unmittelbar nach der Fluoreszeininstillation [351–356]. Es wurde berichtet, dass ein „klinisch signifikanter“ Grad von Fluoreszeinfärbung bei etwa 12 % der Personen auftritt, die keine Kontaktlinsen tragen [357–359], aber diese Zahl steigt an, wenn die „klinische Signifikanz“ ignoriert wird, z. B. von 37 % auf 58 % in der Studie von Korb [353]. Ähnlich zeigten 79 % der Teilnehmer in einer Studie mit gesunden Probanden (medianes Alter 22 Jahre, Altersbereich 18–50 Jahre) nach der Instillation von Fluoreszein mit einem Fluoret® einen gewissen Grad an kornealer Färbung. Über die Konjunktiva sind weniger Informationen vorhanden.

Norn berichtete die Häufigkeit punktförmiger Epithelfärbung bei normaler Kornea bei einer Ablesung 1–2 Minuten nach der Instillation von 10 µl 0,125-prozentigem Fluoreszein. Punktförmige Färbung war bei 4 % der Teilnehmer unter 40 Jahren vorhanden, und diese Zahl stieg auf 20 % bei Personen im Alter von über 50 Jahren; danach wurde die Häufigkeit stabil. Die mittlere Häufigkeit für die Gruppe insgesamt (n = 411 Kornea) betrug 17 % [360]. Ähnlich stieg die Anzahl der Punkte pro Kornea mit dem Alter, obwohl bei den meisten Teilnehmern die Anzahl der Punkte pro Kornea gering war – nur 1 % der Teilnehmer zeigten mehr als 100 Punkte pro Kornea, dagegen zeigten 35 % der Patienten mit KCS mehr als 1.000 Färbungspunkte (Tabelle 4).

Im Allgemeinen steigt die Prävalenz von Färbung und Punkthäufigkeit mit der Konzentration des Farbstoffs [360], mit der Zeit nach der Instillation des Tropfens (Korb und Korb 1970) und mit dem Alter des Teilnehmers an [360,361]. Caffery und Josephson zeigten, dass das regionale Muster der Korneafärbung für jeden Teilnehmer individuell und in beiden Augen ähnlich war und – ein wichtiger Punkt – von Tag zu Tag variierte [356], was von Schwallie et al. bestätigt wurde [362]. Sie kamen zu dem Schluss, dass die Variation mit dem natürlichen Turnover des Epithels in Zusammenhang stehen könnte.

Das physiologische Auftreten von Kornea- und Konjunktivafärbung deutet darauf hin, dass in klinischen Studien, beispielsweise zu KCS-Therapien, „keine Korneafärbung“ kein angemessenes Kriterium für die Definition der Wiederherstellung vollständiger Korneagesundheit ist. Zudem unterstreicht die zeitabhängige Färbung des normalen Korneaepithels und die Abhängigkeit von den instillierten Konzentrationen die Notwendigkeit für eine Standardisierung der Färbungsmethoden

zur Bewertung von Schädigungen der Augenoberfläche.

#### 4.14.2. Mechanismus der punktförmigen Epithelfärbung bei normalen und bei trockenen Augen

Der Mechanismus, mit dem die punktförmige Epithelfärbung bestimmt wird, wird bereits seit mehr als einem halben Jahrhundert debattiert und war das Thema in mehreren Untersuchungen jüngerer Datums [79]. Es scheint keine direkte Evidenz dafür zu geben, dass es sich bei punktförmigen Farbstoffflecken um Farbstoffpools handelt, die sich in Räumen befinden, die von abgestoßenen Zellen hinterlassen wurden. Daher ist der Begriff der punktförmigen Epithelerosion nicht angemessen [363–365]. Stattdessen scheint es, dass jeder Farbpunkt die Aufnahme von Farbstoff in eine Oberflächenepithelzelle repräsentiert.

#### 4.14.3. Färbung im normalen Auge

Epithelzellen werden täglich von der Augenoberfläche abgestoßen, und ca. 75 % der gesammelten Zellen sind Korneazellen [366]. Zellen werden in einem Tageszyklusmuster abgestoßen, wobei mehr Zellen am Morgen und im späteren Teil des Tages abgestoßen werden [367]. Bei ca. 23 % der Zellen handelt es sich um Geisterzellen ohne Nuclei, die als in einem späten Stadium der Zelldifferenzierung befindlich angesehen werden [368,369]. Dies passt zu einer früheren Studie, in der die Präsenz sowohl lebensfähiger (nur Calcein-positiv) und nicht lebensfähiger (nur Ethidium-positiv) Epithelzellen als auch eines Zwischentyps von Zellen aufgezeigt wurde, der sich sowohl mit Calcein als auch mit Ethidium anfärben ließ [367].

Die bei weitem überwiegende Mehrheit von Epithelzellen der Schicht 1 nimmt keinen Farbstoff auf, während abgestoßene Epithelzellen, die im Fornixschleimfaden gefangen sind, sich mit Bengalrosa anfärben lassen [203], wie dies auch bei menschlichen Epithelzellen des kornealen Limbus der Fall ist, die in einer Kultur gezüchtet wurden [370,371]. Ähnlich lassen sich Korneaepithelzellen von Kaninchen in Kultur mit Fluoreszein sehr leicht anfärben [372,373]. Argueso et al. lösten dieses Problem, indem sie nachwiesen, dass das ausbleibende Eindringen von Bengalrosa in Oberflächenepithelzellen im intakten Auge von der Präsenz einer reifen Glykokalyx abhängt, die MUC1- und MUC-16-Muzine vernetzt mit Galectin-3 exprimiert [128,134,148]. Die reife Glykokalyx bildet eine Barriere gegen das transmembranäre Eindringen von Farbstoff in die Epithelzellen der Schicht 1, während ein Eindringen in den parazellulären Raum durch interzelluläre Tight Junctions eingeschränkt wird. Bandamwar et al. [350,374] haben nachgewiesen, dass es sich bei Farbstoff aufnehmenden Zellen um die Zellen handelt, die während der Vorbereitung auf das Abstoßen eine Apoptose durchlaufen. Solche Zellen haben eine defekte Glykokalyx-Schicht, die für klinisch verwendete Farbstoffe durchlässig ist. Nach dem Abstoßen sind alle Epithelzellen unvollständig von Glykokalyx umgeben und daher einfach zu färben.

Es gibt die Hypothese, dass die Durchlässigkeit einer Zelle, die sich auf das Abstoßen vorbereitet, im Lauf der Zeit aufgrund chemischer und struktureller Veränderungen ihrer Glykokalyx steigt, sodass solche Zellen, die kurz vor dem Abstoßen stehen, Farbstoff nahezu sofort aufnehmen, während Zellen in einem früheren Stadium der Vorbereitung Farbstoff langsamer aufnehmen. Es wird angenommen, dass dies die Grundlage für die Auswirkung von Farbstoffkonzentration oder Beobachtungszeitraum auf die Häufigkeit der physiologischen

Färbungspunkte ist.

## 5. Die Pathologie der Keratokonjunktivitis sicca

Diese Einführungsanmerkungen sollen den Leser mit Informationen ausstatten, um die Ereignisse zu verstehen, die für die vielen Formen der KCS verantwortlich sind.

### 5.1. Einführung

Der TFOS DEWS-Bericht [1] bestätigte die Tränenhyperosmolarität zusammen mit Tränenfilminstabilität als zentrale Faktoren der KCS. Dies ermöglichte die Definition zweier großer Subtypen, des EDE, bei dem die Tränenhyperosmolarität das Ergebnis einer übermäßigen Verdunstung aus dem Tränenfilm bei vorhandener normaler Tränenfunktion ist, und dem ADDE, bei dem die Hyperosmolarität aus einer reduzierten Tränenabsonderung bei vorhandener normaler Tränenverdunstungsrate resultiert (Tabelle 5). Die Lipiddefizienz des Tränenfilms, die bei der MGD vorhanden ist, wird als typische Ursache von EDE angegeben, und die reduzierte Tränenabsonderung aufgrund einer Tränendrüsenschädigung bei der altersbedingten KCS bietet ein typisches Beispiel für ADDE. Es wurde erkannt, dass diese Subtypen der KCS koexistieren können, und dies ist der Fall beim Sjögren-Syndrom, wo ein Tränenmangel häufig mit MGD koexistiert [375,376,1201].

**Tabelle 4**

Mikropunktförmige Färbungspunkte pro Kornea nach der Instillation von Fluoreszein.

Punkte pro Kornea	Prozent mit 0,125 % Fluoreszein	Prozent mit 1,0 % Fluoreszein
Null	83	27
1–4	9	16
5–9	4	2
10–25	3	4
25–99	1/2	0
100–999	1	16
≥ 1000	0	35

Prozentsatz gesunder Korneas, die eine beliebige Anzahl von mikropunktförmigen Färbungspunkten pro Kornea nach Instillation von 10 ml entweder 0,125%igem oder 1%igem Fluoreszein (in Kombination mit 1 % Bengalrosa) aufzeigen (n = 411, einschließlich der zweiten Augen). Die Färbung wurde mehr als 1–2 Minuten nach der Farbstoffinstillation abgelesen (aus den Referenzen 348, 360).

Zudem kann bei allen Formen der Narbenkonjunktivitis KCS sekundär zu einer Tränenfizienz, einer Tränenlipiddefizienz und dem Verlust der Benetzbarkeit der Augenoberfläche auftreten.

Es sind auch andere Formen hybrider KCS vorstellbar, bei denen eine organische Erkrankung eines beliebigen Typs mit einer funktionellen Form der KCS eines anderen Typs kombiniert auftreten kann [207]. So könnte beispielsweise bei schwerem EDE der Verlust der Korneaempfindlichkeit den kompensatorischen Reiz für die Absonderung von Tränen ausschalten und zu einem sekundären, funktionellen Mangel an wässriger Tränenflüssigkeit führen. Oder bei ADDE könnte eine starke Reduzierung der Tränenfilmdicke die TFLL-Ausbreitung behindern und ein sekundäres funktionelles EDE entstehen lassen. Zusätzlich – und dies ist ein wichtiger Punkt – kann beobachtet werden, dass, wenn bei jeder beliebigen Form der KCS das Aufreißen des Tränenfilms innerhalb des Blinzelintervalls auftritt, dem trockenen Auge ungeachtet der auslösenden Ursache eine zusätzliche Verdunstungskomponente hinzugefügt wird. Eine Konsequenz

davon ist, dass ein trockenes Auge, das durch eine Tränendefizienz ausgelöst wird, im Lauf seiner Entwicklung zu einem ADDE + EDE wird. Daraus folgt, dass der OPI berücksichtigt werden sollte, wenn Vergleiche der Tränenverdunstungsrate zwischen Formen der KCS angestellt werden, die klassischerweise als ADDE und EDE definiert sind. Dies hat auch Implikationen für die Therapie und für die Subgruppenauswahl und -analyse in klinischen Studien. Dieser Unterausschuss empfiehlt, dass die Begriffe EDE und ADDE für die Beschreibung der *auslösenden* Basis eines trockenen Auges beibehalten werden, dass aber erkannt werden sollte, dass mit dem Fortschreiten jeder Form der KCS zusätzliche Verdunstungsmerkmale hinzugefügt werden können.

Es sollte nicht außer Acht gelassen werden, dass auf eine gewisse Weise alle Formen der KCS evaporativ sind, da ohne Verdunstung keine Tränenhyperosmolarität auftreten kann. Folglich sind Umwelt und persönliches Verhalten Faktoren, die zur Hyperosmolarität der Augenoberfläche beitragen. Dazu gehören externe Faktoren wie Umgebungsluftfeuchtigkeit, Temperatur und Windgeschwindigkeit sowie persönliche Faktoren wie Lidschlagfrequenz und Größe der Lidöffnung, Blickposition und der Einfluss systemischer Medikamente auf die Tränenabsonderung. Der Unterausschuss hat den Begriff „hyperevaporatives trockenes Auge“ als eine bessere Art diskutiert, die Rolle der gestiegenen Verdunstung bei der KCS anzuzeigen.

Ein wichtiger Beitrag zum TFOS DEWS Report [1] war der Vorschlag, dass jede Art des trockenen Auges, ungeachtet ihres Auslösers, in einen finalen gemeinsamen Signalweg eintritt, in dem die Tränenhyperosmolarität und eine Kette inflammatorischer Ereignisse einen Circulus vitiosus erzeugen, der den Zustand der KCS aufrechterhält [377]. Laut diesem Ansatz hat *jede Ätiologie der KCS einen oder mehrere Eintrittspunkte* in den Circulus vitiosus. Das Konzept des Circulus vitiosus wird in Abb. 5 illustriert und im folgenden Text eingehender besprochen.

### 5.2. Der Circulus vitiosus des trockenen Auges

Bei dem einfachsten KCS-Modell mit Tränenhyperosmolarität als Startpunkt wird der pathologische Prozess durch eine Reihe von Ereignissen propagiert, die zur Schädigung der Augenoberfläche führen (Abb. 5). Anfänglich führt dies zu Symptomen und kompensatorischen Reaktionen, aber es löst auch inflammatorische Reaktionen aus, die letztendlich zu chronischer Schädigung der Augenoberfläche und zu einer sich selbst erhaltenden Erkrankung führen [377].

Dies kann wie folgt zusammengefasst werden:

Wie zuvor erwähnt stimuliert die Tränenhyperosmolarität eine Kaskade von Ereignissen in den Epithelzellen der Augenoberfläche unter Beteiligung von MAP-Kinasen und NF $\kappa$ B-Signalwegen [311] und der Erzeugung inflammatorischer Zytokine (Interleukin-1 [IL-1 $\alpha$ ; IL-1 $\beta$ ], des Tumornekrosefaktors- $\alpha$  [TNF- $\alpha$ ]) und von Proteasen wie MMP9 [378]. Diese aktivieren und rekrutieren inflammatorische Zellen zur Augenoberfläche, die zu einer zusätzlichen Quelle für inflammatorische Mediatoren werden [379]. Solche Mediatoren, die mit der Tränenhyperosmolarität selbst agieren, führen zu einer reduzierten Expression von Glykokalymuzinen, zum apoptotischen Tod von Oberflächenepithelzellen [380] und zu einem Verlust von Becherzellen. Hyperosmolarität löst auch den Tod kornealer Epithelzellen durch nicht apoptotische Prozesse aus [62]. Der Becherzellenverlust ist ein Merkmal jeder Form der KCS [381,382],

was durch die reduzierten Tränenkonzentrationen von MUC5AC reflektiert wird [383,384]. Die geänderte Expression von Glykokalymuzinen ist eine wahrscheinliche Basis für die Färbung der Augenoberfläche bei der KCS und führt durch die Störung der Benetzung der Augenoberfläche zu einem frühzeitigen Aufreißen des Tränenfilms. Dies verstärkt oder induziert die Hyperosmolarität der Augenoberfläche, was den Circulus vitiosus vervollständigt und den Mechanismus etabliert, der die Krankheit fortbestehen lässt.

Von Baudouin et al. wurde betont, dass der Circulus vitiosus *Eintrittspunkte* für jede Ursache der KCS bietet [385]; die Tränenhyperosmolarität muss nicht unbedingt der Startpunkt sein. Daher kann die Ereigniskette, die zu der Tränenfilminstabilität führt, durch mehrere verschiedene Störungen ausgelöst werden, wie zum Beispiel durch eine Entzündung der Augenoberfläche aufgrund einer allergischen Augenerkrankung, Toxizität eines topischen Konservierungsmittels und Verlust von Becherzellen der Konjunktiva oder veränderte Muzinexpression aufgrund von Xerophthalmie.

### 5.3. Kompensatorische Ereignisse beim trockenen Auge

Nach unserem aktuellen Verständnis der KCS ruft eine Exposition der Augenoberfläche gegenüber Austrocknungsstress eine kompensatorische, sekretorische Tränenreaktion über die lakrimale Funktionseinheit hervor, die dazu tendiert, einen Anstieg der Tränenosmolarität auszugleichen und die Krankheitsprogression zu verlangsamen. Wie im Bericht des Unterausschusses für Schmerzen und Empfindung zusammengefasst, können sowohl die Tränenhyperosmolarität als auch die Oberflächenkühlung dies in Gang setzen. Die kälteempfindlichen Nervenfasern der Kornea werden durch Hyperosmolarität stimuliert und können die Sekretion der Tränenrüse verstärken und zu einer erhöhten Blinzelfrequenz führen. Die Verdunstungskühlung bei EDE oder in Verbindung mit einem vorzeitigen Aufreißen des Tränenfilms [279,386] könnte zu diesem sensorischen Reiz beitragen. Der Befund einer niedrigeren sensorischen Reizschwelle bei einigen KCS-Patienten [387] könnte diese Reaktionen verstärken. Andere Autoren haben von einer verminderten kornealen Empfindlichkeit bei der KCS berichtet [388,389], was bedeuten könnte, dass die korneale Empfindlichkeit bei steigendem Schweregrad der KCS gestört wird. In Übereinstimmung damit wurde in einer Reihe von Studien von einer Reduzierung der Dichte des subepithelialen Nervenbündels bei KCS berichtet [390]. Eine solche Sequenz könnte sich ungünstig auf kompensatorische Reaktionen auswirken und zu Diskrepanzen zwischen der Symptomintensität und objektiven Anzeichen der KCS beitragen. Allerdings wurde diese Möglichkeit, die für unser Verständnis der KCS-Progression wichtig wäre, nicht in Langzeitstudien behandelt.

### 5.4. Symptome

Alle symptomatischen Erkrankungen durchlaufen eine subklinische Phase, in der die Krankheitsmerkmale nicht offensichtlich sind und der Patient keine Symptome aufweist. Die KCS bildet da keine Ausnahme. (Siehe den Bericht des Unterausschusses für diagnostische Methodologie.) Aber die Last der KCS für den Patienten bezieht sich auf Symptome, und ihre Ursachen werden jetzt besser verstanden. KCS betrifft sowohl den

Visus als auch das Wohlbefinden des Auges. Potentielle Ursachen für Symptome bei der KCS sind in [Tabelle 6](#) aufgeführt.

Es gibt Evidenz, die eine direkte Rolle der Hyperosmolarität als eine Basis für Augenbeschwerden bei der KCS unterstützt. Wie bereits angemerkt, verursacht die Instillation hyperosmolarer Tropfen Schmerzen von einer Intensität, die mit dem Grad der Hyperosmolarität verbunden ist, jedoch in Konzentrationen, die weit über die in Tränenmeniskusproben von KCS-Patienten erkannte Hyperosmolarität hinausgehen [\[276\]](#). Erwägungen für eine Modellierung deuten darauf hin, dass die Stärke der an der Stelle des Tränenfilmaufreißens erzeugten Hyperosmolarität weit über der im Tränenmeniskus liegt [\[279\]](#). Es gibt auch Evidenz dafür, dass die Tränenhyperosmolarität bei Verdünnung des Tränenfilms ausgelöst und zum Zeitpunkt des Tränenfilmaufreißens verstärkt wird [\[391\]](#). Zudem ist bekannt, dass mehrere dieser Entzündungsmediatoren, die bei der KCS in den Tränen und auf der Augenoberfläche nachgewiesen wurden, schmerzinduzierende Verbindungen sind, einschließlich verschiedener Prostanoiden, Zytokine und Neurokine. (Weitere Einzelheiten sind im Bericht des Unterausschusses für Schmerzen und Empfindung zu finden). Als eine Ursache für reibungsbezogene Symptome bei KCS wurde der Verlust der Schmierung zwischen dem Augapfel und den Lidern zur Diskussion gestellt, einschließlich einer Reduzierung des Tränenvolumens bei ADDE, des Verlusts von Becherzellen-Gelmuzin [\[218\]](#) und des Verlusts des Grenzflächenschmiermittels Lubrizin [\[82\]](#). Die filamentöse Keratitis ist eine spezielle Schmerzquelle, die darauf zurückgeführt wird, dass Fasern während des Blinzeln an den Nozizeptorenden an der Basis der Fasern schleifen. Ein ähnlicher Prozess kann für die Symptome der Beschwerden verantwortlich sein, die mit LIPCOF assoziiert werden [\[343\]](#). Es wird davon ausgegangen, dass die Überempfindlichkeit des betroffenen Bereichs des Lid Wipers und des Bereichs der Keratopathie die Basis für die mit der Lid Wiper-Epitheliopathie assoziierten Schmerzen darstellt. Beim gesunden Auge hat dieser Bereich der Lidkante eine ähnliche mechanische Empfindlichkeit wie die zentrale Kornea [\[250\]](#).

Also ist die Tränenhyperosmolarität nur eine der potentiellen Ursachen für Beschwerden bei der KCS, was ein weiterer Grund dafür ist, dass die bei KCS-Patienten mit chronischen Schmerzen gemessene Stärke der Tränenosmolarität sich möglicherweise nicht immer signifikant von der Osmolarität asymptomatischer Patienten unterscheidet [\[392\]](#). Die Überempfindlichkeit (d. h. die gesenkte Reizschwelle) der kornealen Nerven bei KCS-Patienten kann auch das Auftreten von Beschwerden der Augen bei niedrigeren Stufen der Tränenosmolarität aufgrund der Exposition kornealer Nervenenden bei Verlust der Epithelbarriere erklären [\[267,387,393\]](#). In einem Rattenmodell wurde nachgewiesen, dass die Instillation hyperosmolarer Tropfen innerhalb der Bereiche der bei KCS-Patienten gefundenen Osmolarität die Empfindlichkeit der kälteempfindlichen nozizeptiven Neuronen verstärkt und Anzeichen von KCS auslöst. In diesem Rattenmodell wurden diese Nozizeptoren, die normalerweise erst bei einer Kühlung von mehr als 2 °C reagieren, bereits bei einer Kühlung der kornealen Oberfläche mit hyperosmolaren Flüssigkeiten von weniger als 1 °C aktiviert [\[394\]](#). Dieses Phänomen kann die von KCS-Patienten berichteten, durch Kühlung ausgelösten Beschwerden und Schmerzen erklären. Die Hochregulierung von TRPM8-Kanälen

oder die Kontrolle der spannungsgesteuerten Kaliumkanäle (Kv1.1) können an diesem Prozess beteiligt sein [\[395\]](#). Beide Kanäle sind gut etablierte Kühlungssensoren, die durch einen hyperosmolaren Stimulus reguliert werden können [\[396\]](#).

Tabelle 5

Ursachen der Keratokonjunktivitis sicca.

**HYPOVOLÄMES TROCKENES AUGE (ADDE)**

trockenes Auge aufgrund von Sjögren-Syndrom (SSDE)

- Assoziierte systemische Erkrankungen
  - Rheumatoide Arthritis
  - Polyarteritis nodosa
  - Systemischer Lupus erythematodes
  - Wegener-Granulomatose
  - Systemische Sklerose
  - Primär biliäre Zirrhose
  - Gemischte Bindegewebserkrankung

Trockenes Auge ohne Vorliegen eines Sjögren-Syndroms (NSDE)

Intrinsische Tränenrüsenedefizienz

- Tränenrüsenaublation
- Angeborener Tränenmangel
- Triple-A-Syndrom

Altersbedingtes ADDE

Inflammatorische und sonstige Tränenrüseneinfiltration

- Sarkoidose
- Lymphom
- Virusinfektion
- Strahlenschaden

Tränenrüseneinfiltration

- Narbenkonjunktivitis
  - GVHD
  - Stevens-Johnson-Syndrom/TEN
  - Schleimhaut-Pemphigoid
  - Narben-Pemphigoid
  - Pemphigus
  - Trachom
  - Chemikalienverletzung

Hyposekretorische Zustände – Ausfall der lakrimalen Funktionseinheit

Reflexafferenter Block

- Topische Anästhesie
- Schädigung des Trigemini-nervs
- Refraktive Chirurgie
- Neurotrophe Keratitis

Sekretomotorischer Block

- Schädigung des Parasympathikus
- Pharmakologische Hemmung

Kombinierter afferenter und efferenter Block

Familiäre Dysautonomie

Sonstige Erkrankungen

- Meige-Syndrom
- Diabetes mellitus
- Pseudoexfoliation

**EVAPORATIVES TROCKENES AUGE**

Erkrankungen der Meibom-Drüsen

Lidbezogen

Meibom-Drüsen-Dysfunktion (MGD)

- Primär
- Meibom-Seborrhö
- Obstruktive MGD
  - Narbig/nicht narbig
  - Sekundär zu lokaler Erkrankung

- Blepharitis anterior
- Entzündung der Augenoberfläche
- Tragen von Kontaktlinsen

Sekundär zu systemischen Dermatosen

- Rosacea
- Seborrhoische Dermatitis
- Atopische Dermatitis
- Ichthyose
- Psoriasis

Sekundär zu Exposition gegenüber Chemikalien

- 13-cis-Retinsäure
- Polychlorierte Biphenole
- Antiandrogene

Genetisch bedingte Erkrankungen der Meibom-Drüsen

- Meibom-Drüsen-Agenesie und Distichiasis
- Anhydrotische ektodermale Dysplasie
- Ektrodaktylie-Syndrom
- Epidermolysis bullosa
- Ichthyosis follicularis
- Turner-Syndrom

Tabelle 5 (Fortsetzung)

Morbus Parkinson
Augenoberflächenbezogenes evaporatives trockenes Auge
Allergische Augenerkrankung
Vitamin-A-Mangel
Trockenes Auge aufgrund kurzer Tränenfilmaufrisszeit
Iatrogene Erkrankung

### 5.5. Die okulären Konsequenzen der Keratokonjunktivitis sicca

Ungeachtet der Art, wie die KCS ausgelöst wird, sind ihre klinischen Konsequenzen an der Augenoberfläche von der Ätiologie unabhängig. Dazu können punktförmige Epitheliopathie, filamentöse Keratitis, Keratokonjunktivitis des superioren Limbus, Becherzellenverlust, Modifikation der epithelialen Glykokalyx, LIPCOF, Änderungen an der Marx'schen Linie und MGD selbst gehören (Tabelle 7). Diese werden nachfolgend besprochen:

#### 5.5.1. Die Kornea

**5.5.1.1. Punktförmige Epitheliopathie und Färbung bei Keratokonjunktivitis sicca.** Evidenz deutet darauf hin, dass bei der KCS schädliche Einflüsse auf die Augenoberfläche zu vermehrtem Epithelzelltod (z. B. Apoptose), verstärkter Epithelzellenabstoßung und erhöhtem Epithelzellen-Turnover führen. Es ist wahrscheinlich, dass eine verstärkte Reibung zu der vermehrten Abstoßung beiträgt. Es wurden keine formellen Messungen verstärkter Abstoßung oder stärkeren Turnovers bei der KCS durchgeführt, und dies wäre wertvoll.

Tabery hat gezeigt, dass die punktförmige korneale Epithelfärbung bei der KCS durch die Aufnahme von Farbstoff direkt in die einzelnen Epithelzellen erklärt werden kann und dass Fluoreszein in dieselben Zellen aufgenommen wird, die auch Bengalrosa aufnehmen [397,398]. Mehrere Studien deuten darauf hin, dass anfärbbare Zellen auf der Kornea und Konjunktiva eine defekte Glykokalyx haben, einschließlich eines Mangels an MUC 16 [399–401], und dass bei der bullösen Keratopathie die oberflächliche Exfoliation und Färbung ebenfalls mit MUC16-Unregelmäßigkeiten assoziiert ist [402]. Komuro et al. haben bei Patienten mit Keratokonjunktivitis des superioren Limbus festgestellt, dass Bereiche der Konjunktiva, die eine positive Färbung mit Bengalrosa zeigen, keine Galectin-3-Expression aufweisen, während in den gesunden Bereichen, die eine Bengalrosa-Exklusion zeigten, Galectin-3 normal exprimiert wurde [403].

Die Färbung individueller, kornealer Epithelzellen der Schicht 1 bei KCS-Erkrankungen wird daher der Ausbreitung von Farbstoff über die defekte Glykokalyx von apoptotischen Zellen vor der Abstoßung zugeschrieben. Die Färbung kleiner Cluster von Oberflächenzellen könnte ähnlich erklärt werden, aber eine weitere Möglichkeit ist, dass der Farbstoff über eine defekte Tight junction in den parazellulären Raum um eine Zelle kurz vor der Abstoßung eintritt und sich in benachbarte Zellen über deren Plasmamembranen ausbreitet, also durch transmembranäre Ausbreitung [79]. Die interzelluläre Ausbreitung von Farbstoff zwischen benachbarten Zellen über Gap junctions ist im Oberflächenepithel weniger wahrscheinlich, da diese in der Schicht 1 der menschlichen Kornea nicht vorhanden sind und die Konnektivität auf die zweite Schicht begrenzt ist [404]. Es wurde eine alternative Ansicht dargestellt [363].

#### 5.5.1.2. Das Muster der Färbung beim trockenen Auge. Die

Translated into German by Allergan

Epithelfärbung der exponierten Kornea und Konjunktiva bei KCS hat eine charakteristische horizontale Verteilung zwischen den Lidern, die von diagnostischem Wert ist (Abb. 6). Es besteht bereits seit langem Interesse an ihrer Grundlage, besonders in Bezug auf hyperosmolare Hot-Spots, die im Blinzelintervall erzeugt werden. Connies [405] et al. [406] haben die Rolle des unvollständigen Lidschlags bei der Verlängerung des Zeitraums der Exposition des unteren Augapfels gegenüber Austrocknungsstress betont und dabei herausgestellt, dass der Expositionszeitraum ein Mehrfaches der Anzahl von unvollständigen Lidschlägen beträgt, die nacheinander auftreten. Unvollständige Lidschläge treten sowohl bei Personen mit gesunden Augen als auch bei trockenen Augen häufig auf. In einer Studie mit gesunden Augen wurde eine Zahl von 22 % berichtet [407], und unvollständige Lidschläge können 20 % bis über 50 % aller Lidschläge ausmachen [408–410]. Jansen et al. haben angemerkt, dass bei Studienteilnehmern, die Aufgaben durchführten, die einen hohen Grad visueller Konzentration erforderten, sowohl die Zahl unvollständiger Lidschläge erhöht als auch die Intervalle zwischen den Lidschlägen verlängert wurden [290].

Es wird außerdem vorhergesagt, dass der Bereich der tränenmeniskusinduzierten Verdünnung (meniscus induced thinning, MIT), der der Position der „schwarzen Linie“ des fluoreszeingefärbten Tränenfilms entspricht, ein Ort der Tränenhyperosmolarität im Blinzelintervall sein wird [163,411]. Allerdings wird das Risiko für hyperosmolare Schädigung des zugrundeliegenden kornealen und konjunktivalen Epithels aufgrund von MIT durch Augenbewegungen minimiert, besonders auf der vertikalen Ebene, was den Effekt über einen größeren Bereich verteilen und sein schädigendes Potenzial reduzieren kann. Wie McMonnies beobachtete, ist dies allerdings „beim Lesen, Fernsehen oder bei ähnlicher Aktivität möglicherweise nicht der Fall, wenn Augenbewegungen nach oben und unten begrenzt sind und der MIT-Bereich eine stabilere Position an der Augenoberfläche beibehält. Die Stabilität der Position muss wahrscheinlich mit einem erhöhten Risiko für Hyperosmolaritäts-bezogene Epitheliopathie assoziiert werden“ [405]. Dieser Effekt wird unter Bedingungen mit starker Einschränkung der Augenbewegungen verstärkt, wie zum Beispiel bei progressiver supranukleärer Blickparese [412], progressiver externer Ophthalmoplegie [413] und endokrinem Exophthalmus [414].

Zudem wurde berichtet, dass bei gesunden Probanden nach kurzen Zeiträumen des Aufblicks oder Abblicks MIT-Bänder auf die Kornea gedrückt werden, die auch während des Blinzelintervalls bestehen bleiben. Diese können von einer sekundären Störung des darunterliegenden Tränenfilms begleitet werden [197]. Diese Verdünnungszonen stellen Bereiche potentieller hyperosmolarer Schädigung und somit eine Ursache für verstärkte Färbung dar.

Die oben genannten Überlegungen fassen Faktoren zusammen, die Austrocknungsstress in jeglichem Auge auf den unteren Teil des exponierten Augapfels richten können. Diese Einflüsse werden unter Umweltbedingungen verstärkt, die den Austrocknungsstress erhöhen, und dies ist bei KCS-Erkrankungen noch stärker ausgebildet, bei denen ein vorzeitiges Aufreißen des Tränenfilms die Stelle der regionalen Hot-Spots von Hyperosmolarität bestimmt. Sie scheinen eine angemessene Erklärung für das Verteilungsmuster einer punktförmigen Epitheliopathie bei der KCS zu liefern.



**5.5.1.3. Filamentöse Keratitis.** Filamentöse Keratitis beschreibt einen Zustand mit einzelnen oder gruppierten Filamenten, die in der Regel nicht länger als 2 mm sind und vom Korneaepithel in den Tränenfilm ragen. Sie treten nur selten auf der Konjunktiva auf. Sie werden mit Störungen der Augenoberfläche wie KCS, SLK, viraler Konjunktivitis, rezidivierender Korneaerosion, neuroparalytischer Keratitis, nach Korneatransplantation, Kataraktoperation, Augentrauma und Ptosis assoziiert. Bei Ptosis und SLK befinden sich die Filamente häufig unter dem Oberlid; anderenfalls, zum Beispiel bei schwerem Mangel an wässriger Tränenflüssigkeit, befinden sie sich zwischen den Lidern.

Korneafilamente lassen sich besonders gut mit Bengalrosa und Lissamingrün färben. Tanioka et al. zeigten mithilfe von Immunhistochemie, dass sie einen verdrehten Epithelkern haben, der von sekretorischen (MUC5AC) und Membran-assoziierten (MUC16) Muzinen, inflammatorischen Zellen und konjunktivalen Epithelzellen umgeben ist, und schlossen daraus, dass die Filamente durch verstärkte Reibungsaktion während des Blinzeln gedreht werden [415]. Reibungswiderstand, der während des Lidschlags auf die Filamente wirkt, führt zu schweren therapieresistenten Augenschmerzen und dem Gefühl eines Fremdkörpers im Auge [416]. Obwohl die Filamente nach der Instillation eines topischen Anästhetikums manuell entfernt werden können, ist ein wiederholtes Auftreten nicht selten.

**5.5.1.4. Keratokonjunktivitis des superioren Limbus.** Die Keratokonjunktivitis des superioren Limbus (superior limbic Keratoconjunctivitis, SLK) [417] ist eine bilaterale, chronische Entzündungserkrankung, die die obere bulbäre Konjunktiva, den superioren Limbus und die benachbarte Kornea betrifft. Sie kann eine Ursache für behindernde Beschwerden sein. Typischerweise wird eine Stelle schwerer, perilibärer konjunktivaler Hyperämie oder Entzündung von einer Verdickung des Limbus, Keratopathia superficialis punctata, filamentöser Keratitis und einer papillären Reaktion in der darüberliegenden superioren Tarsalkonjunktiva begleitet. Es kann eine Diskrepanz zwischen dem Ausmaß der Schmerzen und der Schwere der klinischen Anzeichen bestehen, und möglicherweise kann keine Diagnose gestellt werden, wenn die Lissamingrünfärbung bei der klinischen Aufarbeitung ungeklärter Augenbeschwerden nicht durchgeführt wird. Eine Färbung mit Fluoreszein ist weniger apparent, es sei denn, sie wird mit einer geeigneten Filterkombination angewendet [74].

Histologisch wird bei der SLK eine Plattenepithelmetaplasie, Epithelverdickung mit einer Senkung des nukleär-zytoplasmischen Verhältnisses und ein Verschwinden von Becherzellen berichtet [417]. Fünfundzwanzig Prozent der Fälle von SLK sind mit KCS [418] und etwa 30 % mit einer Schilddrüsenerkrankung assoziiert [419], daher ist es wichtig, den Hormon- und Autoantikörperstatus zu untersuchen. Es gibt auch eine Verbindung mit Konjunktivochalasis, die die obere bulbäre Konjunktiva befällt [420,421].

Bei der SLK wird berichtet, dass die chronische Entzündung möglicherweise mit dem Lidschlag und mit der Augenbewegung in Verbindung steht [418], und die Assoziation von SLK mit oberer bulbärer Konjunktivochalasis unterstützt stark die These eines wiederholten Reibungstraumas als Auslöser, besonders da eine Operation, die auf die Straffung der Konjunktiva an dieser Stelle ausgerichtet ist, äußerst erfolgreich ist [421,422]. Ähnlich kann bei endokrinem Exophthalmus eine Verstärkung des Drucks, den das

Oberlid auf den Augapfel ausübt, als Mechanismus ins Feld geführt werden, der bei Schilddrüsenerkrankung mit Exophthalmus eine SLK herbeiführt.

### 5.5.2. Konjunktiva

Obwohl der Verlust konjunktivaler Becherzellen und eine Verringerung der MUC5AC-Konzentration in der Tränenflüssigkeit allgemein als Merkmale aller Formen der KCS angenommen werden, sind Berichte über Veränderungen bei den Transmembranmuzinen weniger konsistent [423]. Dies liegt teilweise an den Differenzen bei der Methodologie, zum Beispiel bei der Anwendung von Immunhistochemie zur Erkennung von Kernmucinproteinen einerseits und dem Muster der Muzinglykosylierung andererseits. Es ist schwierig zu bestimmen, welche Stufe der Glykanalteration für die Disruption der durchlässigen Glykokalyxbarriere ausreicht [154]. Bei der SLK wurde ein Verlust eines muzinartigen Glykoproteins (wahrscheinlich MUC16) aus keratinisierten konjunktivalen Oberflächenepithelzellen berichtet [424].

**5.5.2.1. Modifikation der epithelialen Glykokalyxmuzine.** Es gibt Evidenz für eine veränderte Expression oder Glykosylierung von Transmembranmuzinen bei der KCS. In einer immunhistochemischen Studie war die konjunktivale mukosale Muzinexpression der Epithelmembran bei Patienten mit Sjögren-Syndrom verringert [401]. In einem jüngeren Bericht beschrieben Shimazaki-De et al. eine reduzierte MUC16-mRNA-Expression in der Konjunktiva von KCS-Patienten [425]. Ähnlich scheint auch eine Oberflächenimmunreaktivität gegenüber MUC-1 des Epithels bei Sjögren-Syndrom reduziert zu sein, was auf eine Disruption der normalen Epitheldifferenzierung hinweist [426], und Corrales et al. haben eine signifikant reduzierte mRNA-Expression von MUC1, MUC2, MUC4 und MUC5AC bei ADDE-Patienten festgestellt [427].

Im Kontrast dazu wurde aufgezeigt, dass die Dichte der KL6-positiven Zellen bei KCS-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden signifikant erhöht war [428]. KL6 ist ein monoklonaler Antikörper gegen ein sialyliertes Epitop von MUC1. Zudem waren bei der KCS bei Sjögren-Syndrom mRNA und Proteine von sowohl MUC16 als auch MUC1 im Vergleich zu gesunden Probanden erhöht [429]. Die Grundlage für diese widersprüchlichen Erkenntnisse muss geklärt werden.

Gipson et al. [430] haben einen Anstieg der MUC1- und MUC16-mRNA und der Zellproteinexpression in Impressionszytologieproben von postklimakterischen Frauen im Vergleich zu gesunden Probanden nachgewiesen. In Kontrast dazu stellten Srinivasan et al. [431] fest, dass die MUC16-mRNA-Expression bei postklimakterischen Frauen mit mäßigen bis schweren OSDI-Symptomen signifikant reduziert war; die MUC1-mRNA-Expression blieb im Vergleich zu nicht symptomatischen Studienteilnehmern unverändert.

Bei der KCS wurden einige Veränderungen der Muzinglykosylierung untersucht. Garcher et al. zeigten eine Verminderung sialylierter Muzinketten, die in Impressionszytologieproben von KCS-Patienten und Kontaktlinsenträgern und bei Glaukompatienten, die mit  $\beta$ -Blockern behandelt wurden, exprimiert wurden [432]. Im Allgemeinen sind Glykosyltransferasen die Enzyme, die für die Bildung und Verlängerung von Glykanketten verantwortlich sind, die am Proteinrückgrat angeheftet sind. Bei Muzinen ist das enzymatische Hinzufügen von *N*-Acetyl-Galaktosamin (GalNAc) zu Serin- und

Threoninrückständen durch GalNAc-Transferasen (GalNAc-T) der erste Schritt in der O-Glykosylierung. Beim okulären Narben-Pemphigoid (ocular cicatricial pemphigoid, OCP) war die konjunktivale Expression von GalNAc-Transferasen bei Patienten im Frühstadium der Erkrankung erhöht, was eine Rolle bei der Aufrechterhaltung der Epithelbenetzbarkeit spielen könnte. Entsprechend und wie vorhergesagt werden könnte, war die Expression im Stadium der konjunktivalen Keratinisierung deutlich reduziert [433].

**5.5.2.2. Becherzellenverlust.** Ralph [434] betonte, dass der konjunktivale Becherzellenverlust ein Merkmal aller Formen der KCS und – nach Bestätigung in späteren Berichten – von Sjögren-Syndrom (SS), OCP, Alkaliverätzung, Strahlungskeratitis, SLK, Trachom und nach einer LASIK-Behandlung ist [401,428,435–439]. In Übereinstimmung damit wurde eine Reduzierung der MUC5AC-Färbung durch Immunfluoreszenz in konjunktivalen Impressionsproben von KCS-Patienten nachgewiesen [440], und die Expression konjunktivaler MUC5AC-mRNA war bei SSDE [383,441], NSDE [427] und bei Patienten mit Tränenfilminstabilität ebenfalls signifikant verringert [425]. Es wurde ebenfalls berichtet, dass MUC5AC-Muzinproteinkonzentrationen in menschlichen Tränenproben von Patienten mit unspezifischer KCS [384] und bei Patienten mit schwerer SSDE [383] sowie bei der leichten KCS bei Benutzern von Datensichtgeräten reduziert waren [442]. Versura et al. wiesen unter Verwendung einer Immunogold-Technik eine reduzierte Expression von Sialinsäure, N-Acetyl-Glukosamin und N-Acetyl-Galaktosamin in den Becherzellen von KCS-Patienten nach [443].

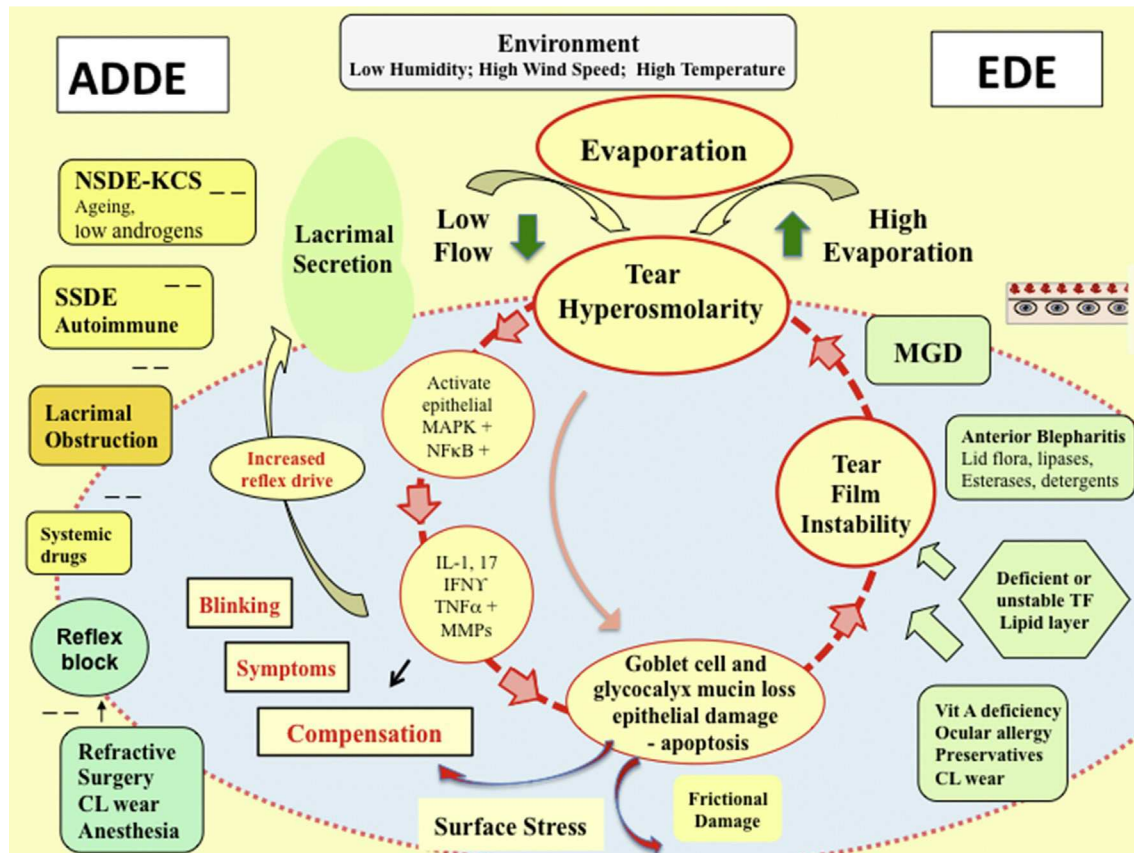
**5.5.2.3. Lidkantenparallele konjunktivale Falten (LIPCOF).** Lidkantenparallele konjunktivale Falten (Lid Parallel Conjunctival Folds, LIPCOF) sind einer Redundanz der bulbären Konjunktiva und dem Verlust der Anhaftung an die Episklera geschuldet, die die Konjunktiva in eine Reihe von Falten über dem unteren Lidrand zieht. Es ist wahrscheinlich, dass sie aus demselben allgemeinen Mechanismus resultieren, der zu den altersbedingten konjunktivalen Falten an anderen Stellen der Augenoberfläche (Konjunktivochalasis) führt, die in Reibungsbeziehung mit dem Lidschlag stehen [343]. LIPCOF können anhand von Spaltlampenbiomikroskopie und weißem Licht identifiziert werden, wobei der Patient in die primäre Blickrichtung schaut und die Messungen am unteren Lidrand an Punkten durchgeführt werden, die jeweils direkt unterhalb von nasalem und temporalem Limbus liegen [343]. Zuletzt wurde auch optische Kohärenztomografie zur Quantifizierung des LIPCOF-Grades eingesetzt [444]. Mithilfe der routinemäßigen Spaltlampenbiomikroskopie wird die Anzahl der konjunktivalen Falten über dem Unterlid in Relation zur Höhe des Tränenmeniskus untersucht [445]. Beachtenswert ist, dass LIPCOF verschwinden, wenn das untere Augenlid zurückgezogen wird, und dann nach einigen Lidschlägen wiedererscheinen, wenn die Lidposition wiederhergestellt wird. Es wird angenommen, dass LIPCOF das Ergebnis inflammatorischer Degradierung elastischer Fasern sind und möglicherweise MMPs [446] involvieren, oder dass sie durch mechanische Reibung verursacht werden, die den lymphatischen Fluss beeinflusst [447]. Ihre Präsenz hat einen guten, positiven Vorhersagewert für die KCS [446,448,449].

### 5.5.3. Die Lider

**5.5.3.1. Die Marx'sche Linie und die mukokutane Verbindung.** Die Marx'sche Linie ist ein Vitalfärbungsmuster des Epithels und befindet sich direkt hinter der mukokutanen Verbindung (mucocutaneous junction, MCJ) des Lidrands [36,76,104,341,450]. (Abb. 7 und 8) Sie kann während des gesamten Lebens an den oberen und unteren Lidrändern nachgewiesen werden und reicht von den äußeren Augenwinkeln bis zu den Bereichen der Tränenpünktchen. In der Jugend ist sie nur einige Zellen breit, verbreitert sich aber mit dem Alter [341] und nimmt zusammen mit der MCJ einen immer unregelmäßiger werdenden Kurs.

Am der mukokutanen Verbindung verändert sich das Epithel und wird von einem *hydrophilen*, wasserbenetzbaren, *parakeratinisierten* Konjunktivaepithel [40] zu dem *keratinisierten*, *hydrophoben* Epithel der Haut der Lidkante. Der Tränenmeniskus überlagert dieses hydrophile Epithel und ist an diesem Apex an der MCJ angeheftet und markiert so seine Position. Knop zieht vor, den gesamten parakeratinisierten Bereich als die MCJ anzusehen, die von dem Punkt, an dem die Hautkeratinisierung endet, bis zur hinteren Grenze der Lidkante oder dem „Scheitelpunkt“ reicht

Es wurde angenommen, dass unterschiedliche Effekte der Verdunstung während des Blinzelintervalls zu einem Anstieg der Tränenmolarität mit einer hyperosmolaren Spitze am Höhepunkt des Apex führen. Es wurde nahegelegt, dass dies einen verstärkten Turnover von Epithelzellen unmittelbar hinter der MCJ, eine unvollständige Differenzierung der Oberflächenepithelzellen und eine unreife Glykokalyx verursacht, was der Grund für die Aufnahme von Farbstoff ist, die als Marx'sche Linie bezeichnet wird [163,451]. Ein Argument gegen diese *Hypothese des Anstiegs*



**Abb. 5.** Der Circulus vitiosus der Keratokonjunktivitis sicca. Der Kernmechanismus der KCS ist die Tränenhyperosmolarität, die das Erkennungszeichen der Erkrankung ist. Sie schädigt die Augenoberfläche sowohl direkt als auch durch die Initiierung einer Entzündung. Der Zyklus der Ereignisse ist in der Mitte der **Abbildung** dargestellt. Es werden zwei Formen der KCS anerkannt, das ADDE und die EDE. Bei dem ADDE ergibt sich die Tränenhyperosmolarität aus einer Reduzierung der Tränensekretion unter normalen Verdunstungsbedingungen aus dem Auge. Bei EDE wird die Tränenhyperosmolarität durch eine übermäßige Verdunstung aus dem exponierten Tränenfilm bei normal funktionierender Tränenrinne verursacht. Da die Tränenosmolarität sowohl bei ADDE als auch bei EDE nur als Ergebnis einer Tränenverdunstung entstehen kann, ist die Tränenhyperosmolarität der Verdunstung von der Augenoberfläche geschuldet, und in diesem Sinn sind alle Formen der KCS verdunstungsbedingt, also evaporativ. EDE ist ein hyperevaporativer Zustand. Bei der KCS wird davon ausgegangen, dass die Tränenhyperosmolarität eine Kaskade von Signalereignissen innerhalb der Oberflächenepithelzellen in Gang setzt, die zur Freisetzung von inflammatorischen Mediatoren und Proteasen führen. Das Verständnis ist, dass solche Mediatoren zusammen mit der Tränenhyperosmolarität selbst den Verlust von Becherzellen und Epithelzellen sowie eine Schädigung der epithelialen Glykokalyx verursachen. Die Schädigung wird durch inflammatorische Mediatoren aus aktivierten T-Zellen verstärkt, die an die Augenoberfläche rekrutiert werden. Das Nettoergebnis ist die charakteristische punktförmige Epitheliopathie bei KCS und eine Tränenfilminstabilität, die an einem bestimmten Punkt zu einem vorzeitigen Aufreißen des Tränenfilms führt. Dieses Aufreißen verschlimmert und amplifiziert die Tränenhyperosmolarität und vervollständigt die Ereignisse des Circulus vitiosus, die zur Schädigung der Augenoberfläche führen. Letztendlich wird angenommen, dass dies zur Selbsterhaltung der Erkrankung führt. Tränenfilminstabilität kann ohne das vorherige Auftreten von Tränenhyperosmolarität durch Umstände ausgelöst werden, die sich auf die Augenoberfläche auswirken, einschließlich Xerophthalmie, Augenallergie, der Anwendung von topischen Konservierungsmitteln und dem Tragen von Kontaktlinsen. In diesem Fall ist das vorzeitige Aufreißen des Tränenfilms (ein OPI von <1) die primäre Basis für die Tränenfilm-Hyperosmolarität, die zuerst lokal an der Stelle des Aufreißens beginnt und dann zunimmt, bis sie zu einem bestimmten Zeitpunkt in Tränenmeniskuspunkten nachweisbar ist. Dies stellt eine Augenoberflächen-bezogene Form des EDE dar. Bei dem MGD-bezogenen EDE resultiert die Tränenhyperosmolarität aus einer Defizienz der Lipidschicht des Tränenfilms. Bei ADDE kann das Einsetzen eines vorzeitigen Aufreißen des Tränenfilms während der Entwicklung der Erkrankung wie Trachom, Kokkadenerythem, Graft-versus-Host-Reaktion und chemischen Verbrennungen auftreten. Eine Reihe von systemisch eingesetzten Medikamenten, wie Antihistaminika, Beta-Blocker, Antispasmodika, Diuretika und einige psychotrope Medikamente, verursachen eine Reduzierung der Tränensekretion und stellen Risikofaktoren für die KCS dar. Die Tränensekretion nimmt im höheren Alter ab. Die Antiglaukom-Medikamente Pilocarpin und Timolol haben ebenfalls direkte Wirkungen auf die Epithelzellen der Meibom-Drüse beim Menschen, die deren Morphologie, das Überleben und/oder die proliferative Kapazität beeinflussen und möglicherweise die MGD fördern können [61,1103]. In der westlichen Welt ist die häufigste Ursache für ADDE eine inflammatorische Infiltration der Tränenrinne, wobei eine besonders schwere Form bei Autoimmunstörungen wie SSDE und eine weniger schwere Form bei NSDE angetroffen wird. Die Entzündung verursacht eine Fehlfunktion und/oder Zerstörung sowohl der azinären als auch duktaalen Epithelzellen und einen potentiell reversiblen neurosekretorischen Block. Ein Rezeptorblock kann auch durch Zirkulation von Antikörpern am Muskarin-M3-Rezeptor verursacht werden. Die Entzündung wird durch niedrige Androgenkonzentrationen im Gewebe begünstigt. Eine Epithelschädigung und eine defekte Glykokalyx sowie ein Mangel an Tränenfilmvolumen und Becherzellenmucin führen zu verstärkter Schädigung durch Reibung und reibungsbezogenen Symptomen. Die Tränenhyperosmolarität und die durch die KCS verursachte Epithelschädigung reizt die kornealen Nervenenden, was zu Beschwerdesymptomen, erhöhter Blinzelhäufigkeit und potentiell zu einer kompensatorischen Reflexverstärkung der Tränensekretion führt. Diese kompensatorische Sekretion ist beim EDE wahrscheinlicher, da die Tränenrinnefunktion potentiell normal ist. Nach Bron, „Definition of dry eye disease“ in Chan 2015 – Springer [79].

(Abb. 9) [40].

gelöster Stoffe ist, dass die Hyperosmolarität behoben werden sollte,

wenn die Tränen bei jedem Lidschlag aufgefrischt werden. Allerdings deutet eine Reihe jüngerer Berichte darauf hin, dass nicht bei jedem Lidschlag eine vollständige Apposition der Lidkanten erfolgt [322,343,452], und die Anwendung von Gleichungen nach Navier-Stokes auf die Trändynamik am Tränenmeniskus anstelle der Lubrikationstheorie sagt eine deutliche Abwesenheit von Flüssigkeitsströmung und somit einer konvektivem Vermischung am Tränenmeniskusapex neben der Kontaktlinie voraus [411]. Dies würde eher für die Aufrechterhaltung einer verdunstungsabhängigen Hyperosmolarität an dieser Stelle sprechen. Eine verstärkte Durchlässigkeit an der Stelle der Marx'schen Linie könnte die Ausbreitung von Proteinen von mindestens 20 Kd zu lassen entzündungsfördernden Zytokinen wie IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und MMPs die Möglichkeit eröffnen, die Ausgänge der Meibom-Drüsen zu erreichen.

Da IL-1 $\beta$  und IFN $\gamma$  die Expression verhornter Envelope-Precursor-Proteine in Epithelzellen auslösen kann [453], könnte ihre Bereitstellung über viele Jahre hinweg hier zur Hyperkeratinisierung beitragen, einem wichtigen Merkmal der MGD. Dies wird durch die Erkenntnisse von Yamaguchi et al. unterstützt, die eine altersbedingte Vorwärtsbewegung der Linie berichteten, die positiv mit sowohl den Meibographie-Scores als auch der Qualität des exprimierten Meibums korrelierte, was eine Assoziation mit MGD impliziert [454].

Bei vorhandener MGD kann die Farbstofflinie breiter werden und fortschreiten, so dass sie den Bereich der Meibom-Drüsenöffnungen umfasst [454], oder sie kann sich bei KCS und beim Tragen von Kontaktlinsen im Oberlid in posteriore Richtungen ausbreiten, um mit der Lid Wiper-Epitheliopathie zu verschmelzen [344]. Das Unterlid kann ähnlich betroffen sein [346].

Von den Wirkstoffen, deren Konzentration bekannterweise in der Tränenflüssigkeit bei trockenem Auge erhöht ist, können TNF $\alpha$  und neutrophile Elastase eine Abstoßung von Glykokalxmuzinen wie MUC 16 verursachen <sup>241</sup>, die Population von Zellen, die für Farbstoffe zugänglich sind, vergrößern und so die Marx'sche Linie verbreitern. MMP9 verursacht die Proteolyse von Tight junction-Proteinen wie Zona occludens-1 und Occludin [309,314,315] und könnte den Zugriff auf das parazelluläre Kompartiment des Epithels und die Ausgänge der Meibom-Drüsen erhöhen.

**Tabelle 6**

Ursachen für Symptome bei trockenem Auge.

- 
- i. Visusymptome – (im Blinzelnintervall auftretend)
    - Tränenfilminstabilität und Aufreißen des Tränenfilms
    - Epithelrauheit in Bereichen, wo der Tränenfilm aufreißt
  - ii. Beschwerdesymptome
    - Tränenhyperosmolarität
      - Allgemein – betrifft alle Tränenkompartimente
      - Lokal – auf das Aufreißen des Tränenfilms bezogen, lokale Hotspots mit Hyperosmolarität
  - iii. Reibung – Reduzierte Schmierung – (bezogen auf Lidschlag und Augenbewegungen)
    - Niedriges Tränenvolumen bei ADDE
    - Verlust von Becherzellen; Muzin
    - Verlust von reifer Glykokalyx, Verlust von Lubrizin
    - Epithelrauheit; Keratopathia superficialis punctata
    - Filamentöse Keratitis
    - SLK
    - LIPCOF – Konjunktivochalasis
      - Lid Wiper-Epitheliopathie
  - iv. Inflammatorische Mediatoren
    - Schmerzmediatoren erhöhen die sensorische Reizbarkeit.

Translated into German by Allergan

Prostanoide

Zytokine

Neurokinine

v. Neurosensorische und zentrale Faktoren

Überempfindlichkeit des Trigemini

Neuropathisches Feuern

Kognitive Aspekte von Symptomen des trockenen Auges

5.5.3.2. *Lid Wiper-Epitheliopathie*. Lid Wiper-Epitheliopathie (LWE) ist die Bezeichnung für einen Färbungsbereich auf dem Lid Wiper-Epithel, der als ein Ergebnis reibungsbezogener Schädigung angesehen wird [324,342,344]. Es wurde nachgewiesen, dass sie sowohl das Ober- als auch das Unterlid betrifft [346]. Obwohl die Schädigung in Bezug auf das Oberlid in der Regel dem Lidschlag zugeordnet wird, erzeugt auch die Änderung der Blickrichtung durch Augenbewegung eine relative Bewegung zwischen den Lidern und dem Augapfel, und es kann die Hypothese aufgestellt werden, dass dies zu der Reibungsabnutzung im Lid Wiper-Bereich beiträgt. Zudem wird die Auslösung einer horizontalen Sakkade häufig von einem Lidschlag begleitet, sodass diese häufig unter alltäglichen Blickbedingungen kombiniert werden [455].

Die Epitheliopathie kann mithilfe von Bengalrosa, Lissamingrün oder Fluoreszein nachgewiesen werden, wobei sie als eine schmale unregelmäßige Färbung des Lid Wiper-Bereichs zu sehen ist, die entweder die obere und/oder untere Lidkante in ihrem zentralen Teil betrifft. Obwohl die Winkelgeschwindigkeit der oberen Lidkante über die gesamte Länge des Lids gleich ist, ist es relevant, dass ihre lineare Geschwindigkeit während des Lidschlags in der Mitte, also dem Teil, der die gesamte Breite der Lidöffnung durchquert, am höchsten und am medialen und temporalen Ende, wo die geringste Entfernung zurückgelegt wird, am niedrigsten ist. Daher ist die Gefahr für Reibungsschäden am Lid oder Augapfel im mittleren Bereich der Lidöffnung immer am größten und bezieht sich mehr auf die Kornea als auf die bulbäre Konjunktiva. Da der Lid Wiper-Bereich ein schmales Kontaktband erzeugt, während er die Lidöffnung durchquert, ist die Auswirkung der Scherbelastung mehr auf das Lid Wiper-Epithel als auf das korneale Epithel oder den Augapfel konzentriert [324].

Korb et al. [324] verglichen die Häufigkeit der oberen LWE bei allen asymptomatischen Teilnehmern ohne trockenes Auge mit der in der Gruppe symptomatischer KCS-Patienten mithilfe einer sequenziellen Färbung mit einer Kombination aus Fluoreszein und Lissamingrün. Die Epitheliopathie wurde auf einer Skala von 0–3 beurteilt, wobei die horizontale Länge und die durchschnittliche sagittale Breite des gefärbten Wipers verwendet wurden. Sie fanden eine LWE-Häufigkeit von 16 % bei asymptomatischen Teilnehmern, wobei 14 % den Grad 1, 2 % den Grad 2 und 0 % den Grad 3 aufwiesen. Bei symptomatischen Patienten hatten 88 % eine LWE, wobei 22 % den Grad 1, 46 % den Grad 2 und 20 % den Grad 3 aufwiesen. Die Gesamtprävalenz von LWE war in der KCS-Gruppe um das Sechsfache höher, und die Prävalenz von LWE des Grades 2 oder höher war bei KCS-Patienten 16 Mal höher als bei Kontrollen ( $P < 0,0001$ ).

In einer Studie von Shiraishi et al. [346] war die Prävalenz von Unterlid-LWE signifikant höher (39,5 %) als von Oberlid-LWE bei Nicht-Kontaktlinsen-Trägern (12,0 %:  $P < 0,001$ ), und die Prävalenz von sowohl Ober- als auch Unterlid-LWE korrelierte signifikant mit dem Alter ( $P < 0,001$ ), aber nicht mit Geschlecht oder BUT.

Auf den ersten Blick ist dies ein überraschendes Ergebnis, da

zwar beide Lider der Reibungswirkung des Augapfels während horizontalen Sakkaden ausgesetzt sind, aber nur der obere Lid Wiper während des Lidschlags einer ausgedehnten Reibung ausgesetzt ist, da die Exkursion des unteren Lids während des Lidschlags nur gering ist. Dieses Rätsel wurde in einer weiteren Studie untersucht, in der Lidbewegung und Augapfelverschiebung während spontanem Blinzeln verfolgt und der Liddruck auf den Augapfel mit einem Blepharo-Tensiometer gemessen wurde. Die Autoren stellten keinerlei Beziehungen zwischen Augenliddruck und Oberlid-LWE fest, aber der Augenliddruck bei Augen mit einem Unterlid-LWE des Grades 3 ( $27,9 \pm 2,8$  mmHg) war signifikant höher als bei Unterlid-LWE des Grades 0 ( $19,7 \pm 1,3$  mmHg;  $p < 0,05$ ). Zudem korrelierte der Druck des unteren Augenlids signifikant mit der Länge der horizontalen Bewegung der unteren Augenlider während des Lidschlags ( $p < 0,05$ ) und dem Grad der posterioren Bewegung des Augapfels ( $p < 0,05$ ). Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass ein Grund für die Entwicklung von Unterlid-LWE die Anwendung höheren Drucks vom unteren Augenlid war.

Es ist möglich, dass auch noch ein anderer Faktor beteiligt ist. Das Oberlid und der Augapfel bewegen sich bei vertikalem Blick gemeinsam, aber nicht synchron – es gibt eine kleine relative Bewegung zwischen ihnen. Im Kontrast dazu bewegt sich das Unterlid beim vertikalen Blick nur geringfügig, sodass eine schnelle Bewegung des Augapfels in Relation zum unteren Lid Wiper stattfindet, eine potentielle Ursache für signifikante Reibung während des Lesens und der Arbeit an einem Computer.

## 6. Entzündungsreaktionen bei trockenem Auge – angeborene und adaptive Immunität

Im Allgemeinen werden Immunprozesse als angeboren oder adaptiv eingeordnet. Angeborene Immunantworten werden als schnell und unspezifisch angesehen, während adaptive Reaktionen sich im Laufe der Zeit entwickeln, spezifisch sind und ein Gedächtnis erzeugen. Diese Prozesse finden gleichzeitig statt, und eine Kreuzkommunikation zwischen beiden Systemen ist für die Entwicklung einer effektiven Reaktion entscheidend.

Die Immunantworten der Augenoberfläche unterscheiden sich nicht von denen anderer Schleimhautoberflächen [234,456,457]. Die Mikroumgebung der Augenoberfläche ist ständigen Umweltangriffen ausgesetzt und hält die Überwachung über die Austrocknung, Mikroorganismen, Verschmutzung und Allergene sowie andere schädliche Wirkstoffe aufrecht. Insulte können akut oder chronisch sein, und das Immunsystem behandelt sie entsprechend.

### 6.1. Angeborene Immunantworten bei der Keratokonjunktivitis sicca

#### 6.1.1. Barrieren und Entzündungssignale

Eine kritische Komponente des angeborenen Immunsystems ist die Bereitstellung einer physikalischen Barriere zwischen dem Auge und der äußeren Umwelt, zum Beispiel das Verhindern der Adhärenz von Mikroorganismen und der Passage von Toxinen über die gesamten Oberflächenepithel. Zu den Elementen, die das erreichen, gehören das Gelmuzin der Tränen, die Glykokalyx, das Epithel selbst und ein Strom antibiotischer Schutzproteine, einschließlich Laktoferrin, Lysozym, Lipocalin und Kleeblatt-Peptiden sowie Oberflächenmoleküle wie die Defensine ( $\alpha$  und  $\beta$ ) [159,458–461]. Allerdings werden die kornealen und konjunktivalen

Epithelzellen als „Gatekeeper“ der Augenoberfläche angesehen [462].

Dieses Verteidigungssystem kann durch die hyperosmolare Belastung bei KCS durch die Aktivierung von MAPK-Kinasen gekapert werden, die wiederum den Master-Regulator, NF $\kappa$ B, die Produktion von IL-1 (hauptsächlich) und von TNF- $\alpha$  aktivieren. Diese haben große Downstream-Auswirkungen, indem sie eine Kaskade von anderen Mediatoren und zellulären Signalen auslösen, die die inflammatorische Immunantwort verstärken. IL-1 und TNF- $\alpha$  regeln dann die MMP-9-Produktion durch korneale Epithelzellen hoch, was mit der Disruption der epithelialen kornealen Barriere assoziiert ist [316].

**Tabelle 7**

Okuläre Ziele der Keratokonjunktivitis sicca.

i. Die Tränenrüse	Inflammatorische Zellinfiltration von Ducti und Azini
ii. Die Meibom-Drüsen	Obstruktion der terminalen Ducti; Ductusdilatation und Drüsenverlust
iii. Die Kornea	Keratopathia superficialis punctata Filamentöse Keratitis Keratokonjunktivitis des superioren Limbus (SLK)
iv. Die Konjunktiva	a. Allgemeine Veränderungen punktförmige Epitheliopathie Veränderung der Glykokalyx Becherzellenverlust
	b. Bulbäre Veränderungen Lidkantenparallele konjunktivale Falten (LIPCOF) SLK
	c. Tarsale Veränderungen Veränderung der Lidkanten Migration der Marx'sche Linie Lid Wiper-Epitheliopathie
v. Sowohl Kornea als auch Konjunktiva	Verstärkte epitheliale Abstoßung
vi. Tränenfilminstabilität	Frühe Anzeichen Aufreißen des Tränenfilms Punkt, Vertiefung, Linie, Bereich

Ein Aspekt des angeborenen Verteidigungssystems umfasst die Aktivierung von Mustererkennungsrezeptoren (pattern recognition receptors, PRR) wie die Toll-like-Rezeptoren (TLR) und die NOD-like-Rezeptoren (NLR), die die zytosolische Inflammation vermitteln. Beide sind an der Entzündungsreaktion der KCS beteiligt [463]. Die Stimulation dieser Rezeptoren ist mit der Hochregulierung von IL-1, TNF- $\alpha$  und auch IL-6 verbunden.

#### 6.1.2. Rekrutierungssignale und inflammatorische Zellen

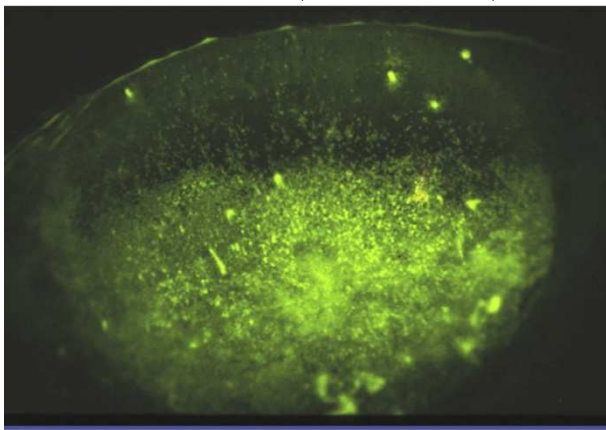
Experimentell ist die Expression von IL-1, TNF- $\alpha$  und IL-6 durch die Augenoberflächenepithel von entscheidender Wichtigkeit für die Entzündungsreaktion der KCS. Ein Schritt bei dem Verstärkungsprozess ist die Erzeugung von Signalen, die sowohl angeborene als auch adaptive inflammatorische Zellen zu der Stelle der Entzündung rekrutieren. Diese Stoffe können löslich oder

membrangebunden sein und Chemokine und Adhäsionsmoleküle umfassen [464]. In einem experimentellen Modell der KCS wurde die durch Austrocknungsstress (desiccating stress, DES) und Scopolamin ausgelöste verstärkte Expression inflammatorischer Zytokine durch die Kornea und Konjunktiva bei IL-1-Rezeptor-Knockout-Mäusen stark reduziert [465].

An der Augenoberfläche während einer Entzündungsreaktion produzierte Chemokine (z. B. CCL3, CCL4, CCL5, CXCL9, CXCL10 und CX3CL1 [306, 466–469]) können Makrophagen, dendritische Zellen, Neutrophile und aktivierte T-Zellen binden, in denen die jeweiligen Chemokin-Rezeptoren hochreguliert sind [470].

Der andere kritische Schritt bei der Zielenkung dieser inflammatorischen Zellen auf die Augenoberfläche ist die Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle [464] wie das intrazelluläre Adhäsionsmolekül-1 (ICAM-1), das bei der KCS vom konjunktivalen und kornealen Epithel und vom Blutgefäßendothel exprimiert wird [471]. ICAM-1 ist ein Adhäsionsmolekül, das an inflammatorische Zellen bindet, die den Liganden *Integrin Leukozyten-Funktions-Antigen 1* (LFA-1) exprimieren, was Zellrollen, -transmigration und -aktivierung an der Stelle der Entzündung und in lymphatischen Organen verursacht [464,472]. Solche Moleküle, die sich an der Oberfläche des Auges befinden, stellen potentiell zugängliche therapeutische Ziele dar. Lifitegrast, ein ICAM-Inhibitor, wurde kürzlich von der US-amerikanischen Food and Drug Administration zur Behandlung von KCS zugelassen [473].

An der angeborenen Entzündungsreaktion sind drei verschiedene Zelltypen beteiligt: Neutrophile, NK-Zellen und Monozyten/Makrophagen. Die Rolle von Neutrophilen bei der KCS wird derzeit untersucht, und die Wichtigkeit von NETs wurde bereits an früherer Stelle erwähnt (siehe Abschnitt 4.8).



**Abb. 6.** Schwere filamentöse Keratitis mit extensiver Korneafärbung mit Fluoreszenz.

Allerdings führte in einem DES-Modell der KCS die Verringerung von Neutrophilen zu einer verstärkten CD4<sup>+</sup>T-Zellen-Aktivierung und verstärkter kornealer Färbung, was aufzeigt, dass Neutrophile möglicherweise zu einem bestimmten Zeitpunkt eine schützende Rolle spielen [474].

Jüngste Studien von KCS-Modellen deuten darauf hin, dass NK-Zellen möglicherweise einen signifikanten Beitrag bei der Pathogenese von KCS leisten [105,475–477]. Die Rekrutierung oder Aktivierung residenter okulärer NK-Zellen wurde mit der verstärkten Produktion inflammatorischer Zytokine assoziiert, einschließlich IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-17 und IL-23, die Makrophagen, antigenpräsentierende Zellen (APCs) und autoreaktive T-Zellen stimulieren. NK-Zellen können eine frühe Quelle für IFN- $\gamma$  sein, die

für die Aktivierung und Differenzierung von Th1-T-Zellen und die Auslösung von co-stimulatorischen Signalen durch APCs verantwortlich sind, und IFN- $\gamma$  selbst ist ein wichtiges inflammatorisches Zytokin, das konjunktivale Epithelschäden und Becherzellenverlust verursacht [475,478].

Die Infiltration der Konjunktiva durch Monozyten, die in gewebeassoziierte Makrophagen differenzieren, ist ein bemerkenswertes Merkmal muriner KCS. In der Tat korreliert in einem Mausmodell autoimmuner lakrimaler Keratokonjunktivitis die Infiltration von CD11b<sup>+</sup> (Monozyten/Makrophagen) und CD14<sup>+</sup> Makrophagen mit der Krankheitsprogression [479]. Monozyten können in zwei Typen von Gewebemakrophagen differenzieren; M1-Zellen sind mit entzündungsfördernden Reaktionen assoziiert, während M2-Zellen regulatorisch agieren. Es wurde nachgewiesen, dass die KCS in einem Austrocknungsstressmodell einen M1-Phänotyp auslöst [480].

### 6.1.3. Die Merkmale angeborener Immunität

Andere Elemente, die als Teil des angeborenen Immunsystems angesehen werden, sind Gamma-/Delta( $\gamma/\delta$ )-T-Zellen und das Komplementsystem. Gamma-/Delta-T-Zellen sind häufig in unmittelbarer Nähe von Epithelzellen, einschließlich des Konjunktivaepithels, zu finden [476].  $\gamma/\delta$ -T-Zellen können IL-17 [481] in der Augenoberfläche produzieren, aber ihre spezifische Rolle bei der KCS ist weiterhin unbekannt. Studien, in denen die Rolle von Komplementfaktoren der Augenoberflächenentzündung bei KCS untersucht wird, sind auf Beobachtungen in Tiermodellen beschränkt, in denen thymusaplastische Mäuse, die Serum von Mäusen mit trockenem Auge erhalten, eine KCS entwickeln, die mit der Rekrutierung von inflammatorischen Zellen und Zytokinen durch Aktivierung von C3a/C5a und C3b/C5b und der Bildung des Membranangriffskomplexes (membrane attack complex, MAC) assoziiert ist [482]. Diese Beobachtungen wurden auch durch den Nachweis von C3b-Expression in der Konjunktiva verstorbener Mäuse und die Abschwächung der Erkrankung durch Neutralisierung des Komplementsignalwegs durch die systemische Verabreichung von Kobragift unterstützt [482].

## 6.2. Adaptive Immunreaktionen der Augenoberfläche

### 6.2.1. Auslösung adaptiver Immunität durch Antigenpräsentation

Die Präsenz von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen an der Augenoberfläche bei KCS und die erfolgreiche Behandlung der Augenoberflächenentzündung mit topischem Cyclosporin deuteten darauf hin, dass die adaptive Immunität möglicherweise eine Rolle bei der KCS spielt [483]. Zur Auslösung einer adaptiven Immunantwort ist es erforderlich, dass Antigene an der Entzündungsstelle von professionellen APCs verarbeitet und präsentiert werden, die zu regionalem lymphatischem Gewebe migrieren, um antigenspezifische Effektor-T-Zellen zu aktivieren und zu expandieren. Obwohl das Antigen oder die Antigene, die diese Reaktion bei der KCS auslösen, nicht bekannt sind, wird die Hypothese aufgestellt, dass die Expression von Autoantigenen ein Schlüsselauslöser für die inflammatorische Epitheliopathie bei Sjögren-Syndrom ist. Dies wird als die Grundlage für die Produktion von Autoantikörpern gegen den Muskarin-Acetylcholin-Rezeptor des Typs 3 (anti-M3R Ab) und die Kallikrein-Familie von Proteinen, einschließlich Klk1 und Klk13 [482, 484–486], sowie die Erzeugung von autoreaktiven T-Zellen angesehen [487].

Die Evidenz für die Augenoberflächen-Antigenpräsentation als auslösender Schritt in der adaptiven Immunantwort stammt aus der Korrelation zwischen der Akkumulation reifer CD11c-APCs

und der Aktivierung von antigenspezifischen CD4<sup>+</sup>-T-Zellen bei der Dränage von Lymphknoten bei Austrocknungsstress und der Reduzierung der CD4<sup>+</sup>-T-Zelleninfiltration bei Tieren mit depletierten Augenoberflächenmakrophagen und APC [479]. Da das Augenoberflächengewebe bei Entzündungskrankungen durch die Hochregulierung von MHC II und anderen Reizsignalen charakterisiert ist, ist die Aktivierung zirkulierender vorbehandelter T-Zellen, die bei KCS-Patienten zur Kornea und Konjunktiva rekrutiert werden, ein weiterer plausibler Signalweg der Antigenpräsentation bei der Erzeugung lokaler adaptiver Immunantworten [471,482,488].

### 6.2.2. Lymphatisches Gewebe und die Augenoberfläche

Obwohl die Milz als das lymphatische Hauptgewebe angesehen wird, das für die Immunregulierung intraokularer Antigene verantwortlich ist, wird ihre Rolle bei der Immunität der Augenoberflächenentzündung nicht als dominant angesehen [457]. Auch die Rolle des Thymus bei der Regulierung der Immunantwort der Augenoberfläche wird kaum verstanden. Allerdings deutet Evidenz aus KCS-Tiermodellen und Patienten mit okulärer Graft-versus-Host-Reaktion, bei der eine Thymusschädigung durch die Konditionierung vor der hämatopoetischen Stammzellentransplantation verursacht wird, darauf hin, dass die zentrale Toleranz, die von der Thymusumgebung reguliert wird, möglicherweise bei der Augenoberflächenimmunität wichtig ist [489].

6.2.2.1. *Konjunktiva-assoziiertes lymphatisches Gewebe oder CALT.* So wie andere Schleimhäute, beispielsweise die Darmschleimhaut, ist auch die Konjunktiva mit lokalen, stromalen Ansammlungen lymphatischen Gewebes ausgestattet, die an der Induktion der Schleimhauttoleranz und der Regulierung von Entzündung und Immunabwehr auf der Augenoberfläche beteiligt sind [490]. Diese Foki machen das Konjunktiva-assoziierte lymphatische Gewebe oder CALT (conjunctiva-associated lymphoid tissue) aus, das lokale Äquivalent der MALT-Ansammlungen in Schleimhäuten im gesamten Körper [118]. Sie bilden einen Teil des lymphatischen Immunkreislaufs.

CALT-Foki haben Zugriff auf die Epitheloberfläche, und in Reaktion auf lokale Antigenexposition wurde die Bildung von Keimzentren/Follikeln festgestellt. Evidenz für sowohl homöostatische als auch pathologische Reaktionen auf Proteine, Mikroben und mikrobielle Produkte wurde in Tiermodellen erbracht, und es wurde postuliert, dass sie auch beim Menschen auftreten [491-493].

### 6.3. Entzündung, die Meibom-Drüse und das trockene Auge

Ein auffälliges Merkmal der menschlichen Meibom-Drüse ist ihre augenscheinliche Resistenz gegen Entzündungen und Infektionen. Es gibt beispielsweise keine durch Fachleute geprüfte Evidenz für Entzündung oder Infektion in diesem Gewebe bei obstruktiver MGD [36,494,495,976]. Zudem löst eine Exposition menschlicher Meibom-Drüsen-Epithelzellen gegenüber einem bakteriellen Toxin (d. h. Lipopolysaccharid [LPS]) nicht die Expression von anderen entzündungsfördernden Genontologien aus, abgesehen von denjenigen, die mit der Toll-Like-Rezeptorsignalgebung assoziiert sind [496]. Im Gegensatz dazu stimuliert LPS eine deutliche Hochregulierung von Genen, die mit Abwehr, Zytokin- und Chemokinproduktion, Chemotaxis, Toll-Like-Rezeptor-Signalwegen und Entzündungs- und

Immunantworten in immortalisierten menschlichen kornealen und konjunktivalen Epithelzellen verbunden sind [496]. Es ist möglich, dass diese augenscheinliche Resistenz gegenüber Entzündungen und Infektionen in der menschlichen Meibom-Drüse auf die Präsenz angeborener antiinflammatorischer und antiinfektiöser Faktoren zurückzuführen ist.

Diese Hypothese wird dadurch unterstützt, dass das am stärksten exprimierte Gen in der menschlichen Meibom-Drüse für den Leukozyten-assoziierten Immunglobulin-ähnlichen Rezeptor-1 (LAIR-1) kodiert [505]. LAIR-1 ist ein inhibitorischer Rezeptor, der die Immunzellenaktivierung unterdrückt und die entzündungsfördernde Zytokinproduktion reduziert [497,498]. Die Expression des LAIR-1-Gens wird während der Epithelzelledifferenzierung der menschlichen Meibom-Drüse hochreguliert [43], wie auch die für Uteroglobulin (unterdrückt Entzündung [1202]), Phospholipase A2 (tötet grampositive Bakterien ab und ist ein wichtiges Bakterizid in menschlichen Tränen [499]) und CCL28 (hat antimikrobielle Wirkung gegen grampositive und gramnegative Bakterien [500]). Prüfärzte fanden jüngst auch heraus, dass Epithelzellenlysate der menschlichen Meibom-Drüse die Wachstumsrate der gramnegativen Bakterien *Pseudomonas aeruginosa in vitro* hemmen [501]. Zusätzlich wird die menschliche MGD assoziiert mit einem signifikanten Anstieg bei den intraglandulären Transkripten für [a] S100 Kalzium bindende Proteine A8 und A9 (S100A8/9, auch Calprotectin genannt; in hohen Konzentrationen hat dieses Heterodimer antiinflammatorische und antimikrobielle Funktionen und macht Epithelzellen resistenter gegen das Eindringen von Bakterien [502-504,1217]), [b] Peptidaseinhibitor 3, von der Haut stammend (auch Elafin genannt [1203], hemmt bakterielle Infektionen [1202]) und [c] S100A7 (auch Psoriasin genannt, ein antimikrobielles Peptid [1202]) [505].

Diese Erkenntnisse bedeuten nicht, dass menschliche Meibom-Drüsen sich nicht entzünden oder infizieren können. So kann beispielsweise eine einzelne Meibom-Drüse ein Chalazion entwickeln (d. h. eine Entzündung einer blockierten Drüse), das sich sekundär infizieren kann. Zudem kann LPS die Leukotrien-B<sub>4</sub>-Sekretion aus Epithelzellen der menschlichen Meibom-Drüsen induzieren [60], und Isotretinoin kann die Expression einiger inflammatorischer Mediatoren in diesen Zellen induzieren [45]. Allerdings ist weder die Entzündung noch die Infektion ein Merkmal obstruktiver MGD, die mehrere Drüsen befällt [36,506].

## 7. Forschung in Tiermodellen und Zellmodellen *in vitro*

Die Verwendung von Tiermodellen zur Untersuchung der KCS ist eine Quelle für die Generierung von Hypothesen, die es ermöglicht, pathologische Mechanismen in Relation zur klinischen Erkrankung zu untersuchen. Der Einfluss von Risikofaktoren wie Alter, Geschlecht und Umwelt und im Fall des Sjögren-Syndroms die Auswirkung der Immundysregulation auf die Immuntoleranz können ebenfalls untersucht werden. Eine allgemeine Darstellung von Tiermodellen der KCS wird von Schrader et al. bereitgestellt [507].

### 7.1. Tiermodelle des trockenen Auges, das nicht mit Sjögren-Syndrom assoziiert ist

#### 7.1.1. Überblick

Der Unterausschuss hat sich auf die folgenden zwei Modelle

konzentriert: Das Modell für umweltbedingten Austrocknungsstress (desiccating environmental stress, DES) umfasst die Exposition gegenüber einer Kombination aus niedriger Luftfeuchtigkeit und verstärktem Luftstrom mit oder ohne muskarinischer Blockade. Das muskarinische Rezeptorblockadmodell (SCP) beinhaltet die systemische Injektion von Scopolamin zur Unterdrückung der Funktion des parasympathischen Nervensystems und somit zur Hemmung der Tränenrüsensekretion.

Es gibt akute und chronische DES-Modelle, und es besteht starkes Interesse an der Erholung von einer Schädigung nach der Entfernung der auslösenden Ursache aufgrund der Relevanz für eine selbsterhaltende Erkrankung.

### 7.1.2. Das Austrocknungsstressmodell

Das Austrocknungsstress- oder umweltbedingte Austrocknungsstressmodell (DES), das zuerst von Dursun et al. beschrieben [508] und später von mehreren Prüfärzten modifiziert wurde [509,510], kombiniert einen starken Luftstrom, eine niedrige relative Luftfeuchtigkeit und eine cholinerge Blockade zur Hemmung der Tränenrüsensekretion. Es ist das Standard-KCS-Modell geworden und wurde für die Untersuchung der Pathogenese der KCS und von potentiellen Therapien verwendet [511–515]. Das DES-Modell rekapituliert mehrere Merkmale der KCS, einschließlich der kornealen Färbung, des Verlusts konjunkivaler Becherzellen, der konjunkivalen Infiltration durch CD4<sup>+</sup>-T-Zellen, erhöhter Zytokinkonzentrationen der Tränenflüssigkeit und der Apoptose des Augenoberflächenepithels [378,427,516–518]. Interessanterweise löst DES tiefgreifende epitheliale Veränderungen aus mit erhöhter Produktion von Zytokinen, Chemokinen und Matrix-Metalloproteinasen, die der Auslösung der Immunantwort vorausgehen [309,378,519], es tritt jedoch eine signifikante Modulation des Immunsystems ein (nachfolgend beschrieben).

Ein weiteres Merkmal der KCS ist die Aktivierung der MAPK, die extrazelluläre signalregulierte Kinasen, JNK und p38 MAPK

beinhalten. Es wurden erhöhte Konzentrationen von aktiven, phosphoryliertem JNK1 und JNK2 in Augenoberflächenepithelen berichtet, die *in vivo* und in Kulturen mit menschlichen kornealen Epithelzellen, die gegenüber hyperosmolaren Medien exponiert waren, mit hypertotonischer Kochsalzlösung behandelt wurden [309–311]. Zudem scheint JNK2, nicht aber JNK1, die durch Austrocknung induzierte Korneaepithelerkrankung (durch Stimulation der Produktion von MMP-1, MMP-9 und verhornten Envelope-Precursors) zu vermitteln, da JNK2-KO-Mäuse gegen KCS-induzierte Veränderungen resistent waren [520].

#### 7.1.2.1. Auslösung von trockenem Auge durch Austrocknungsstress.

Die Disruption afferenter und efferent Immunregulierung der Augenoberfläche ist als ein wichtiger Prozess anerkannt, der der KCS-Entzündung zugrunde liegt [234,521]. Entzündungsfördernde Zytokine (IL-1, TNF- $\alpha$  und IL-6) und Chemokine, die vom belasteten Augenoberflächenepithel freigesetzt werden, verursachen epitheliale Schäden und aktivieren antigenpräsentierende Zellen (APCs) und NK-Zellen [234,475].



Abb. 8. Die Marx'sche Linie des Oberlids eines jungen Erwachsenen, mit Lissamirgrün gefärbt. (Mit freundlicher Genehmigung von N Yokoi.)

Zusätzlich schädigt die Aktivierung einer angeborenen NK-Zellen-Reaktion nicht nur das Zielgewebe, sondern fördert auch die APC-Reifung durch IFN- $\gamma$  [475,476,522]. Diese aktivierten APCs auf der Augenoberfläche migrieren zu den drainierenden Lymphknoten

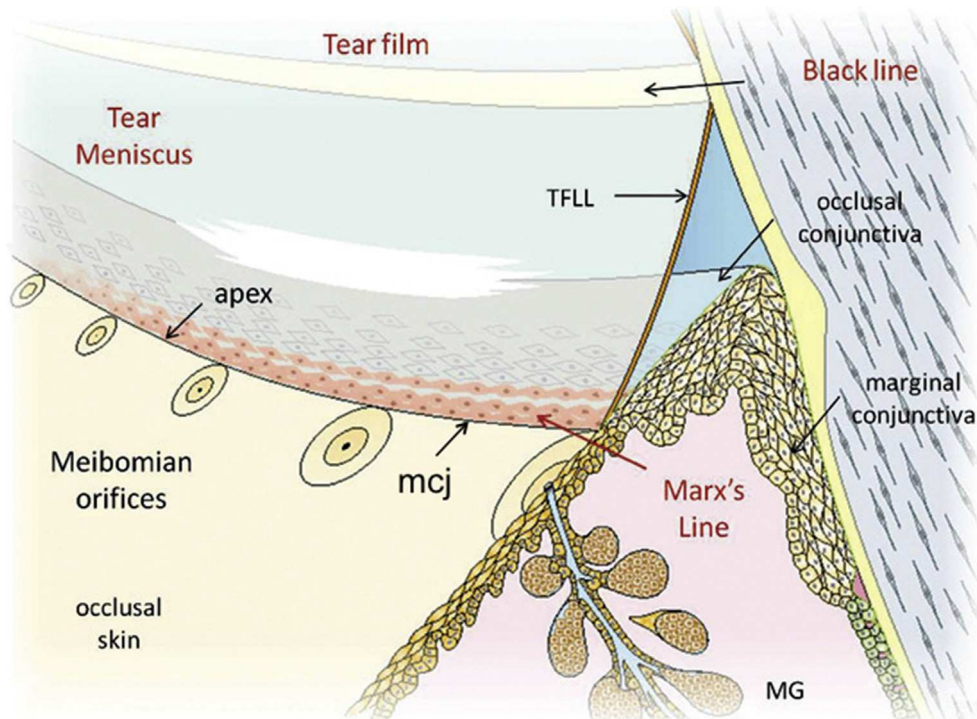


Abb. 7. Schematische Ansicht des unteren Tränenmeniskus und der Lidkante. Der Tränenmeniskus überlagert und benetzt sowohl den okklusalen Teil der Randschleimhaut als auch die benachbarte Oberfläche in Kontakt mit dem Augapfel. Der periphere Apex des Tränenmeniskus ist an die mukokutane Verbindung (MCJ) geheftet, die die Grenze zwischen der stratifizierten squamösen, keratinisierten Epidermis der Lidkante und der stratifizierten squamösen, parakeratinisierten okklusalen Konjunktiva bildet. Er befindet sich direkt hinter den Öffnungen der Meibom-Drüsen. Die Reihe anfärbbarer Epithelzellen, aus denen die Marx'sche Linie besteht, liegt unter dem Apex des Tränenmeniskus, unmittelbar hinter der MCJ. (Von Bron, A. J., et al. (2011). „A solute gradient in the tear meniscus. I. A hypothesis to explain Marx's line.“ Ocul Surf 9(2): 70–91 – mit freundlicher Genehmigung) [163].



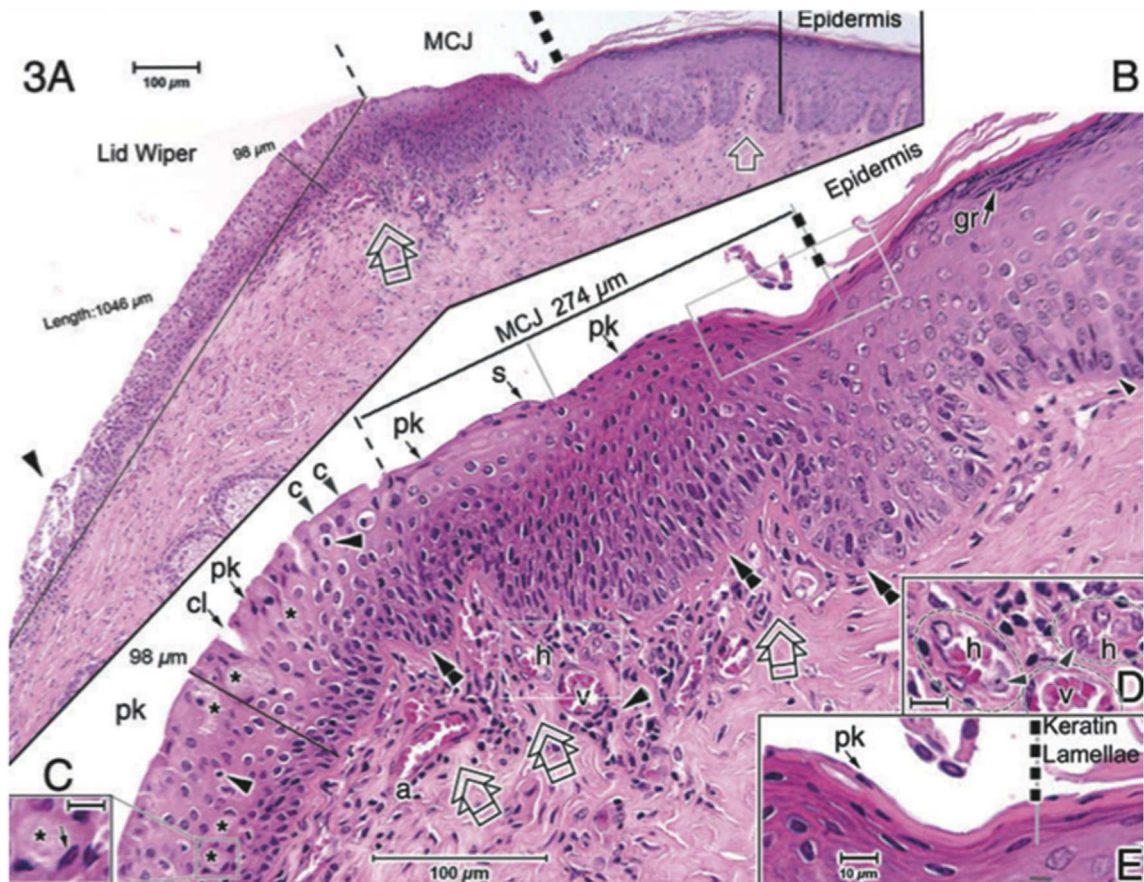
(draining lymph nodes, DLNs) durch die neugebildeten lymphatischen Gefäße (durch VEGF-C und VEGF-D ermöglicht) [512,523,524] und helfen, naive T-Zellen in den drainierenden Lymphknoten (DLN) vorzubehandeln, was zu der Aktivierung und Expansion von IFN- $\gamma$ -sezernierenden CD4<sup>+</sup>-T- (Th1) und IL-17-sezernierenden CD4<sup>+</sup>-T-Zellen (Th17) führt [476,479,525,526]. Diese uneingeschränkten Effektor-T-Zellen wandern unter dem Einfluss erhöhter Konzentrationen lokaler Augenoberflächenchemokine über Blutgefäße zur Augenoberfläche [516,527,528]. Erhöhte Konzentrationen von IL-17 und IFN- $\gamma$  aus aktivierten T-Zellen auf der Augenoberfläche führen zudem zur Disruption der epithelialen kornealen Barriere und zu verringerter konjunkтивaler Becherzellendichte [516,523,529].

Obwohl sowohl die CD4<sup>+</sup>- als auch die CD8<sup>+</sup>-T-Zellen an der adaptiven Immunantwort auf Antigene beteiligt sind, dominieren die CD4<sup>+</sup>-T-Zellen an der Augenoberfläche bei chronischer KCS [487]. Unbehandelte CD4<sup>+</sup>-T-Zellen im lymphatischen Gewebe differenzieren in vier funktionelle Phänotypen, die nach ihren wichtigen Zytokinprodukten benannt sind. Diese werden als Th1-, Th2-, Th17- und T-regulatorische (TReg) Lymphozyten klassifiziert. Bei der Antigenpräsentation ist das zum Zeitpunkt der T-Zellen-Aktivierung präsente Zytokinmilieu ein wichtiger Bestimmungsfaktor für das endgültige Ergebnis der Differenzierung. Die Auflösung der adaptiven Immunantwort wird durch die Eliminierung dieser Effektor-CD4<sup>+</sup>-T-Zellen durch aktivierungsinduzierte Apoptose an der Entzündungsstelle

vermittelt, was zu der Erzeugung von Gedächtnis- und antigenspezifischen T-Zellen führt, die durch die unterschiedliche Expression von Oberflächenmarkern gekennzeichnet ist, einschließlich CD45RB<sup>+</sup>, CD44<sup>+</sup> und CD69<sup>+</sup>.

Th2-CD4<sup>+</sup>-T-Zellen werden mit der Entwicklung allergischer Reaktionen auf der Augenoberfläche assoziiert und spielen auch eine Rolle bei der Aufrechterhaltung homöostatischer Konzentrationen konjunkтивaler Becherzellen [105]. Nieder Korn und Kollegen haben elegant aufgezeigt, dass die adoptive Übertragung von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen, die während der DES-Exposition *in vivo* vorbehandelt wurden, auf immungeschwächte Mäuse den bei den Spendermäusen beobachteten KCS-Phänotyp wiederholt [487]. Die Mäuse entwickelten KCS mit Tränenrüseneinfiltration, kornealer Färbung, Becherzellenverlust, CD4<sup>+</sup>-T-Zelleninfiltration in die Konjunktiva und Produktion von Zytokinen und Matrix-Metalloproteinasen. (Nieder Korn, Stern et al., 2006) (Abb. 10) [487].

Th1-CD4<sup>+</sup>-T-Zellen sind das klassische pathogene T-Zellen-Subset, das mit der Entstehung und der Progression der immunbezogenen Keratokonjunktivitis sicca assoziiert ist [478]. Diese Effektor-T-Zellenpopulationen werden durch die Präsenz von IL-12 differenziert und sind durch ihre Produktion von IL-2 und IFN- $\gamma$  an der Entzündungsstelle charakterisiert. Die Produktion von IFN- $\gamma$  durch Th1-CD4<sup>+</sup>-T-Zellen ist ein wichtiger Bestimmungsfaktor der auf der Augenoberfläche von bei Patienten mit trockenem Auge beobachteten pathologischen Veränderungen, einschließlich Epithelzelltod, Verlust von Becherzellen und



**Abb. 9.** Laut Wolff (1946) [76] ist die marginale Konjunktiva eine Übergangszone zwischen der Haut und der eigentlichen Konjunktiva und dehnt sich posterior etwa 2 mm aus, von der mukokutanen Verbindung (MCJ) anterior über die hintere Lidkante und auf die tarsale Platte, und endet an der Subtarsalfalte. Dieser H- und E-Abschnitt geht durch die hintere Grenze der oberen Lidkante bis in den mittentemporalen Bereich (A–E). In dieser Abbildung wird die MCJ von Knop et al. [36], als eine Zone beschrieben, die hier 274 µm breit ist und von der scharfen Kante der verhornten Epidermis zum „Scheitelpunkt“ des mukosalen Epithels reicht, was der posterioren Lidkante entspricht. Der Pathophysiologie-Unterausschuss zieht es vor, die MCJ als eine Verbindungslinie zwischen der Epidermis und dem mukosalen Epithel zu beschreiben, die klinisch durch den Apex des Tränenmeniskus markiert ist (siehe Text und Abb. 7), in welchem Fall diese Länge des mukosalen Übergangsepithels als okklusaler Bereich der marginalen Schleimhaut bezeichnet wird (Bron et al., 2011) [163]. In diesem Abschnitt beschreiben Knop et al. [36] eine durchgehende anteriore Zone (150 µm breit – B, graue Linie) parakeratinisierter (pk) Zellen, gefolgt von einer Zone nicht durchgehender pk-Zellen, die hauptsächlich aus Kuboidzellen, einigen Säulenzellen und zudem Becherzellen (Sternchen in B) besteht, von denen einige in Krypten residieren. Hier erreicht die Struktur eine maximale Dicke von 98 µm und verläuft über eine Entfernung von ca. 1000 µm (A) bis zur Subtarsalfalte. Weitere Merkmale sind: einige wenige intraepitheliale Lymphozyten (Pfeile in B), gelegentliche kleine Spalten (cl in B), Gefäße, einschließlich hochendothelialer Venolen (h), gewöhnlicher Venolen (v) und Arteriolen (a) unter der MCJ, bei größerer Vergrößerung einfacher sichtbar (D, Skalenleiste: 100 lm (A,B); 10 lm (C-E)). (gr in B = Körnerschicht). (Von Knop, E., et al. (2011). „The lid wiper and muco-cutaneous junction anatomy of the human eyelid margins: an *in vivo* confocal and histological study.“ *J Anat* 218(4): 449–461. – Mit freundlicher Genehmigung) [40].

Epithelzellen und Plattenepithelmetaplasie [516,530–532]. Die Rekrutierung von Th1-CD4<sup>+</sup>-T-Zellen zur Augenoberfläche ist durch ihre Expression von LFA-1 und die Wechselwirkung mit ICAM reguliert, das in den Augengeweben von Patienten mit KCS exprimiert wird [472]. Zudem lässt ihre erhöhte Expression von CCR5 und CXCR3 sie auf die Chemolockstoffe CCL5 und CXCL10 ansprechen, die ebenfalls in der entzündeten Augenoberfläche in Reaktion auf DES-Exposition produziert werden [467,527]. Es wurde nachgewiesen, dass IFN- $\gamma$  ein Antagonist für IL-13 in der Lunge und im Darm ist, und dies trifft auch auf die Augenoberfläche zu. Wie bereits erwähnt, fördert IL-13 die Becherzellen-Homöostase unter physiologischen Bedingungen [105], während IFN- $\gamma$  die Becherzellenapoptose fördert [478,530]. IFN- $\gamma$ -Knockout-Mäuse sind gegen Austrocknungsstress resistent; allerdings entwickeln sie nach einer Rekonstitution mit IFN- $\gamma$  einen Becherzellenverlust, der dem bei Mäusen des Wildtyps ähnelt [478]. Die adoptive Übertragung von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen von Spendermäusen, die einer DES-Exposition ausgesetzt waren und anti-IFN- $\gamma$  erhielten, war für immungeschwächte Empfänger-mäuse weniger pathogen und ergab weniger korneale Apoptose und eine größere Anzahl von PAS<sup>+</sup>-gefüllten Becherzellen [530]. Mäuse, die subkonjunktivale Injektionen von Anti-IFN- $\gamma$ -Antikörper erhielten, zeigten ein geringeres Maß an kornealer und konjunktivaler Apoptose [530].

Th17-CD4<sup>+</sup>-T-Zellen sind der Prototyp autoreaktiver T-Zellen, die mit chronischen Entzündungserkrankungen assoziiert sind. Die Präsenz von IL-17 in der Tränenflüssigkeit von Patienten mit KCS und ihre Lokalisierung auf der Augenoberfläche in Tiermodellen von durch DES-Exposition oder durch Autoimmunmechanismen ausgelöster KCS unterstützen die Rolle dieser Zellen bei der Krankheitsprogression [458,516,526]. Es wurde auch *in vitro* nachgewiesen, dass die Differenzierung naiver CD4<sup>+</sup>-T-in Th17-Zellen durch eine gemeinsame Kultur von T-Zellen mit kornealen Epithelzellen möglich ist, die höchstwahrscheinlich eine Quelle für IL-17 während einer Entzündung der Augenoberfläche sind. Wie die Rekrutierung von Th1-CD4<sup>+</sup>-T-Zellen an der Augenoberfläche bei der KCS verstärkt ist, so wird auch CCL20 auf der Augenoberfläche von Tieren exprimiert, die Austrocknungsstress ausgesetzt sind, und Th17-T-Zellen, die CCR6 exprimieren, sprechen möglicherweise auf dieses Signal an und können zur Augenoberfläche rekrutiert werden [516,527]. IL17 verursacht Schäden am kornealen Epithel sowohl direkt als auch durch die Hochregulierung von MMP9 und MMP3 und die Inhibition des Schutzes durch TReg-Zellen [516,529]. Sowohl IL-17 als auch IFN- $\gamma$  wurden in erhöhten Konzentrationen in der Tränenflüssigkeit und in konjunktivaler Impressionszytologie von KCS-Patienten festgestellt [235,441,458].

TRegs sind durch die Expression von CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>Foxp3<sup>+</sup>-Marker charakterisiert, und ihre Rolle bei der Aufrechterhaltung der peripheren Toleranz wurde als entscheidend bei den Immunantworten auf Allo- und Autoantigene bei Nicht-Augenerkrankungen festgestellt. Studien an Mäusen, die Austrocknungsstress ausgesetzt wurden, deuten auf eine signifikante Rolle von TRegs bei der Regulierung und Abschwächung der Entzündungsreaktion hin. Wenn eine adoptive Übertragung von TRegs durchgeführt wird, ist eine signifikante Verbesserung der KCS-Entzündung zu beobachten, und dies korreliert mit der Regulierung von „augenspezifischen CD4<sup>+</sup>-T-Zellen“ [533]. CD8<sup>+</sup>-T-Zellen können auch als kalkulatorische Zellen fungieren, da eine Depletion von CD8<sup>+</sup>-T-Zellen während der Einleitungsphasen der DES-Exposition mehr pathogene T-Zellen erzeugte. Ein funktioneller (aber nicht numerischer) Defekt bei den TRegs wurde ebenfalls in DES-Experimenten nachgewiesen

[529].

Die Rolle von B-Zellen bei der adaptiven Reaktion der Augenoberfläche bei der KCS ist weiterhin unklar. Die Produktion von B-Zellen und Autoantikörpern scheint mit den systemischen und okulären Manifestationen des Sjögren-Syndroms bei Patienten und in Tiermodellen verwickelt zu sein [482]. Im Gegensatz dazu ist ihre Rolle bei der chronischen KCS bei Patienten ohne Autoimmunschwäche nicht offensichtlich. Allerdings ist zusätzlich zu der Produktion von pathogenen Autoantikörpern die Rolle professioneller APCs und die Aktivierung autoreaktiver T-Zellen nicht zu unterschätzen [534].

7.1.2.1.1. *Unterscheidung zwischen Modellen die auf Austrocknungsstress allein und solchen, die auf der Auslösung durch Scopolamin oder auf einer Kombination aus beiden basieren.* Ein Großteil der experimentellen Evidenz, die die oben beschriebene KCS-Entzündung unterstützt, wurde von einem Mausmodell der KCS abgeleitet, in der DES-Exposition mit systemischer Muskarin-Acetylcholin-Rezeptorhemmung unter Verwendung von Scopolamin kombiniert wurde [509,535]. DES verstärkt die Tränenverdunstung durch niedrige Luftfeuchtigkeit und starken Luftstrom, und SCP verursacht eine Tränendefizienz, indem es der Muskarinaktivität in den Tränenrüsen entgegenwirkt. Niedrige Luftfeuchtigkeit allein kann eine KCS induzieren, aber die Kinetik ist im Vergleich zu DES verzögert [536]. In jüngster Zeit fand ein Fortschritt bezüglich unseres Verständnisses der KCS-Entzündung bei Mäusen statt, der besagt, dass DES-Exposition ohne Muskarinblockade und SCP die KCS durch andere primäre Mechanismen auslöst [537]. DES-Exposition ohne Muskarinblockade löste eine stärkere konjunktivale CD3(+)-T-Zelleninfiltration und stärkere Th17-Zellenaktivität und TReg-Dysfunktion aus als SCP, während das Tränenvolumen durch SCP stärker verringert wurde als durch DES. SCP verringerte die Th17-Aktivität und verstärkte die Th2- und TReg-Reaktionen ohne die Th1-Aktivität zu beeinflussen.

Es ist zu beachten, dass Scopolamin durch Hemmung der cholinergen Aktivität auch eine deutliche Auswirkung auf die Art der Entzündungs- und Augenoberflächenreaktionen bei der KCS hat. Scopolamin würde die Fähigkeit des parasympathischen Nervensystems stören, auf Zytokine zu reagieren, die während der Aktivierung des angeborenen Immunsystems freigesetzt werden, und eine negative Feedback-Kontrolle der angeborenen Immunantworten zur Wiederherstellung der Homöostase bereitzustellen [1220]. Scopolamin würde auch die Fähigkeit des cholinergen antiinflammatorischen Signalwegs unterbinden, abnormalen chronischen und hyperaktivierten Entzündungsantworten entgegenzuwirken [538]. Zusätzliche Erwägungen sind, dass cholinerge Neurotransmitter bekanntermaßen Meibom-Drüsen-Epithelzellen [42] und Becherzellen regulieren [539], dass diese modulatorische Aktivität aber durch die Verwendung von Scopolamin unterdrückt würde. Zudem scheinen Becherzellen von konstanten neuronalen Eingangssignalen von der Augenoberfläche abhängig zu sein [540], diese Kommunikation kann jedoch durch Scopolamin behindert werden. Insgesamt und aufgrund der Tatsache, dass das Immunsystem und die Augenoberfläche für die Entwicklung und die Heilung der KCS physiologisch wichtig sind, begrenzt die Ausschaltung eines wichtigen regulatorischen Systems (d. h. des cholinergen Signalwegs) durch Scopolamin die physiologische Relevanz dieses SCB-Modells für das Verständnis immunologischer und okulärer Prozesse bei der KCS bei Menschen.

7.1.2.2. *Modelle zu akutem versus chronischem evaporativem trockenem Auge.* Die existierenden KCS-Modelle werden in der akuten Umgebung erstellt [509,535], was Fragen dazu aufwirft, wie Erkenntnisse aus diesen Modellen solche aus der klinischen

Umgebung betreffen, wo die KCS in der Regel als eine chronische Erkrankung angetroffen wird. Vor kurzem wurde ein chronisches, murines KCS-Modell entwickelt, das sich dieser Frage annähern will [541]. Kurz gesagt wurde die akute KCS zuerst 14 Tage lang mit derselben DES-Methode ausgelöst, und befallene Mäuse wurden dann in eine Umgebung mit normaler Luftfeuchtigkeit gebracht und dort für weitere 4 Monate ohne eine DES-Exposition oder SCP-Provokation gehalten. Die Schwere der KCS erreichte ihren Höhepunkt am Ende der DES-Exposition, und nach der Entfernung aus der DES-Umgebung ging die korneale Epitheliopathie allmählich wieder auf niedrigere Stufen zurück, aber es trat niemals eine Normalisierung ein. Zudem war die chronische Phase von Th17-Reaktionen an der Augenoberfläche begleitet. Diese Erkenntnisse deuten darauf hin, dass die korneale Epitheliopathie und Entzündung nach der Auslösung einer akuten KCS auch ohne fortgesetzte DES-Exposition in einer chronischen Langzeitphase weiterhin bestehen bleiben kann.

Die für die Verwendung in dieser chronischen Studie ausgewählten Mäuse zeigten zu Beginn des Experiments nahezu keine korneale Fluoreszeinfärbung [542]. Im Gegensatz dazu scheinen unbehandelte Mäuse typischerweise eine stärkere und variabelere Färbung aufzuweisen [82,1213,1214], wie dies auch bei Menschen der Fall ist (siehe Abschnitt 4.14.1). Es wird interessant sein zu erfahren, ob sich dieses chronische Modell bei Mäusen mit höheren anfänglichen Graden der kornealen Fluoreszeinfärbung reproduzieren lässt.

**7.1.2.3. Ein altersbedingtes Modell des trockenen Auges.** Ein weiteres chronisches Modell der KCS ist das C57BL/6-Modell mit älteren Mäusen, die ebenfalls spontane KCS und MGD entwickeln [545]. Interessanterweise zeigten weibliche und männliche Mäuse vergleichbaren Becherzellenverlust, aber bei den weiblichen Mäusen wurde eine stärkere korneale Färbung beobachtet. Die adoptive Übertragung gealterter CD4<sup>+</sup>-T-Zellen übertrug den KCS-Phänotyp auf RAG1-KO-Mäuse, was darauf hindeutet, dass die Alterung zur Generierung spontaner autoreaktiver T-Zellen führt [545]. Die Erkenntnisse zu spontan aktivierten Zellen bei älteren Mäusen sowohl des Th1- als auch des Th17-Phänotyps erfordern weitere Untersuchungen.

**7.1.2.4. Relevanz von Mausmodellen für Entzündungserkrankungen beim Menschen.** Mausmodelle können als Hilfe bei der Klassifikation zugrundeliegender physiologischer und pathologischer Prozesse bei vielen menschlichen Erkrankungen von unschätzbarem Wert sein. Idealerweise kann ein solches Verständnis auf Therapien für verschiedene Krankheiten bei Menschen übertragen werden. Allerdings können potentielle Behandlungen, die in Mausmodellen entdeckt und validiert wurden, nicht immer erfolgreich auf Therapien für Menschen übertragen werden. Dies trifft besonders auf Behandlungen zu, die auf inflammatorische Signalwege abzielen.

Genomische Reaktionen auf Entzündungsprovokationen haben schlechte Korrelationen zwischen verschiedenen Mausmodellen im Vergleich mit Reaktionen bei Menschen gezeigt [546]. Obwohl einige Studien darauf hinweisen, dass Erkenntnisse aus Experimenten mit Mäusen für den therapeutischen Erfolg beim Menschen prädiktiv sein können [547,548], bleibt die Tatsache bestehen, dass nahezu 150 klinische Studien mit in der Prüfung

befindlichen antiinflammatorischen Therapien auf der Basis von Mausdaten fehlgeschlagen sind [546], einschließlich einiger potentieller Behandlungen für KCS [549]. Einige dieser klinischen Studien basierten auf Daten aus DES-Mausmodellen [514,550,1218] und Botulinumtoxin-Mausmodellen [551]. Diese Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit, nachzuweisen, ob ein bestimmtes Mausmodell eine relevante Erkrankung beim Menschen nachahmen kann oder nicht [546,552,1204].

## 7.2. Tiermodelle des trockenen Auges bei Sjögren-Syndrom

### 7.2.1. Einführung

Sjögren-Syndrom ist eine chronische Autoimmunerkrankung, die die exokrinen Drüsen, hauptsächlich die Tränen- und Speicheldrüsen, befällt und KCS und Mundtrockenheit auslöst und zudem andere Organe befällt. Die klinischen Funktionen der menschlichen Erkrankung werden in einem späteren Abschnitt dieses Berichts näher erläutert.

Es wurden mehrere Modelle zur Untersuchung der Pathogenese des Sjögren-Syndroms verwendet, und diese boten Einsichten in diese Krankheit, einschließlich ihrer Heterogenität (Tabelle 8). Obwohl Tiermodelle einen oder mehrere Aspekte des Sjögren-Syndroms rekapitulieren können, gibt es kein perfektes Modell. Dieser Abschnitt konzentriert sich auf Augenereignisse in Mäusemodellen zur Autoimmunität.

### 7.2.2. Tiermodelle des Sjögren-Syndroms

Eine Durchsicht der Literatur zu Tiermodellen zeigt gegensätzliche Berichte, wobei sich die rheumatologische Forschung auf die Speicheldrüse als Zielorgan und die ophthalmologische Forschung auf die Tränendrüse konzentriert. Mit Ausnahme der Berichte zu MRL/lpr-, NZB/NZW- und NOD-Mäusen [553–556] gibt es relativ wenige Informationen über Speichel- und Tränenpathologie in denselben Tieren. Manifestationen an den Augen sind im Rattenmodell ebenfalls weniger umfassend untersucht. Es besteht Bedarf für weitere Studien, die die pathologischen Veränderungen in beiden Organen umfassen, die gemeinsame Signalwege der Drüsendestruktion identifizieren und drüsenspezifische Differenzen beschreiben und abgrenzen könnten. Die zeitliche Abfolge pathologischer Ereignisse kann ein Wegweiser für die zellulären und molekularen Mechanismen sein. Es ist noch nicht klar, in welchem Maß Manifestationen des Sjögren-Syndroms auf der Augenoberfläche sekundär zu einer Beteiligung der Tränen- oder Meibom-Drüsen oder einem Angriff auf korneale und konjunktivale Autoantigene auftreten.

Der Einfluss von Alter, Krankheitsdauer und Geschlecht ist beim menschlichen Sjögren-Syndrom wichtig, wobei das Alter einer der größten Risikofaktoren für die KCS ist [557–561]. Ähnlich dauert es auch in Tiermodellen häufig einige Zeit, bis sich der Sjögren-Syndrom-Phänotyp entwickelt [536,562,563]. In zwei Modellen ist dies gut zu erkennen. Zunächst und wie bereits erwähnt entwickeln C57BL/6-Mäuse ohne Immunität spontan eine tränenabhängige KCS, die im postklimakterischen Alter (6–9 Monate) bis zu einem gehobenen Alter von 24 Monaten beginnt [545]. Zum Zweiten weist die nicht adipöse diabetische (non-obese diabetic, NOD) Maus mit dem Variantenstamm (NOD.B10.H2<sup>b</sup>) im Alter von 10 Wochen einen schwachen Sjögren-Syndrom-Phänotyp auf, entwickelt aber im Alter von einem Jahr eine schwere Dakryoadenitis und KCS [564]. Dies deutet darauf hin, dass eine

definierte Stufe der Immundysregulation erforderlich ist, um den histologischen Sjögren-Syndrom-Phänotyp zu etablieren, was von solchen Faktoren wie der Ansammlung von Lymphozyten im Gewebe, dem Verlust von regulatorischen T-Zellen und/oder der Bildung von Autoantikörpern abhängt. Ähnlich wie beim menschlichen Sjögren-Syndrom wird die Präsenz histologischer Läsionen als eines der wichtigsten Kriterien für die Diagnose des Sjögren-Syndroms im Tiermodell angesehen [565].

Die starke Prädilektion für das Auftreten des Sjögren-Syndroms bei Frauen wurde zum größten Teil mit geschlechtsbezogenen Differenzen im Immunsystem und den Wirkungen der Geschlechtssteriode auf das Immunsystem in Verbindung gebracht. Dies wird detailliert im Bericht des Unterausschusses für Sexus, Geschlecht und Hormone besprochen. Die Nicht-Sjögren-KCS (NSDE) tritt ebenfalls häufiger bei Frauen als bei Männern auf [559,566,567]. In Tiermodellen wurden einige faszinierende Beobachtungen gemacht. Bei der NOD-Maus, einem Sjögren-Syndrom-Modell, zeigt die Anfälligkeit der Tränendrüse und der Speicheldrüsen gegenüber inflammatorischer Infiltration eine starke geschlechtliche Ausrichtung mit der Entwicklung einer Sialadenitis bei weiblichen und einer Dakryoadenitis bei männlichen Mäusen [568]. Im Gegensatz dazu ist, wie auch bei Menschen, die Entzündung in den Tränen- und Speicheldrüsen weiblicher MRL/lpr-Mäuse signifikant stärker im Vergleich zu männlichen Mäusen gleichen Alters [569]. Leider sind nur begrenzte Informationen bezüglich der geschlechtsbezogenen Differenzen bei den Tränen- und Speicheldrüsen in Tiermodellen des Sjögren-Syndroms verfügbar [555,556,569,570].

### 7.2.3. Eine Erwägung spezifischer Modelle

Zu den Kennzeichen des Sjögren-Syndroms gehören die Lymphozyteninfiltration, die Produktion von Autoantikörpern und der Drüsenverlust sekundär zur epithelialen Apoptose. Es ist noch unklar, ob die Lymphozyteninfiltration der Drüsenapoptose vorangeht oder für eine Drüsenapoptose notwendig ist, und das relevante Antigen bzw. die Antigene sind noch nicht identifiziert. Im folgenden Abschnitt werden verschiedene Sjögren-Syndrom-Modelle gemäß ihrer potentiellen Relevanz für die Pathogenese des Sjögren-Syndroms beim Menschen in Gruppen zusammengefasst. Die Gruppierung ist etwas willkürlich, da viele Modelle in mehr als eine Kategorie aufgenommen werden könnten.

**7.2.3.1. Infiltrierung autoreaktiver T-Zellen.** Die Präsenz aktivierter, autoreaktiver T-Zellen in Tränen- oder Speicheldrüsen ist ein pathognomonisches Merkmal des Sjögren-Syndroms beim Menschen, und der *Fokus-Score* (die Anzahl mononukleärer Zellinfiltrate, die mindestens 50 inflammatorische Zellen in einem Drüsenabschnitt von 4 mm<sup>2</sup> enthalten) aus einer kleineren Biopsie der Speicheldrüse ist ein integrierter Bestandteil der aktuellen, internationalen Klassifizierungskriterien für Sjögren-Syndrom [565,571]. Weitere Komponenten sind die Präsenz von Serumantikörpern sowie subjektive und objektive Evidenz für KCS und trockenen Mund. Es können mehrere Sjögren-Syndrom-Modelle in diese Klassifikation aufgenommen werden, die eine T-Zelleninfiltration der Drüse zeigen, einschließlich der NOD-, CD25-KO-, Räude-, MRL/lpr-, AIRE-KO-, IL-12 transgenen (Tg), C57BL/6.NOD-Aec1Aec2 (Aec)-, NOD.B10.H2<sup>b</sup>- und Osteopontin (OPN)-Tg-Mäuse.

Bei MRL/lpr-Mäusen führt eine genetisch bestimmte Disruption des Fas-Fas-Ligandensystems zur Gewebeeinfiltration durch

Lymphozyten, bei denen es sich hauptsächlich um T-Zellen handelt [572,573,1205]. Interessanterweise beeinflusst der genetische Hintergrund, vor dem die Fas-Mutation auftritt, den Phänotyp und die Schwere der Dakryoadenitis und des Becherzellenverlusts [574–576]. Die zwei am häufigsten verwendeten, durch Inzucht erzeugten Labormausstämme zeigen einen deutlichen Trend in ihrer Fähigkeit, eine Immunantwort aufzubauen: BALB/c-Mäuse und C57BL/6-Mäuse sind Th2- bzw. Th1-verzerrt [577]. Dies könnte erklären, warum die Becherzellendichte bei der MRL/lpr-Mutation durch den genetischen Hintergrund beeinflusst wird, wobei die Becherzellendichte im Vergleich zu ihren jeweiligen Kontrollen des Wildtyps bei der MRL/lpr.BALB/c-Maus höher und der MRL.lpr.B6-Maus niedriger ist [578,579].

Sowohl bei den CD25-KO- als auch bei den Autoimmun-Regulator-Gen (AIRE)-KO-Mäusen führt eine gestörte Immuntoleranz zu einer beschleunigten Zerstörung der Tränendrüse mit einem schweren Phänotyp [580–582]. CD25 ist die IL-2-Rezeptor- $\alpha$ -Kette, der bindende Arm des heterotrimeren IL-2-Rezeptors [583–585]. Er wird auf T- und B-Zellen exprimiert. Wenn er nicht vorhanden ist, wie dies bei den CD25-Knockout (CD25-KO)-Mäusen der Fall ist, können die Zellen nicht auf IL-2 reagieren, es werden keine regulatorischen T-Zellen generiert, es entstehen spontane autoreaktive T-Zellen, und diese Zellen durchlaufen keinen durch Aktivierung induzierten Zelltod [586,587]. CD25-KO-Mäuse entwickeln altersabhängige Dakryoadenitis und systemische Autoimmunität. Dies geht auch mit Färbung der Augenoberfläche, Becherzellenverlust und dem Auftreten von M3R-Antikörpern einher [536,582].

AIRE-KO-Mäuse entwickeln eine CD4<sup>+</sup>-T-Zellen-vermittelte Autoimmunerkrankung, die auf mehrere Organe abzielt, unter anderem auf die Tränendrüse und die Augenoberfläche [588]. Die AIRE-KO-Maus unter NOD-Bedingungen zeigt eine schwere Plattenepithelmetaplasie und Augenoberflächenfärbung, die der Stufe der Tränendrüseninfiltration entspricht [588,589], während dieselbe Mutation unter C57BL/6-Bedingungen im Vergleich zu den Kontrollen des Wildtyps zu signifikantem Becherzellenverlust und CD4<sup>+</sup>-T-Zelleninfiltration der Kornea und des periglandulären Bereichs der Meibom-Drüsen führt [590].

Zwar gibt es Evidenz für eine Beteiligung von Th17<sup>+</sup>-Zellen bei der Disruption der kornealen Barriere und der Sialadenitis [516,526,591], aber ihre Rolle bei der Dakryoadenitis ist noch umstritten. Bei einigen Autoimmunmodellen, die zur Untersuchung der Dakryoadenitis verwendet wurden, wurde die Tränendrüse sowohl von Th1<sup>+</sup>- als auch Th17<sup>+</sup>-T-Zellen infiltriert, was eine Bestimmung der individuellen Beiträge von Th-Subsets (TSP-1-KO, MRL/lpr, CD25-KO und Aec) schwierig macht. Dakryoadenitis bei CD25-IL-17D-KO trat zu einem früheren Zeitpunkt auf und war umfassender als im parental CD25-KO-Stamm und ging mit größerer IFN- $\gamma$ -Rezeptorexpression und höheren Caspase-3-Konzentrationen einher [562], was darauf hindeutet, dass IL-17A möglicherweise eine geringfügige Rolle beim IFN- $\gamma$ -Ausgleich spielt. Th-1<sup>+</sup>-Zellen wurden bei Colitis, experimenteller Autoimmun-Uveitis und Sjögren-Syndrom impliziert [475,478,532,562,582,592]. Sowohl NOD. IFN- $\gamma$ -KO- als auch NOD. IFN- $\gamma$ -Rezeptor-KO-Mäuse zeigen eine verbesserte Sialadenitis [593], und dasselbe Muster wird bei CD25-IFN- $\gamma$ -Dko-Mäusen beobachtet [536,562]. Diese Erkenntnisse weisen darauf hin, dass eine Mischung von sowohl Th1- als auch Th17-Zellen an der Dakryoadenitis beteiligt sind, und dass Therapien, die auf mehr

als ein Subset abzielen, möglicherweise beim Sjögren-Syndrom vorteilhaft sein können.

**7.2.3.2. Disruptive TGF- $\beta$ -Signalgebung.** TGF- $\beta$  ist ein pleiotropes Zytokin, das an der epithelialen Differenzierung, Mitose, Zellmotilität, Fibrose und Immunregulierung beteiligt ist [308]. TGF- $\beta$  ist von entscheidender Wichtigkeit für die Induktion von CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>-Zellen, den regulatorischen T-Zellen, die daran beteiligt sind, andere Zellen unter Kontrolle zu halten [594], aber auch von T-Helfer(Th)-17-Zellen [595]. TGF- $\beta$ -Null-Mäuse unterliegen massiver systemischer Autoimmunität, die kurz nach der Geburt beide exokrinen Drüsen befällt, was es schwierig macht, die spezifische Rolle von TGF- $\beta$  beim Sjögren-Syndrom zu untersuchen [596–598]. Zwei weitere Tiermodelle mit disruptiver TGF- $\beta$ -Signalgebung entwickeln mit fortschreitendem Alter ein moderates Sjögren-Syndrom: das Thrombospondin-1-Knockout(TSP-1-KO)-Modell und das dominant negative TGF- $\beta$ -Rezeptor-Typ-II (DN TGFBR2)-Modell. Diese Mäuse entwickeln Dakryoadenitis und Manifestationen der Augenoberfläche, die mit Th1- und Th17-Reaktionen einhergehen [563,599]. TSP-1-KO-Mäuse haben auch Anti-SSA- und Anti-SSB-Serumantikörper [563]. Die doppelte Rolle von TGF- $\beta$  bei der Förderung von TRegs (antiinflammatorisch) und der Erzeugung von Th17<sup>+</sup>-Zellen kann weiter gewürdigt werden, indem die DN TGFBR2- und die TSP1-KO-Mäuse einer DES-Exposition unterworfen werden, bei dem Th17-Zellen an der Disruption der kornealen Barriere beteiligt sind [529]. Interessanterweise zeigen beide Modelle eine paradoxe Verbesserung der kornealen Färbung im Vergleich zu ihrer eigenen Baseline vor der DES-Exposition [105,600]. Es wurde nachgewiesen, dass diese Wirkung bei den TSP-1-KO-Mäusen DC-vermittelt ist [600]. Es wurde festgestellt, dass Polymorphismus im Thrombospondin-Gen mit postrefraktärer operationsbezogener, chronischer Augenoberflächenentzündung bei US-Armeesoldaten im aktiven Dienst assoziiert ist [601]. Es werden weitere Studien benötigt, um die spezifische Rolle von TGF- $\beta$  bei Sjögren-Syndrom zu beschreiben.

**7.2.3.3. Drüsenapoptose.** Die Drüsenapoptose ist ein weiteres Kennzeichen von Sjögren-Syndrom und ist in nahezu allen Sjögren-Syndrom-Modellen omnipräsent. Es ist nicht klar, ob es der Immuninfiltration folgt oder dieser vorausgeht, da der Auslöser für Sjögren-Syndrom unbekannt ist. In einem kürzlich veröffentlichten Manuskript wurde berichtet, dass I $\kappa$ B- $\zeta$ -defiziente lakrimale Epithelzellen eine verstärkte Apoptose zeigten, die der Lymphozyteninfiltration vorausging, und damit wurde nachgewiesen, dass Epithelzelltod ein auslösender Faktor des Sjögren-Syndroms sein könnte [602]. Es gibt Evidenz, die darauf hinweist, dass Immunzellen an der Desorganisation und Apoptose in exokrinen Drüsen teilhaben.

IFN- $\gamma$  war beteiligt am Epithelzellverlust durch Induktion von Apoptose in Zelllinien der Speicheldrüsen [603,604]. Wie zuvor bereits erwähnt, haben NOD.IFN- $\gamma$ -KO- und NOD.IFN- $\gamma$ -Rezeptor-KO-Mäuse einen niedrigeren Speicheldrüsen-Focus-Score und eine geringere Caspase-3-Aktivität im Vergleich zu dem NOD-Stamm [593], und CD25-IFN- $\gamma$ -Doppel-KO-Mäuse haben signifikant niedrigere Caspase-3-Konzentrationen und einen geringeren Grad der Dakryoadenitis verglichen mit dem parentalen CD25<sup>+</sup>-KO-Stamm [536,562]. Konjunktivale Becherzellen in Ratten- und Menschenzellkulturen sind überaus empfindlich gegenüber IFN- $\gamma$ , und bereits winzige Konzentrationen lösen die Apoptose aus [605]. In einem weiteren Bericht blockierte IFN- $\gamma$  die durch Carbachol ausgelöste Sekretion von Glykokonjugat mit hohem

Molekulargewicht und reduzierte die Becherzellenproliferation [606]. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass dies den Becherzellenverlust und die Muzindefizienz bei der KCS erklären könnte. Diese Studien wiesen darauf hin, dass das Drüsenepithel sowohl als Initiator als auch als Bystander-Ziel infiltrierender Lymphozyten fungieren kann.

**7.2.3.4. B-Zellen und Immunisierungsmodelle.** Das SS geht mit polyklonaler B-Zellenaktivität einher, und Patienten mit Sjögren-Syndrom haben ein erhöhtes Lymphomrisiko im Vergleich zur allgemeinen Bevölkerung [607–609]. Erhöhte Serumautoantikörper (Anti-SSA/Ro 52 kDa, Anti-SSA/Ro 60 kDa, Anti-SSB/La, rheumatoider Faktor, Anti- $\alpha$ -Fodrin, antimuskarinischer Rezeptor Typ 3 (M3R)) wurden als Diagnosekriterien verwendet [565,610], aber einige SS-Patienten sind Serum-Autoantikörper-negativ.

BAFF (B-Zellen-aktivierender Faktor) ist ein Mitglied der DNF-Superfamilie und reguliert das Überleben von B-Zellen. BAFF-Tg-Mäuse, die im jüngeren Alter zumeist als ein SLE-Modell verwendet werden, entwickeln mit dem Alter Leukozyteninfiltration submandibulärer Drüsen [611]. Act-1 ist ein negativer Regulator von BAFF und CD40<sup>+</sup>. Act-1tg- und Act-1/-Mäuse entwickeln sowohl Tränendrüsen- als auch Speicherdrüseninfiltration durch B- und T-Zellen (Speicheldrüsen mehr als Tränendrüse) und besitzen Anti-SSA- und Anti-SSB-Antikörper [612]. NOD-modifizierte Mäuse mit gestörter IgG1-Sekretion haben auch einen verbesserten Speichelphänotyp (NOD.IL4-KO; NOD.B10.H2b.IL-4 ko; NOD. NOD.B10-H2b.C-Stat6 ko) [613,614]. Jüngste Studien mit M3R-KO-Mäusen, die mit M3R-Peptiden immunisiert wurden, haben gezeigt, dass M3R-autoreaktive T-Zellen Sialadenitis auf immundefiziente Mäuse übertragen können [615–617]. Sie haben auch gezeigt, dass, ähnlich wie bei NOD- und CD25<sup>+</sup>-KO-Modellen, IFN- $\gamma$  für die Auslösung der Drüsenapoptose entscheidend ist, da adoptive Übertragungsempfänger von M3R-Peptid-immunisierten M3R-IFN- $\gamma$ -Dko-Zellen weder einen signifikanten Entzündungs-Score hatten noch Apoptose zeigten [616].

**7.2.3.5. Auswirkung von DES auf Autoimmunantworten.** Die Autoimmunantwort von Mäusen auf DES wurde in einigen Fällen untersucht. Yoon und Kollegen haben eine verstärkte konjunktivale Infiltration und korneale Färbung nachgewiesen, wenn 16 Wochen alte NOD.B10.H2b<sup>b</sup>-Mäuse einer DES-Exposition unterworfen wurden [618]. Nach Beendigung der DES-Exposition zeigten NOD.B10.H2b<sup>b</sup>-Mäuse eine anhaltend niedrigere Tränenproduktion, einen höheren Becherzellenverlust und mehr CD4<sup>+</sup>-T-Zellen als C57BL/6-Mäuse, was darauf hinweist, dass DES bei einem genetisch anfälligen Stamm längerfristige Auswirkungen hatte [619]. Bei einigen anderen Stämmen wie DN TGFBR2 und TSP1-KO verbesserten sich die Werte der kornealen Färbung und der Becherzellen nach der DES-Exposition [600]. Die Wechselwirkung zwischen genetischer Anfälligkeit und DES verdient eine weitere Untersuchung.

### 7.3. Tiermodelle von Meibom-Drüsen-Dysfunktion

Idealerweise zeigt ein Tiermodell von MGD beim Menschen sowohl die menschlichen MGD-Anzeichen als auch die Tränenfilm- und Augenoberflächen-Folgeerscheinungen, die mit MGD und EDE assoziiert sind. Zu den menschlichen MGD-Anzeichen gehören unter anderem die Obstruktion und Metaplasie der

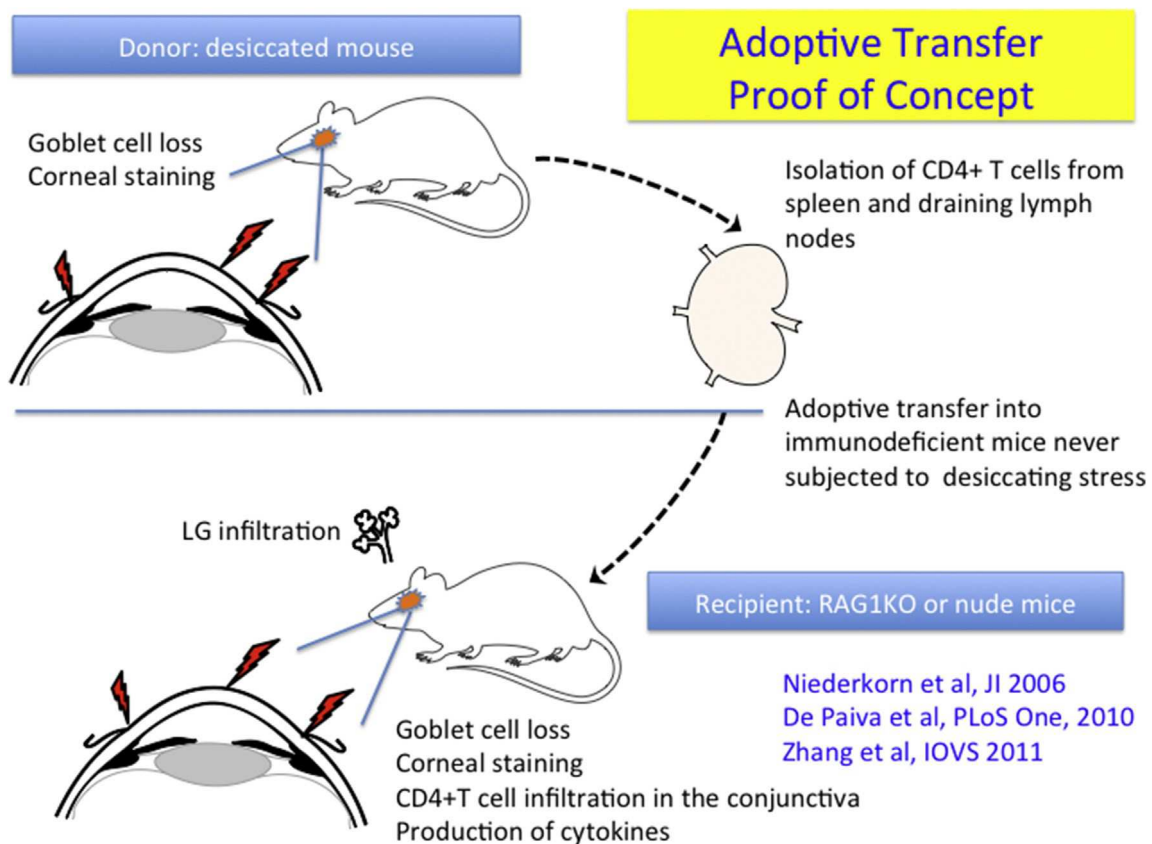
Meibom-Drüsenöffnungen (ein Zustand, der als ein atypisches Wachstum und die Keratinisierung von Ductusepithel definiert ist [1219]), eine reduzierte Qualität und ein verändertes Lipidprofil des Meibums, die zystische Dilatation des zentralen Ductus sowie Azinusatrophie und -verlust [36,494,495,620–627,1206]. Insbesondere ist der Nachweis der Hyperkeratinisierung des Meibom-Drüsen-Ausgangs wichtig, da dies ein prominentes Merkmal der menschlichen MGD ist [36,494,620–622,624,627]. Zusätzlich fördern MGD und die sich daraus ergebende Meibuminsuffizienz die Verdunstung des Tränenfilms, Hyperosmolarität und Instabilität sowie Augenoberflächenbelastung und führen zu verstärkter Reibung, Entzündung, Augenschäden (z. B. korneale Plattenepithelmetaplasie, Verlust der kornealen Mikrovilli, Glykokalyx-Disruption) und Sehbeeinträchtigung [1,36,190,196,549,628–632,1207]. Meibum bei KCS beim Menschen enthält auch Zytokeratin-positive Einschlüsse [183].

Kaninchenmodellen ist eine abnormale Dilatation der Kanäle, die mit keratinisierten Materialien gefüllte Lumen aufweisen.

Ähnlich wurden auch Rattenmodelle der MGD entdeckt oder entwickelt. Diese sind entweder natürlich oder wurden durch transgene oder Knockout-Technologien, Mutationen, Immunisierung, pharmazeutische Behandlung, Exposition gegenüber Austrocknungsstress oder Veränderungen der Ernährung erzeugt (Tabelle 9). Die sich daraus ergebenden Stämme können eine Vielfalt von Phänotypen aufweisen, wie eine Ductus-Hyperkeratinisierung, Meibom-Drüsenöffnungs-Obstruktion, Meibum und verdeckte Kanäle, die keratinisiertes Material enthalten, und Azinuszellatrophie, -aplasie und -verlust (für Referenzen siehe Tabelle 9).

Die folgenden drei Stämme zeigen viele dieser Aspekte.

Das erste Modell wurde bei haarlosen HR-1-Mäusen induziert, indem sie eine spezielle Diät mit eingeschränktem Lipidgehalt (HR-



**Abb. 10.** Schematische Abbildung adoptiver Übertragungsexperimente. Mäuse, die einer Exposition gegenüber Austrocknungsstress (DES) unterzogen wurden, wiesen Becherzellverlust, korneale Färbung und CD4<sup>+</sup>-T-Zelleninfiltration in die Konjunktiva auf. CD4<sup>+</sup>-T-Zellen wurden mit Hilfe von magnetischen Perlen aus der Milz und zervikalen drainierenden Lymphknoten isoliert und adaptiv an immundefiziente Mäuse übertragen, die niemals DES ausgesetzt waren. Empfänger der Adoptivübertragung von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen entwickelten KCS mit Tränenröhreninfiltration, kornealer Färbung, Becherzellenverlust, CD4<sup>+</sup>-T-Zelleninfiltration in die Konjunktiva und Produktion von Zytokinen und Matrix-Metalloproteinasen, was den bei den Spendermäusen beobachteten KCS-Phänotyp rekapitulierte.

Bis heute wurde eine Reihe von Tiermodellen der MGD identifiziert oder erstellt, die zumindest teilweise die menschliche MGD nachahmen. Modelle mit Affen [633] und Kaninchen [39,634–636,1208], die die Hyperkeratinisierung des terminalen Ductusepithels der Meibom-Drüse und die Meibom-Drüsen-Öffnungsobstruktion darstellen, wurden durch Vergiftung mit polychloriertem Biphenyl [633], systemischer Exposition gegenüber Isotretinoin [1208] und der topischen Verabreichung von Epinephrin induziert [39,634–636]. Ein häufig vorkommender histopathologischer Befund bei diesen Affen- und

AD) erhielten [637]. Dieses Modell wurde entwickelt, um Verständnis für die Pathophysiologie der MGD aufzubauen. Nachdem die Mäuse 4 Wochen lang dieser Diät ausgesetzt waren, entwickelten sie eine Hyperkeratinisierung des Ductusepithels der Meibom-Drüse, Verlust von Meibom-Drüsen-Azini und ultimativ eine Meibom-Drüsenatrophie. Die klinische Untersuchung dieser Mäuse zeigte eine deutliche Verstopfung (d. h. Obstruktion) der Meibom-Drüsenöffnungen, Telangiektasie und ein Zahnpastaartiges Meibum im Vergleich zu dem eines gesunden Augenlids. Von besonderem Interesse war dabei, dass die topische

Azithromycin-Behandlung in diesem Mausmodell die Anzahl der verstopften Öffnungen, die Keratinisierung des Meibom-Drüsen-Ductusepithels, die Dicke des Meibom-Drüsenductus und die Meibom-Drüsenatrophie signifikant verringerte [637]. Azithromycin wiederum ist dafür bekannt, eine Epithelzellendifferenzierung der menschlichen Meibom-Drüse zu induzieren [53,638–640], und ist eine sehr häufig angewendete Therapie für MGD beim Menschen [641].

Ein zweites Modell wird durch eine Behandlung mit Isotretinoin ausgelöst [642], einem bekannten und signifikanten Risikofaktor für die Entwicklung von MGD beim Menschen [643–652]. Die Behandlung von Ratten mit Isotretinoin über einen Zeitraum von 3 Monaten führte zur Keratinisierung und Verdickung des Ductusepithels der Meibom-Drüsen, einer Verringerung in der Quantität und Größe der Azini und vielen degenerierten Azini und Azinuszellenzylindern in den Meibom-Drüsenkanälen. Diese durch Isotretinoin hervorgerufenen Wirkungen könnten durch eine Behandlung mit Dehydroepiandrosteron gehemmt werden, was laut der Forscher vermutlich durch eine Konvertierung in Androgene erfolgt [642]. Von topischen Androgenen wiederum wurde berichtet, dass sie bei der Therapie der MGD des Menschen wirksam sind [653] (siehe den Bericht des Unterausschusses für Sexus, Geschlecht und Hormone).

Ein drittes Modell umfasste die Interferenz mit Wachstumshormonaktivität (growth hormone, GH) [57]. Dazu gehörten Rezeptor(R)-Antagonist(A)-transgene Mäuse (GHA) mit reduziertem GH sowie GHR-KO-Mäuse ohne GH-Aktivität. Viele der GHA- und GHR-KO-Meibom-Drüsen wiesen hyperkeratinisierte und verdickte Meibom-Drüsenkanäle auf, die verhornte Materialien enthielten, sekretorische, in Ductuswände eingeführte Azini und schlecht differenzierte Azini. Die GHR-KO- und GHA-Mäuse besitzen wesentlich kleinere Meibom-Drüsen als die Kontrollen des Wildtyps [57]. Da die GH-Konzentrationen mit fortschreitendem Alter abnehmen, ist es möglich, dass diese Abnahme zu der Entwicklung altersbedingter MGD beiträgt [1216].

Vor kurzem haben Jester et al. die Hypothese aufgestellt, dass das primäre Ziel bei der MGD die Meibom-Drüse und nicht die Ductushyperkeratinisierung ist [654]. Diese Hypothese basiert auf Studien mit altersbezogenen Mausmodellen [655] und Mausmodellen für evaporativen Stress [656]. Sie stellen zur Diskussion, dass die Schlüsselemente der MGD die Drüsenatrophie durch Verlust von Meibozytenprogenitoren ist. Jester et al. berichteten zudem, dass Austrocknungsstress bei Mäusen zu einer Phase der Azinushyperproliferation führt, bei der eine Veränderung des Verhältnisses von Protein zu Lipiden einen Anstieg der Lipidviskosität zur Folge hat. Laut dieser Ansicht enthalten Epithelpfropfen in den Drüsenkanälen keine voll ausgereiften Keratine [654]. Obata und Kollegen haben auch eine Korrelation zwischen Epithelzellverlust der Meibom-Drüse und dem Altern festgestellt [495,624]. Im Gegensatz dazu haben andere Forscher mit MGD beim Menschen assoziierte Keratinisierung, Meibom-Drüsenöffnungs-Obstruktion und -Metaplasie sowohl beim Altern [627] als auch im Allgemeinen identifiziert [36,494,620–622,624]. Zudem wurden auch große Mengen nicht lipider, proteinartiger Einschlüsse, die sich durch Zytokeratine anfärben lassen, im abnormalen Meibum von KCS-Patienten identifiziert [183]. Diese Einschlüsse können möglicherweise die keratinisierten Materialien darstellen, die in dem trüben Meibum älterer Menschen

aufzutreten [657].

Einige der in Tabelle 9 aufgeführten Mausmodelle können auch für Studien zu evaporativer KCS und entsprechenden Folgeerscheinungen an der Augenoberfläche nützlich sein. Im Einklang mit diesem Vorschlag stehen die Beobachtungen, dass die Abwesenheit von MG bei X-chromosomaler anhidrotischer/hypohidrotischer ektodermaler Dysplasie mit verstärkter Tränenverdunstung, spärlichen und verkürzten kornealen Mikrovilli (Hinweis: was die Glykokalyx stören würde [658]), kornealen Defekten (z. B. Neovaskularisation, Keratinisierung und Plattenepithelmetaplasie) und Entzündung der Augenoberfläche assoziiert sind [1145,1215]. Zudem ist MG-Atrophie bei Acyl-CoA:Cholesterin-Acyltransferase-1-Knockout-Mäusen mit Erosionen der Kornea assoziiert [660].

Zusätzliche Mausmodelle, die ausgeprägte Veränderungen der Struktur und Funktion der Talgdrüse aufzeigen (Tabelle 9), können ebenfalls als MGD-Modelle dienen. Allerdings müssen noch Studien durchgeführt werden, um diese Möglichkeiten zu untersuchen.

#### 7.4. Das Mikrobiom der Augenoberfläche

Es gibt Evidenz, dass das Mikrobiom des Darms und der Augenoberfläche das Auftreten von KCS beeinflussen kann. Die Augenoberfläche wird beständig der Umwelt ausgesetzt, ist aber im Vergleich zu den Lidkanten eine relativ sterile Stelle basierend auf Studien, bei denen konjunktivale Abstriche verwendet wurden [661,662]. Die Mikrobiota der Augenoberfläche werden durch zahlreiche, von den Tränenrüben, Becherzellen und der Konjunktiva produzierte, antimikrobielle Faktoren reguliert, die in die Tränen sezerniert werden. Dazu gehören zum Beispiel Laktoferrin, Lysozym und die Defensine  $\alpha$  und  $\beta$  und IgA [459–461,663]. In jüngster Zeit bestand großes Interesse an den Wechselwirkungen zwischen dem Wirt und den Mikrobiota.

Der Begriff Mikrobiota bezieht sich auf die Mikrobengemeinschaft, die eine bestimmte Stelle bevölkern, und das Mikrobiom bezieht sich auf ihre kollektiven Genome. Zu den Techniken, die zur Beurteilung des Mikrobioms verwendet werden, gehören herkömmliche, mikrobielle Kultur- und kultivierungsunabhängige Techniken wie die Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR) und die 16S ribosomale DNA-Amplifikation und -Sequenzierung [664–666]. In der Literatur sind keine deutlichen Aussagen zur Präsenz von Mikrobiota an der Augenoberfläche vorhanden [665,667,668], wobei einige Autoren eine stabile Präsenz finden, die durch Erkrankungen modifiziert werden kann, während andere Autoren darauf hinweisen, dass Mikroorganismen vorübergehend bis zu ihrer Zerstörung durch die Abwehrmechanismen der Augenoberfläche präsent sind. In jüngster Zeit wurde eine Übereinstimmung darüber erzielt, dass die Augenoberfläche eine Umgebung ist, die arm an Bakterien, aber nicht steril ist [665,668].

Die am häufigsten vorkommenden Mikroben von der konjunktivalen Oberfläche, die mit herkömmlichen Kulturtechniken in Kulturen gezüchtet werden, sind Staphylokokken und *Propionibacterium acnes*, während neuere Techniken darauf hinweisen, dass es viel mehr Gattungen zu finden gibt [664,665,668,669]. Abstriche von den Lidkanten liefern ähnliche Spezies, aber in höheren Zahlen von koloniebildenden Einheiten [667].

Das Verständnis der Rolle des Mikrobioms bei der KCS ist wichtig, da dies einen potentiellen Behandlungsweg bereitstellen könnte. In einer Studie von Graham et al. wurden die bakteriellen Populationen der hinteren Lidkante und des unteren konjunktivalen Sacks von Patienten mit und ohne KCS unter Verwendung von sowohl konventionellen Kulturen als auch 16S rDNA PCR untersucht [669]. Bei der Verwendung der 16S-rDNA-PCR-Technik wurde eine signifikant größere Anzahl von Bakterien im Vergleich zur konventionellen Kultur entdeckt, die hauptsächlich aus Koagulase-negativen Staphylokokken bestand [669]. Interessanterweise wurden bei der inflammatorischen KCS und an der gesunden Augenoberfläche Bakterien identifiziert, die anderenfalls nur selten mit der Augenoberfläche assoziiert werden (*Rhodococcus erythropolis*, *Klebsiella oxytoca* und die *Erwinia*-Spezies) [669]. Zwischen der Kontrollgruppe und den Gruppen mit mäßiger bis schwerer KCS wurde eine signifikante Differenz der mittleren Bakterienzahl ermittelt, ein Ergebnis, das von anderen unterstützt wird [670]. Zudem stellten die Autoren fest, dass eine reduzierte Becherzellendichte mit einer größeren bakteriellen Präsenz assoziiert war [669]. Eine weitere Studie, in der die okulären, oralen und intestinalen Mikrobiome von Kontrollen und von Patienten mit Sjögren-Syndrom verglichen wurden, wies nach, dass es zwischen den beiden Gruppen keinen Unterschied im okulären Mikrobiom gab [668]. Sowohl bei dem oralen als auch dem Darmmikrobiom wurde eine verringerte Vielfalt bemerkt, und es wurden spezifische Änderungen bei Gattungen beobachtet. Es gab eine relative Verringerung in der Fülle von Bakterioiden, Parabakterioiden, bei dem Fäkalbakterium und der *Prevotella* und eine größere relative Fülle von *Pseudobutyrvibrio*, *Escherichia/Shigella*, *Blautia* und *Streptokokken* bei Patienten mit Sjögren-Syndrom im Vergleich zu Kontrollen. Zudem bestand eine umgekehrte Korrelation zwischen den Augen- und System-Schweregrad-Scores und der mikrobiellen Vielfalt [668].

In einer weiteren Studie wurde von Veränderungen der Augenoberflächen-Mikrobiota berichtet, die in den frühen Stadien

der Sjögren-Syndrom-artigen Erkrankung bei Transpondin-Knockout-Mäusen (TSP-1-KO) auftreten, was zu der Empfehlung führte, dass von TSP-1 abgeleitete Peptide möglicherweise ein Mittel zur Reduzierung der kommensalen Flora und der sich daraus ergebenden Entzündung sind [671].

Werkzeuge für die Untersuchung der Rolle des Mikrobioms bei der Homöostase und in Krankheitsstadien umfassen die Verwendung keimfreier Mäuse, oder die Mäuse müssen einem Cocktail von Antibiotika im Trinkwasser oder durch orale Sondenernährung unterzogen werden. Die Antibiotikabehandlung löst Veränderungen der Bakteriengemeinde aus, die zu einem dysbiotischen Zustand führen. Jüngst wurde berichtet, dass Mäuse, die einer DES-Exposition unterzogen werden und vor der DES-Exposition 14 Tage lang orale Antibiotika tranken, einen größeren Becherzellenverlust, größere T-Zelleninfiltration und eine stärkere korneale Färbung aufwiesen als Mäuse, die demselben Protokoll unterzogen wurden, aber normales Wasser tranken [668]. 16S-Sequenzierung des Stuhls dieser Mäuse wies nach einer Antibiotikaverabreichung plus DES-Exposition über einen Zeitraum von 10 Tagen auf eine Reduzierung im *Clostridium* und eine Erhöhung bei Enterobakterien, *Escherichia/Shigella* und *Pseudomonas* hin.

Eine keimfreie Umgebung ist der Augenhomöostase bei Mäusen sehr abträglich, da sie nicht autoimmune bzw. genetisch prädisponierte Mäuse für die Sjögren-Syndrom-ähnliche Erkrankung anfällig macht bzw. diese Erkrankung verschlimmert [668,672]. Nicht autoimmune C57BL/6-Mäuse, die unter keimfreien Bedingungen aufgezogen wurden, weisen Sjögren-Syndrom-ähnliche Merkmale auf, einschließlich Dakryoadenitis und niedrigerer EGF-Konzentration in der Tränenflüssigkeit. Dies ging mit kornealer Färbung, Becherzellenverlust und pathogener CD4<sup>+</sup>-T-Zelleninfiltration einher [672].

Tabelle 8

Mausmodelle des Sjögren-Syndroms.

Alter bei Ausbruch	Modell	Geschlechtsprädisposition	Hauptmechanismus	Hauptsächlich betroffene Organe	Literaturangaben
0-3 Wochen	TGF-β-KO	♀ = ♂	Gendelektion von TGF-β	Tödliche systemische Autoimmunität, einschließlich Tränendrüse	(Shull et al., 1992, McCartney- Francis et al., 1997) [596,1112]
	Räude	♀ = ♂	Deletion in der Forkhead-Domäne von Foxp3	Tödliche systemische Autoimmunität, einschließlich Tränendrüse	(Brunkow et al., 2001, Sharma et al., 2006) [1113,1114]
4 Wochen	CD25-KO	♀ = ♂	Mangel an TRegs; autoreaktive T-Zellen	Tränendrüse; SMG; Dickdarm; Augenoberfläche	(Sharma et al., 2006, de Paiva et al., 2010, Pelegrino et al., 2012, Rahimy et al., 2010) [536,581,1114,1115]
	MRL.lpr	♀	Autoreaktive T-Zellen; disruptives Fas-Fas-Ligandensystem	Tränendrüse; SMG; Augenoberfläche	(Jabs and Prendergast, 1991a, Jabs and Prendergast, 1991b, Toda et al., 1999) [556,574,1116]
	AIRE	♀	Defekt in der negativen Auswahl organspezifischer T-Zellen	Tränendrüse; Augenoberfläche	(Yeh et al., 2009, Li et al., 2008, Chen et al., 2010) [589,590,1117]
8 Wochen	IL-12 Tg	♀ = ♂	Transgene Mäuse mit verstärkter Expression von IL-12 in der Schilddrüse	SMG	(Vosters et al., 2009) [1118]
	NFKbiz-KO	♀ = ♂	Epitheliale Apoptose vor der Lymphozyteninfiltration	Tränendrüse	(Okuma et al., 2013) [602]
12 Wochen	C57BL/6.NOD -Aec1Aec2	♀ ?	Übertragung von 2 autoreaktiven Loci von	Tränendrüse; SMG; Augenoberfläche	(Cha et al., 2002, Robinson et al., 1998, You et al., 2015,



	TSP1-KO	?	NOD zu nicht autoimmunem C57BL/6; schwächerer SS-Phänotyp als parentale NOD Mangel an autologer Aktivierung von TGF-β; autoreaktive T-Zellen	Tränenrüse; Augenoberfläche	Bulosan et al., 2008, Cha et al., 2004) [593,1119-1122]
	NOD	♀ (S); ♂ (D)	Inzuchtstamm, der autoreaktive T-Zellen entwickelt; ein Defekt bei den TRegs ist umstritten	SMG; Tränenrüse; Bauchspeicheldrüse	(Turpie et al., 2009, Contreras-Ruiz et al., 2013, Gandhi et al., 2013) [563,599,1123]
	NHE8-KO	♀ = ♂	NHE sind eine Gruppe von Membranproteinen, die extrazelluläres Na <sup>+</sup> gegen intrazelluläres H <sup>+</sup> austauschen	Tränenrüse; Augenoberfläche	(Tsubota et al., 2001, Lieberman et al., 2015, da Costa et al., 2006, D'Alise et al., 2008, Skarstein et al., 1995) [1124-1128]
14 Wochen	DN TGFβRII	♀ = ♂	Autoreaktive T-Zellen aufgrund disruptiver TGF-β-Signalgebung unter T-Zellen-Promoter	Tränenrüse; Augenoberfläche	(Xu et al., 2015) [1129]
16 Wochen	NOD.B10.H2b	♂	Ersatz des NOD-MHC-I-Ag7Idd1-Diabetesanfälligkeits-Lokus durch den MHC-I-Ab-Lokus; schwächerer SS-Phänotyp als parentale NOD bei jungen Mäusen.	Tränenrüse; SMG; Augenoberfläche	(de Paiva et al., 2011) [1130]
	OPN-Tg	♀ ?	Verstärkte Expression von Osteopontin	SMG	(Yoon et al., 2008, Yamachika et al., 1998, Robinson et al., 1998, Coursey et al., 2015) [564,618,1120,1131]
3 Monate	Tet-mev1-bedingtes Knockout	♂	Erhöhte mitochondriale oxidative Belastung	Tränenrüse; Augenoberfläche	(Husain-Krautter et al., 2015) [1132]
4 Monate	Neurturin-KO	♀ = ♂	Fehlerhafte parasymphatische Innervation ihrer Tränenrüsen	Tränenrüse; Augenoberfläche	(Uchino et al., 2012) [770]
	Act1.CD40 D-KO	?	Deletion des negativen Regulators für das Überleben von B-Zellen	SMG > Tränenrüse; Haut um die Augen herum	(Song et al., 2003) [1133]
5 Monate	Ar-KO	Keine	Östrogenmangel aufgrund von Knockout der Aromatase (wandelt Androgene in Östrogene um)	Keine Entzündung in Tränenrüse oder Meibom-Drüse; erhöhtes Tränenvolumen bei Männchen, nicht bei Weibchen, im Vergleich zu Kontrollen des Wildtyps	(Qian et al., 2008) [612]
6 Monate	NZB/NZW F1	♀	Hybrider Inzuchtstamm, autoreaktive T-Zellen	Tränenrüse; Augenoberfläche	(Rahimi Darabad et al., 2014, Darabad et al., 2013) [691,692]
	Ar-KO	♀	Östrogenmangel aufgrund von Knockout der Aromatase	SMG	(Kotzin and Palmer, 1988, Gilbard et al., 1987) [1134,1135]
9 Monate	C57BL/6	♀ = ♂	Unbekannt; weist Ansammlung autoreaktiver T-Zellen auf	Tränenrüse; Augenoberfläche	(Iwasa et al., 2015, Ishimaru et al., 2003) [714,1136]
11,5 Monate	SOD1-KO	♂	Knockout der Antioxidantabwehr (Superoxiddismutase)	Tränenrüse; Augenoberfläche, MGD	(McClellan et al., 2014) [1137]
14 Monate	BAFF tg	♀ = ♂	Ansammlung von B-Zellen	SMG	(Kojima et al., 2012) (Ibrahim et al., 2014) [1138,1139]
12–17 Monate	Ar-KO	♀ = ♂	Östrogenmangel aufgrund von Knockout der Aromatase	SMG	(Groom et al., 2002) [611] (Shim et al., 2004) [1140]

Abkürzungen: ♀ = weiblich, ♂ = männlich, S = Sialadenitis, D = Dakryoadenitis.

Andererseits können keimfreie CD25-KO-Mäuse einen vorzeitigen Ausbruch der Dakryoadenitis und größere Zahlen von CD4<sup>+</sup>IFN-γ<sup>+</sup>-Zellen aufweisen, die die Tränenrüsen von RAG1-KO-Empfängern infiltrieren. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass von kommensalen Bakterien und/oder ihren Metaboliten abgegebene Signale die Augengesundheit verändern können.

### 7.5. Zelluläre Modelle von trockenem Auge *in vitro*

Zellkulturen der Augenoberfläche wurden für die Untersuchung der Rollen mehrerer Faktoren und Signalwege verwendet, die an der Pathophysiologie und der möglichen Behandlung von KCS beteiligt sind. Es wurde auch berichtet, dass mehrere solcher Kulturen *in vitro* als KCS-Modelle dienen.

Drei KCS-Modelle verwenden die Kornea. Bei einem Modell werden Korneakulturen von Kaninchen mit experimentellen

Zeiträumen von bis zu 21 Tagen verwendet [673]. Studien mit diesem Modell verwenden optische Kohärenztomografie zur Überwachung der Auswirkungen von DES, wobei der Schwerpunkt auf Veränderungen der Dicke der Korneaschicht und der Streuungseigenschaften des Stromas lag [673]. Ein weiteres *in vitro* KCS-Modell verwendet menschliches, rekonstruiertes Korneaepithel, das 24 Stunden und bis zu 72 Stunden lang in einer kontrollierten Umgebung (relative Luftfeuchtigkeit von < 40 % und Temperatur von 40 °C) gehalten wurde [674]. Die Kulturbedingungen sind kontrolliert, um die KCS nachzuahmen und somit eine Identifikation von Biomarkern zuzulassen, die für Korneaschäden und das Ansprechen auf eine Behandlung prädiktiv sein können. Ein drittes KCS-Modell verwendet menschliches rekonstruiertes Korneaepithel zur Beurteilung der Auswirkungen schwerer osmotischer Belastung und der assoziierten Behandlung auf die inflammatorische Signalwegaktivität und die Integrität der

Barriere [675].

Bei einem vierten KCS-Modell werden unsterbliche menschliche Epithelzellen der Meibom-Drüse verwendet [50]. Dieses Modell umfasst die Exposition dieser Zellen *in vitro* gegenüber Isotretinoin [45], einem bekannten Risikofaktor für die Entwicklung von MGD *in vivo* beim Menschen [643–652]. Exposition von Epithelzellen der menschlichen Meibom-Drüse gegenüber Isotretinoin: [a] verändert die Expression von tausenden von Genen, einschließlich einer Hochregulierung von Genen für einige Entzündungsmediatoren (z. B. IL-8 und IL-1 $\beta$ ), Proteasen (z. B. MMP-9), MAPK-Signalgebung, lysische Vesikel, Apoptose und Zelltod, und unterdrückt Gene, die mit der DNA-Replikation, dem Zellzyklus, dem RNA-Transport und den Mitochondrien assoziiert sind; [b] erhöht die Konzentrationen von Pro-IL-1 $\beta$ -, IL-1 $\beta$ - und MMP-9-Proteinen; [c] reduziert die Signalgebung des Zellwachstums und des Überlebensmediators, Phosphoinositid-3-Kinaseprotein-Kinase B; und [d] hemmt die Zellproliferation und induziert Zellatrophie und -tod (z. B. durch Apoptose, Nekrose und/oder Autophagie) [45]. Es ist möglich, dass diese Auswirkungen für die Azinus-Epithelzellendegeneration und -atrophie und für reduzierte und abnormale Sekretionen verantwortlich sind, die nach der Induktion menschlicher MGD durch Isotretinoin *in vivo* auftreten [643–652].

## 8. Erkrankung beim Menschen. Ätiologische Klassifikation der KCS

Es ist immer noch von Nutzen, die KCS unter zwei Hauptgesichtspunkten, dem ADDE und dem EDE, zu betrachten (Tabelle 5).

## 9. Hypovolämes trockenes Auge (ADDE)

Das ADDE lässt sich unterteilen in das trockene Auge bei Sjögren-Syndrom (Sjögren syndrome dry eye, SSDE) und das trockene Auge, das nicht mit Sjögren-Syndrom assoziiert ist (non-Sjögren syndrome dry eye, NSDE).

### 9.1. Sjögren-Syndrom und trockenes Auges bei Sjögren-Syndrom

#### 9.1.1. Einführung

Das Sjögren-Syndrom ist eine chronische Autoimmunstörung, die durch die Immuneinfiltration von exokrinen Drüsen (Exokrinopathie oder Epitheliitis) und systemische Komplikationen aufgrund von Autoantikörperproduktion, Immunkomplexdeposition und Lymphozyteninfiltration vieler Organe gekennzeichnet ist [676] (Tabelle 10). Die Prävalenz des primären Sjögren-Syndroms (pSS) in den USA wurde auf 0,6–1 % geschätzt und betrifft inzwischen 0,4 Millionen bis 3,1 Millionen Erwachsene [677]. Allerdings unterscheidet sich diese Schätzung von der einer anderen Studie, bei der berichtet wurde, dass das Sjögren-Syndrom in den USA weniger als 40.000 Menschen betrifft [678]. Jüngere Daten weisen darauf hin, dass die durchschnittliche jährliche Inzidenz von pSS in einer ärztlich diagnostizierten, populationsbasierten Kohorte in den USA bei 5,8 pro 100.000 Einwohnern liegt [679] und dass die Prävalenz von pSS in einer geographisch gut definierten Population im Bezirk Omstead im US-Bundesstaat Minnesota zwischen 2 und 10 von 10.000 Einwohnern beträgt [680]. Wenn dies auf die Population der USA insgesamt übertragen werden kann, würde diese Schätzung darauf hinweisen, dass zwischen 65.000 und 326.000 Menschen in den USA an pSS

leiden.

Das Sjögren-Syndrom tritt hauptsächlich bei Frauen auf mit einem Verhältnis von Frauen zu Männern von 9:1<sup>557-559, 561</sup>, und es kann zu einer sehr schweren Form der KCS führen [681]. Die Erkrankung kann das Ergebnis einer Reihe aberranter Immunantworten auf umweltbedingte und virale Auslöser sein, die bei genetisch anfälligen Personen auftreten. Die hormonelle Umgebung ist ebenfalls wichtig (siehe den Bericht des Unterausschusses für Sexus, Geschlecht und Hormone). Sie umfasst einen Verlust der Immuntoleranz, die Präsentation von Autoantigenen und die Dysregulation sowohl der angeborenen als auch der adaptiven Immunsysteme [682,683]. Die Tränen- und Speicheldrüsen sind wichtige Ziele der Epitheliitis, was zur Drüsenzerstörung und zu den Schlüsselsymptomen von KCS und Mundtrockenheit (Sicca-Symptome) führt.

In der Vergangenheit wurde das Sjögren-Syndrom als eine eigenständige Erkrankung (primäres Sjögren-Syndrom – pSS), oder als Teil einer systemischen Autoimmunstörung beschrieben (sekundäres Sjögren-Syndrom – sSS), wie beispielsweise bei rheumatoider Arthritis, systemischem Lupus erythematoses (SLE) und Wegener'scher Granulomatose [684]. In jüngerer Zeit hat das American College of Rheumatology empfohlen, dass die Diagnose Sjögren-Syndrom für *alle* Patienten gestellt werden sollte, die die diagnostischen Kriterien des Sjögren-Syndroms erfüllen [565], ohne zwischen der primären und der sekundären Form zu unterscheiden, sondern sie beide als eine Manifestation von Immundysregulation anzuerkennen. Der Unterausschuss erkennt den Wert dieses Ansatzes an, aber die ältere Terminologie wird hier in Relation zu älterer Literatur beibehalten.

Symptome von KCS und Mundtrockenheit sind ein wichtiges Merkmal von Sjögren-Syndrom, die zumindest zum Teil das Ergebnis der Infiltration der Speichel- und Tränenrüsen durch T- und B-Lymphozyten, dendritische Zellen (DZ), Makrophagen und andere mononukleare Zellen sind, was zu einer Gewebedysfunktion oder -zerstörung führt [683]. Beim SSDE werden die Tränenrüsen als primäres Ziel des Immunangriffs angesehen. Dies ist bei dem konjunktivalen Epithel und den Becherzellen, die auch klinisch beteiligt sind, weniger sicher.

Die Anzeichen und Symptome des SSDE sind denen des NSDE ähnlich. Zu den Symptomen der Augen gehören verschwommenes Sehen, Sandgefühl und Augenbeschwerden, und zu den klinischen Anzeichen gehören Tränenfilminstabilität, korneale und konjunktivale Färbung, Becherzellenverlust und Epithelmetaplasie [382,401,685,686]. Allerdings setzt SSDE früher ein, und wenn Populationen von Patienten entweder mit NSDE oder mit SSDE verglichen werden, sind SSDE-Patienten beständig jünger und ihre Erkrankung ist schwerwiegender [610,687], was auf eine schnellere Progression hindeutet. Bei SSDE besteht auch ein höheres Risiko, zu erblinden [688]. Die größere Häufigkeit schwerer MGD bei Patienten mit SSDE im Vergleich zu NSDE trägt zu der Schwere der Erkrankung bei [375].

#### 9.1.2. Hormonelle Einflüsse

SS kommt bei Frauen häufiger vor als bei Männern, und seine Prävalenz steigt bei postmenopausalen Frauen [566,567,689]. Geschlechtsbedingte Unterschiede in der Prävalenz der KCS wurden zumindest teilweise mit den Auswirkungen von Geschlechtssteroiden (z. B. Androgenen und Östrogenen) in Verbindung gebracht. Diese endokrinen Wirkungen werden im

Bericht des Unterausschusses für Sexus, Geschlecht und Hormone eingehend besprochen. Kurz gesagt wirken Geschlechtssteroiden auf Meibom-Drüse, Tränenrüse, Konjunktiva und Kornea. Hormonelle Einflüsse treten höchstwahrscheinlich nach der lokalen, intrakrinen Synthese auf und scheinen hauptsächlich durch nukleäre Rezeptoren und möglicherweise Membranrezeptoren vermittelt zu werden. Geschlechtssteroiden wirken sich auf multiple strukturelle und funktionelle Aspekte der Augenoberfläche und Adnexe aus, einschließlich der Gewebearchitektur, Genexpression, Proteinsynthese, Immunaktivität, Epithelzellendynamik, wässrigen Sekretion, Meibumproduktion, des Schleimausstosßes und der Tränenfilmstabilität. So wurde beispielsweise eine Androgendefizienz mit der Entwicklung und eine Androgenverabreichung mit der Behandlung von Tränenrüsenedzündung (z. B. Sjögren-Syndrom), Meibom-Drüsenedysfunktion (z. B. Sjögren-Syndrom und Alterung), Disruption der kornealen Glykokalyx, Augenoberflächenschädigung, Tränenfilmstabilität und hypervolämer sowie evaporativer KCS in Verbindung gebracht. Im Gegensatz dazu ist die genaue Rolle von Östrogenen in der Physiologie und Pathophysiologie der Augenoberfläche und von Adnexgeweben unklar und in einigen Fällen umstritten. Eine wichtige Erwägung ist, dass eine Reihe von Geschlechtssteroidauswirkungen geschlechtsspezifisch sein kann (d. h. nur Männer oder Frauen betreffend) [36,690–693]. Die Erkennung dieser geschlechtsspezifischen Unterschiede und die Bestimmung ihrer zugrundeliegenden Basis (z. B. Geschlechtssteroidwirkung) sind extrem wichtig. (Eine umfassende Besprechung ist in dem Bericht des Unterausschusses für Sexus, Geschlecht und Hormone enthalten.)

#### 9.1.3. Ätiologie: genetische Anfälligkeit

Genetische Anfälligkeit spielt eine Rolle bei der Ätiologie des Sjögren-Syndroms. Es wurde eine Reihe von Assoziationen zwischen pSS und Genloki oder spezifischen Genen aufgestellt [694]. (Tabelle 11) Ein erhöhtes Risiko für pSS wurde in einer jüngeren Studie von Patienten europäischer Abstammung, die die europäisch-amerikanischen Konsenskriterien erfüllten, mit HLA II, IL-12A, BLK, STAT4, CXCR5 und IRF5 assoziiert [694]. Loci von Interesse sind nicht an allen geographischen Orten identisch, was auf ethnische Differenzen bei der Anfälligkeit hindeutet [695].

Einige der klinischen und immunologischen Ähnlichkeiten zwischen pSS und SLE haben möglicherweise einen genetischen Hintergrund. Eine Reihe von mit Sjögren-Syndrom assoziierten Genpolymorphismen, einschließlich der MHC-II-, STAT4-, IRF5-, BLK- und TNIP1-Gene, ist auch bei SLE und anderen Autoimmunerkrankungen vorhanden. Allerdings wurden die Gene CXCR5 und GTF2I nur bei Sjögren-Syndrom als Risikofaktor bestimmt, und entsprechend sind viele Gene, die mit einem SLE-Risiko assoziiert sind, bei Sjögren-Syndrom nicht zu finden [695].

Burbelo et al. [695] haben zur Diskussion gestellt, dass die mit Sjögren-Syndrom assoziierten Gene über mindestens drei Signalwege zur Immundysregulation führen: 1. *Aktivierung des IFN-Signalwegs*. 2. *Aktivierung der Antikörperproduktion und Clearance-Signalwege der B-Zellfunktion*. 3. *Aktivierung von NF $\kappa$ B-Aktivitätssignalwegen*.

Es wird allgemein vorhergesagt, dass das Vorhandensein eines oder mehrerer genetischer Risikofaktoren betroffene Personen in Bezug auf klinische Manifestationen, den Beginn, die Schwere und

die Progression der Erkrankung beeinflusst. Es ist von Interesse, dass keines der Gene, die ein Risiko mit sich bringen, mit der Drüsenphysiologie oder dem Geschlecht in Verbindung steht. Alle Polymorphismen treten in nicht kodierenden Sequenzen auf und reflektieren eine epigenetische Rolle, die die Genexpression und nicht das Genprodukt bestimmt. Alle Risikogene sind mit der Leistung des Immunsystems verknüpft.

#### 9.1.4. Ätiologie: Virusinfektion

Die Ätiologie des Sjögren-Syndroms bleibt unklar und umfasst multiple Faktoren. Eine der Theorien zur Entstehung des Sjögren-Syndroms ist mit Virusinfektion assoziiert. In der Tat wurde von verschiedenen Assoziationen zwischen Virusinfektion und KCS berichtet, einschließlich des Hep-B-, HLTV1-, HIV- und Epstein-Barr-Virus (EBV). Ein wichtiger Punkt ist, dass zur Diskussion gestellt wurde, dass die Bildung von tertiären oder ektopischen lymphatischen Strukturen (TLS) in Reaktion auf eine Virusinfektion bei genetisch anfälligen Personen eine Stätte für die Autoantikörperproduktion bieten kann [696].

#### 9.1.5. Der Entzündungsprozess bei Sjögren-Syndrom

Unser Verständnis des destruktiven Entzündungsprozesses, der in den Tränenrüssen von Patienten mit Sjögren-Syndrom auftritt, wird teilweise aus der Studie von kleinen Biopsien der Lippenspeicheldrüsen hergeleitet. Die typische pathologische Läsion in den kleineren Speicheldrüsen besteht aus Clustern runder Zellinfiltrate, deren Zusammensetzung von der Schwere der Läsion abhängt. CD4<sup>+</sup>-T-Zellen herrschen bei leichten Läsionen und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen und B-Zellen bei schwereren vor [697]. Die Verteilung anderer infiltrierender Immunzellen korreliert auch mit dem Entzündungsgrad, wobei mit zunehmender Schwere Makrophagen verstärkt und fingerartig ineinandergreifende dendritische Zellen verringert auftreten [698]. Patienten mit Sjögren-Syndrom wurden bei der Diagnose in verschiedene Gruppen kategorisiert, abhängig davon, ob die Immunantwort überwiegend von T- oder B-Zellen vermittelt wird [699] und ob die T-Zellenantwort hauptsächlich vom Typ Th1, Th2 oder Th17 ist. Laut Moutsopoulos [697] sind Th1-Antworten am häufigsten, herrschen Th2-Zytokine bei leichten Läsionen vor und korreliert die Th17-Reaktivität mit einem höheren Läsionsschweregrad.

Von besonderer Bedeutung beim Sjögren-Syndrom ist die Bildung von Keimzentren, die für ein höheres Lymphomrisiko prädiaktiv sind [700,701].

9.1.5.1. *T-Zellen*. T-Zellen, die eine wichtige Rolle bei der Sjögren-Syndrom-Entzündung spielen, können gemäß der von ihnen produzierten Zytokine in mehrere Subsets unterteilt werden. Th1-Zellen produzieren IFN- $\gamma$  und IL-18, Th17-Zellen produzieren IL-17 und IL-21, und Th2-Zellen sezernieren IL-4, IL-5 und IL-13. In der Vergangenheit wurde das Sjögren-Syndrom als eine Th1-abhängige Autoimmunerkrankung mit erhöhten Konzentrationen von IFN- $\gamma$  in der Tränenflüssigkeit, der Konjunktiva, im Speichel, in Tränen- und Speicheldrüsen und im Blut identifiziert [235,478,522,582,702]. Zudem korreliert ein Th1/Th2-Ungleichgewicht mit hohen Konzentrationen von IFN- $\gamma$  im Blut, in Speicheldrüsen, in der Tränenflüssigkeit oder der Konjunktiva mit einem schwereren Phänotyp, was dabei helfen kann, eine durch das Sjögren-Syndrom verursachte Defizienz an wässriger Tränenflüssigkeit von einer solchen Defizienz zu unterscheiden, die nicht durch Sjögren-Syndrom verursacht ist [532,703].

Vor kurzem sind Th17-Zellen als Akteure bei der Pathogenese

von Sjögren-Syndrom in Erscheinung getreten, und die Wechselwirkung zwischen Th1- und Th17-Zellen wird allmählich aufgeklärt. Es gibt Evidenz für die Präsenz von IL-17 in Flüssigkeiten wie beispielsweise Tränen, Speichel, Serum und Synovialflüssigkeit und in den Gewebeläsionen selbst bei Patienten mit Sjögren-Syndrom [704–706]. Daten aus Tiermodellen haben gezeigt, dass IL-17 eine entzündungsfördernde Rolle bei der Sialadenitis spielt, während seine spezifische Rolle bei der Tränenrüsenezündung noch diskutiert wird [536,562,581,582,591,707,708].

**9.1.5.2. Epithelzellen.** Einen Beitrag zur Drüsenentzündung leistet die Aktivierung von Azinus- und Ductus-Epithelzellen, die Immunfunktionen ausführen und als nicht professionelle APCs agieren, wobei sie die Rekrutierung und Aktivierung nahezu aller Typen von Immunzellen vermitteln, die die Aktivierung und Differenzierung von T- und B-Zellen vorantreiben. Die Faktoren, die eine epitheliale Aktivierung auslösen, sind nicht bekannt, aber es wurde zur Diskussion gestellt, dass eine latente Virusinfektion (siehe oben) oder andere intrinsische Faktoren für deren Aktivierung im Kontext eines geeigneten genetischen und umweltbedingten Hintergrunds verantwortlich sind [709]. Aktivierte Speicheldrüsen-Epithelzellen exponieren eine Reihe von immunmodulatorischen Molekülen, die an angeborenen und erworbenen Immunantworten beteiligt sind. Sie können auch Autoantigene präsentieren, die aus exosomalen Vesikeln [710] oder apoptotischen Körperchen freigesetzt werden [711]. Sie spielen daher bei Sjögren-Syndrom eine wichtige Rolle bei der Einleitung und Fortsetzung des lokalen Autoimmunprozesses in den Speicheldrüsen. Ein wichtiges Merkmal des Prozesses ist, dass, während die infiltrierenden Lymphozyten aktiviert bleiben, die aktivierten Epithelzellen der Drüse einen apoptotischen Zelltod durchlaufen [712]. Es muss noch festgestellt werden, ob die Tränenrüsenepithelzellen eine analoge Rolle spielen.

**9.1.5.3. B-Zellen.** B-Zellen-Hyperaktivität wird nun als ein zentrales Element von Sjögren-Syndrom angesehen und unterstreicht den Verlust der Immuntoleranz. Sie wird durch Hypergammaglobulinämie, Kryoglobulinämie und die Produktion multipler Autoantikörper manifestiert, die beispielsweise gegen  $\alpha$ -Fodrin, den M<sub>3</sub>-Muskarinrezeptor und die Ribonucleoprotein-Komponenten von Ro52 und Ro60 (Anti-Ro/SSA) und La (Anti-La/SSB) gerichtet sind. Die zuletzt Genannten gehören zu den Klassifizierungskriterien für Sjögren-Syndrom und korrelieren mit einem frühen Ausbruch der Erkrankung, einer Vergrößerung der Ohrspeicheldrüse, extraglandulären Manifestationen und lymphozytischer Drüseninfiltration [683].

B-Zellen erfüllen andere Funktionen neben der Produktion von Autoantikörpern, indem sie als APCs agieren und Zytokine sezernieren, die die Immunantwort aufrechterhalten können [713].

**9.1.5.4. Dendritische Zellen.** Dendritische Zellen helfen bei der Organisation der Immunantwort. Es gibt Evidenz für Crosstalk zwischen dendritischen Zellen und Epithelzellen. Epithelzellen sezernieren inflammatorische Zytokine, die dendritische Zellen und T-Zellen aktivieren können, und diese können ihrerseits das Epithel aktivieren. So ist beispielsweise die IFN- $\gamma$ -stimulierte Expression von MHC-II und HLA-DR, einem Liganden für den T-Zellenrezeptor, durch Epithelzellen in der Literatur gut dokumentiert [714]. Die Expression von HLA-DR durch sowohl

Epithel als auch DZ wurde zuvor bereits erwähnt und in jüngster Zeit als ein Endpunkt bei klinischen Studien zur KCS verwendet [381,715–717].

**9.1.5.5. Autoantikörper.** Zirkulierende Autoantikörper beim Sjögren-Syndrom tragen zu seiner Pathophysiologie bei und können von Wichtigkeit bei der Diagnose sein [718]. Autoantikörper, die gegen Ro/SSA- und La/SSB-Autoantigene gerichtet sind, stellen einen der empfohlenen diagnostischen Tests auf Sjögren-Syndrom dar [684,719].

Ähnlich können auch Autoantikörper gegen den M<sub>3</sub>-Muskarinrezeptor in einem Subset von Sjögren-Syndrom-Patienten gefunden werden und werden als Pathogene erachtet [720]. Einige Studien haben gezeigt, dass diese Autoantikörper eine agonistische (d. h. stimulierende) Aktivität aufweisen, während andere Studien gezeigt haben, dass sie eine antagonistische (d. h. hemmende) Aktivität haben [721–724], der Unterschied kann jedoch durch die Methode bedingt sein. Die Prävalenz dieser Antikörper in den Seren von Sjögren-Syndrom-Patienten variiert erheblich, was ihre Nützlichkeit für diagnostische oder prognostische Zwecke infrage stellt [720].

#### 9.1.6. Die Tränenrüse bei Sjögren-Syndrom

Der Verlust des wässrigen Tränenflusses bei Sjögren-Syndrom ist das Ergebnis entzündlicher Zellinfiltration der Tränenrüsens, die zur Zerstörung von Azini und Ducti führt. Infiltrierende Lymphozyten sowie epitheliale, endotheliale und neurale Zellen sind alle potentielle Quellen für inflammatorische Zytokine und andere Mediatoren, die für die Schädigung von Tränengewebe verantwortlich sind. Zudem können entzündliche Veränderungen innerhalb der Drüse durch Schädigung der sekretomotorischen Innervation, durch die Inhibition der Neurotransmitterfreisetzung oder die Aktion von Zytokinen oder Antikörpern zu einer Reduzierung der Tränensekretion führen [725]. Die Tränenrüsens sind beim Sjögren-Syndrom stark durch mononukleäre Zellen infiltriert, die zu einem Großteil aus T-Lymphozyten und einem geringeren Teil aus B-Zellen und Plasmazellen bestehen (Abb. 11) [726]. Diese T-Zellen exprimieren den Aktivierungsmarker IL-2R und enthalten zytotoxische Granula wie Granzym A [727,728]. Der Grad der lymphozytischen Infiltration der Tränenrüsens korreliert gut mit der Tränensekretion. Eine schlechte Reflextränensekretion bei nasaler Reizung korreliert mit der Präsenz von Sjögren-Syndrom-Autoantikörpern und mit lymphozytischer Infiltration sowohl der Tränen- als auch der Speicheldrüsen bei KCS-Patienten [729].

Laut früherer Berichte und wie bei Biopsaten der Speicheldrüsen überwiegen CD4<sup>+</sup>-T-Zellen gegenüber CD8<sup>+</sup>-Zellen im Infiltrat der Tränenrüse, während B-Zellen die kleinste Menge ausmachen.

Aufgrund der Einschränkungen bei der Verwendung von Tränenrüsens-Biopsaten für Untersuchungszwecke wäre es von großem Wert, prospektive Post-Mortem-Studien der lakrimalen Pathologie bei Patienten mit gut charakterisiertem Sjögren-Syndrom und NSDE durchzuführen, um ein besseres Verständnis des natürlichen Verlaufs zu erlangen und die geeigneten Zeitpunkte für eine therapeutische Intervention zu identifizieren.

#### 9.1.7. Die Konjunktiva bei Sjögren-Syndrom

Es ist nicht bekannt, ob die Konjunktiva ein primäres Ziel der Entzündung bei Sjögren-Syndrom ist, oder ob konjunktivale Veränderungen sekundär zur Entzündung der Tränenrüse und

dem Einsetzen von KCS auftreten. Vieles von dem, was über die pathologischen Ereignisse in der Konjunktiva vom Patienten mit KCS bekannt ist, basiert auf der Untersuchung konjunktivaler Impressionszytologieproben, die Informationen über das Epithel, nicht aber über die Konjunktiva in voller Dicke bereitstellen. Daher sind die Ergebnisse von Stern et al. [488] aus Konjunktivaproben von Patienten mit SSDE oder NSDE von großem Interesse, insbesondere, da es zwischen den Gruppen keinen qualitativen oder quantitativen Unterschied bei den infiltrierenden Zellen und bei Aktivierungsmarkern gab. Eine Zusammenfassung von Entzündungsereignissen in der Konjunktiva von Patienten mit sowohl SSDE als auch NSDE ist in [Tabelle 12](#) dargestellt.

Stern et al. wiesen große Zahlen infiltrierender Lymphozyten sowohl bei SSDE- als auch bei NSDE-Proben nach, bei denen es sich zumeist um CD4<sup>+</sup>-T-Zellen handelte, die aber auch CD8<sup>+</sup>-Zellen enthielten [488]. T-Zellen befanden sich hauptsächlich in der anterioren Substantia propria und im Subepithel und nur selten im Epithel. Es war auch eine kleine Anzahl von B-Zellen vorhanden. Die Immunreaktivität für Klasse-II-Antigene des Haupthistokompatibilitätskomplexes (major histocompatibility complex, MHC) zeigten die Expression von sowohl HLA-DR (ein Ligand für den T-Zellrezeptor) als auch HLA-DQ (ein unabdingbares akzessorisches Molekül für die Antigenpräsentation) nicht nur von Lymphozyten, sondern auch von konjunktivalen Epithelzellen an, was auf ihre mögliche Rolle als nicht professionelle APCs hinwies.

Zudem wurde ICAM-1-Immunreaktivität auf vaskulären Endothelzellen, infiltrierenden Lymphozyten in der Substantia propria und auf residenten Epithelzellen festgestellt. ICAM-1 ist ein Zelloberflächen-Adhäsionsmolekül, das das Lymphozyten-Homing und den Eintritt in Zielgewebe erleichtert, was während einer Entzündung wichtig ist [464,730]. Die verstärkte Expression von Lymphozyten-Funktions-Antigen (LFA)-1, dem T-Zellenliganden für ICAM-1, wurde ebenfalls festgestellt. Es wurde beobachtet, dass eine Expression von ICAM-1 seitens residenter Epithelzellen den Zellkontakt zwischen infiltrierenden Lymphozyten und den Epithelzellen förderte und so die apoptotische Epithelzellenschädigung begünstigte, und dass eine Expression von ICAM-1 seitens infiltrierender Lymphozyten ein Signalmolekül für die Antigenpräsentation bereitstellen könnte [731,732].

9.1.8. Die Meibom-Drüsen bei Sjögren-Syndrom

Es ist nicht bekannt, ob die Meibom-Drüsen ein Autoimmunziel bei Sjögren-Syndrom sind. In einer Studie von Shimazaki et al. wurde festgestellt, dass Patienten mit Sjögren-Syndrom schwerwiegende Veränderungen der Augenoberfläche (durch Vitalfärbung bestätigt) aufwiesen, auch wenn sie dieselbe Tränenproduktion (durch Schirmer-Test nachgewiesen) wie Patienten entsprechenden Alters mit NSDE zeigten [375]. Patienten mit Sjögren-Syndrom hatten eine höhere Prävalenz von MGD, eine höhere Tränenverdunstungsrate und schwerwiegendere MGD (57,9 % in der Sjögren-Gruppe verglichen mit 18,5 % der Personen mit NSDE). Eine Kombination von ADDE mit MGD-assoziiertem EDE wird als verstärkend für den Augentrockenheitszustand angesehen [207].

Durch Konfokalmikroskopie wurde auch eine größere Störung der Architektur der Meibom-Drüse bei mit SSDE in Verbindung stehender MGD beobachtet als bei NSDE, MGD und bei gesunden Kontrollen. Es wurde berichtet, dass Meibom-Drüsen bei Sjögren-Syndrom-Patienten eine stärkere periglanduläre Entzündung und eine höhere Azinuszellenreflektivität aufwiesen als bei gesunden Kontrollen und MGD-Patienten ohne Sjögren-Syndrom [733]. Es gab keine Unterschiede zwischen den Meibom-Drüsen von pSS- und sSS-Patienten. Anzeichen obstruktiver MGD waren bei pSS und sSS (SLE und rheumatoide Arthritis) ebenfalls ähnlich [1201].

Es stellt sich die Frage, warum die Prävalenz und der Schweregrad von MGD bei Sjögren-Syndrom höher sind. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass die Meibom-Drüsen bei dieser Erkrankung ein primäres Autoimmunziel sind, obwohl es für diese Möglichkeit keine Evidenz gibt. Alternativ könnten sie direkt durch inflammatorische Zellen oder Zytokine beeinflusst werden, die lokal in der Konjunktiva aufkommen oder bei der Tränensekretion zum konjunktivalen Sack befördert werden [426,687]. Ein anderer Vorschlag ist, dass bei schwerer Erkrankung der Verlust des sensorischen Antriebs, der in der Tränendrüse beobachtet wird, sich möglicherweise ähnlich auf die Erhaltung der Sekretion der Meibom-Drüse auswirkt. Eine weitere Erklärung ist die Androgendefizienz bei Sjögren-Syndrom (siehe den Bericht des Unterausschusses für Sexus, Geschlecht und Hormone).

**Tabelle 9**  
Rattenmodelle für geänderte Struktur und/oder Funktion der Meibom-Drüse (MG) und/oder der Talgdrüse (SG).

Zustand	Drüsenauswirkung	Quellenangabe
<b>Gen-Knockout</b>		
Acyl-CoA:Cholesterin-Acyltransferase-1 Autoimmunregulatorisch	MG-Atrophie T-Zelleninfiltration in MG	(Yagyu et al., 2000) [660] (Yeh et al., 2009) [590]
Barx2	MG-Defekte	(Tsau et al., 2011) [1141]
Blimp1	Vergrößerte MG	(Horsley et al., 2006) [1142]
CCAAT-Enhancer-Bindungsproteine α und β	MG-Atrophie, reduzierte Anzahl differenzierter MG-Azinuszellen	(House et al., 2010) [1143]
CD147	Niedrigere Anzahl von MG-Azini, Verlust von lipidgefüllten Meibozyten	(Mauris et al., 2015) [1144]
Cu, Zn-Superoxiddismutase-1 Ektodysplaslin-A	MG-Atrophie, reduzierte Anzahl differenzierter MG-Azinuszellen Keine MG	(Ibrahim et al., 2014) [1139] (Cui et al., 2005 Wang et al., 2016 Kuramoto et al., 2011) [672,1145,1146]
Ektodysplaslin-A-Rezeptor Wachstumshormonrezeptor	Keine MG Die MG weisen hyperkeratinisierte und verdickte Kanäle auf, die verhornte Materialien enthielten und sekretorische, in Ductuswände eindringende Azini, schlecht differenzierte	(Naito et al., 2002) [1147] (Liu et al., 2016a) [57]

Krüppel-like Faktoren Familie 5 (bedingte Disruption)	Azini und reduzierte MG-Größen aufweisen.	(Kenchegowda et al., 2011) [1148]
Map3k1, Dkk2, c-Jun, Egfr, Shp2, Map3k1/jnk1, Map3k1/Rhoa (systemische oder konditionale Knockouts)	Deformierte MG MG-Hypoplasie	(Meng et al., 2014) [1149]
Melanocortin-5-Rezeptor	Verringerte Produktion von Talglipiden	(Thiboutot et al., 2000) [1150]
Smad4	Ektopische Reihe von Haarfollikeln anstelle von MG	(Huang et al., 2009) [1151]
Stearoyl-Coenzym-A-Desaturase 1	Keine MG	(Miyazaki et al., 2001) [1152]
Stearoyl-Coenzym-A-Desaturase Funktionsverlust (Scd3-Cre-induzierte, Diphtherieketten-A-Toxin-vermittelte Depletion)	MGD-artige Augenoberflächenwirkungen	(Dahlhoff et al., 2016) [1153]
Tumornekrosefaktor-Rezeptor-assoziiierter Faktor 6	Modifizierte MG	(Naito et al., 2002) [1147]
<b>Transgene oder Genüberexpression</b>		
Biglykan-Überexpression unter Kontrolle des Keratinozyten-spezifischen Keratocan-Promoters	MG-Aplasie	(Hayashi et al., 2005) [1154]
c-Myc-Überexpression	Verstärkte Sebumproduktion	Zouboulis and Boschnakow, 2001) [1155]
Ektodysplasie-Rezeptor	Vergrößerte MG	(Chang et al., 2009) [1156]
Ektodysplasie-A	SG-Hyperplasie	(Cui et al., 2003) [1157]
Wachstumshormonrezeptor-Antagonist	Die MG weisen hyperkeratinisierte und verdickte Kanäle auf, die verhornte Materialien enthielten und sekretorische, in Ductuswände eindringende Azini, schlecht differenzierte Azini und reduzierte MG-Größen aufweisen.	(Liu et al., 2016a) [57]
Menschliches Apolipoprotein C1	MG-Atrophie	(Jong et al., 1998) [1158]
K14-Noggin	Bildung von ektopischen Haartalgdrüsen auf Kosten der MGs	(Plikus et al., 2004) [1159]
Kera-rtTA/tet-O-TGF $\alpha$ (ektopische stromale Expression von TGF $\alpha$ )	Abnormale MG-Morphogenese	(Dong et al., 2015) [1160]
Keratin-5 -Glukokortikoid-Rezeptor	Keine MG	(Cascallana et al., 2005) [1161]
Ratten-erbB2-Überexpression in der Basalschicht der Mausepidermis unter Kontrolle des bovinen Keratin-5-Promoters	SG-Vergrößerung	(Kiguchi et al., 2000) [1162]
Gerettetes Fettsäure-Transportprotein 4 Null	Abnormale MG-Entwicklung	(Lin et al., 2013) [1163]
Smad7- oder Parathormon-bezogene Proteinüberexpression	SG-Hyperplasie	(Zouboulis and Boschnakow, 2001) [1155]
<b>Mutation</b>		
„Rhino“	MG-Ductus-Hyperkeratinisierung, Azinus-Zellverlust und letztendliche -Atrophie	(Jester et al., 1988) [1164]
„Raus Fell“ (Rough fur, ruf)	SG-Hypertrophie	(Park et al., 2001) [1165]
ADAM-Metallopeptidase-Domäne 17, auch als Tumornekrosefaktor- $\alpha$ -konvertierendes Enzym bezeichnet	Keine MG	(Hassemer et al., 2013) [1166]
Flaumloser Lokus	MG-Defekte	(Majumder et al., 1998 Naito et al., 2002) [1147,1167]
Verlängerung des sehr langkettige Fettsäure-Gens	Vorstehende Öffnungen und anatomische Veränderungen der MG	(McMahon et al., 2014) [1168]
Protein-Phosphatase-1 regulatorische Untereinheit-13-artig Stratifin (14-3-3o)	Keine MG MG-Atrophie bei gealterten Heterozygoten	(Toonen et al., 2012) [1169] (Lu et al., 2011) [1170]
<b>Immunisierung</b>		
Mausimmunisierung mit einem humanen monoklonalen Anti-DNA-Antikörper mit einem großen Id 16/6Id	Hypertrophe MG	Chan et al., 1995) [1171]
<b>Natürlich</b>		
„Zerknittert“	Keine MG	(Naito et al., 2002) [1147]
Alter	MG-Atrophie	(Parfitt et al., 2013) [1172]
<b>Pharmazeutika</b>		
Isotretinoin	Keratinisierung Verdickung des MG-Ductusepithels, verringerte Anzahl und Größe von MG-Azini, multiple degenerierte MG-Azini	(Ibrahim et al., 2017) [642]
<b>Umwelt und Pharmazeutika</b>		
Austrocknungsstress und Scopolamin	Erhöhung der MG-Basalzellenproliferation	(Suhaim et al., 2014) [656]
<b>Ernährung</b>		
HR-1 haarlose Mäuse, denen eine spezielle Diät mit begrenztem Lipidgehalt gefüttert wurde	Hyperkeratinisierung des MG-Ductusepithels, Zahnpasta-artiges Meibum, deutlich verstopfte MG-Öffnungen und Verlust und Atrophie von MG-Azini	(Miyake et al., 2016) [637]
n-3-Fettsäuredefizienz	Verringerte MG-Meibumsekretion	(Tanaka et al., 2015) [1173]

### 9.1.9. Die Augenoberfläche bei schwerer SS – Plattenepithelmetaplasie

Bei fortgeschrittener KCS, einschließlich des Sjögren-Syndroms, kann ein Prozess der Plattenepithelmetaplasie stattfinden, in dem die feuchten epithelialen Schleimhäute durch einen Prozess der Transdifferenzierung in epidermisiertes, nicht benetzbares Gewebe umgewandelt werden. Es findet eine Modifikation der epithelialen Glykokalyx, ein Verlust von Becherzellen und eine Keratinisierung der konjunktivalen und kornealen Epithelzellen mit aberranter Expression verhornter Envelope-Precursor-Proteine statt, einschließlich der kleinen prolinreichen Proteine (small prolinerich protein, SPRR), Involucrin, später Envelope-Proteine (late envelope proteins, LEPs) und Filaggrin.

Plattenepithelmetaplasie ist eine Reaktion auf chronische Entzündung, bei der IL-1 $\beta$  und IFN $\gamma$  eine wichtige Rolle in dem Prozess spielen. Die Expression der relevanten Gene geht dem

squamösen Phänotyp voraus [478]. Ein Überfluss beider Zytokine wurde bei der KCS an der Augenoberfläche nachgewiesen. IL-1 $\beta$  ist ein leistungsstarker Entzündungsauslöser und stimuliert die Produktion vieler entzündungsfördernder Zytokine an der Augenoberfläche, einschließlich IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  und Interferonen [453]. Die Konzentrationen von IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und TNF-alpha sind in der Tränenflüssigkeit und der Konjunktiva von pSS-Patienten und in Tiermodellen der KCS [535,734,735] erhöht, und es gibt eine signifikante Korrelation zwischen der IL-1 $\beta$ -Expression durch menschliche konjunktivale Epithelzellen und der pathologischen Keratinisierung der Augenoberfläche, wobei die SPRR1B-Expression als ein Maß der squamösen Metaplasie verwendet wird [589].

Die Rolle von IFN- $\gamma$  im Prozess der Plattenepithelmetaplasie wurde untersucht. Dieses Zytokin wird an der Augenoberfläche durch infiltrierende Th1-Zellen und NK-Zellen freigesetzt. Es kann

den Becherzellenverlust, die epitheliale Apoptose und die Keratinisierung des konjunktivalen Epithels in einem DES-Mausmodell der KCS fördern [478,530] und leistet einen erheblichen Beitrag zur Plattenepithelmetaplasie bei der KCS beim Menschen [532]. Es wurde nachgewiesen, dass es die Expression verhornter Envelope-Precursor in Keratinozyten [736], kornealen Epithelzellen [737] und in konjunktivalen Epithelzellen von Patienten mit Sjögren-Syndrom hochreguliert [738,739].

McNamaras Gruppe hat die Makrophagen und T-Zellen bei Mäusen und Menschen studiert. In einer Reihe von Studien haben die Forscher die Konjunktiva-Biopsate von Aire-KO-Mäusen (ein Sjögren-Syndrom-Modell) und Biopsate von Menschen mit Sjögren-Syndrom untersucht [580]. Diese Studien haben gezeigt, dass das Homing autoreaktiver CD4<sup>+</sup>-T-Zellen zu den Augen von Mäusen mit AIRE-Defizienz sowohl die Makrophageninfiltration als auch die lokale Freisetzung von IL-1 fördert [453]. In adoptiven Übertragungsstudien wurde nachgewiesen, dass autoreaktive CD4<sup>+</sup>-T-Zellen lokale Entzündung an der Augenoberfläche durch Aktivierung der IL-1R1-Signalgebung in residenten Epithelzellen auslösen können [453,589], was die Entzündung durch die lokale Retention der infiltrierenden T-Zellen aufrechterhält. Die Depletion von Augenoberflächen-Makrophagen durch die subkonjunktivale Injektion von Clodronatliposomen [580] schwächt die Anzeichen der KCS wie die Lissamingrün-Färbung und die epitheliale SPRR-Expression ab, was ihre Rolle bei der Entwicklung der Augenoberflächenmetaplasie unterstützt. Ähnlich schwächte auch die Depletion von APCs während der DES-Einleitung den KCS-Phänotyp ab [479].

IL-1 $\beta$  kann auch die Plattenepithelmetaplasie durch Induktion der Expression kleiner prolinreicher Proteine (SPRR) fördern, die in nicht keratinisierten Schleimhautgeweben nur minimal exprimiert, aber in Reaktion auf Belastung oder Entzündung überexprimiert werden [453,478,740]. Li et al. [453] wiesen die Induktion von SPRR durch das Hinzufügen rekombinanten IL-1 $\beta$  zu in Kultur gezüchteten, menschlichen konjunktivalen Epithelzellen durch Aktivierung eines p38-MAPK-Signalwegs nach, der ein häufig vorkommendes Zwischenprodukt sowohl der IL-1 $\beta$ - als auch der IFN- $\gamma$ -Signalgebungskaskaden ist. Es wurde nachgewiesen, dass SPRR während der DES-Exposition konjunktivale Becherzellen fangen und auch durch IFN- $\gamma$  hochreguliert werden [427].

Die Wichtigkeit von IL-1 in diesem Prozess wird auf weitere Arten unterstützt. Augenoberflächenfärbung und Expression von SPRR1B sind bei Aire-KO-Mäusen mit einem Mangel des IL-1-Rezeptors (Aire/IL-1R1-Doppel-Knockout-Mäuse) deutlich reduziert [589], obwohl die Lymphozyteninfiltration nicht abgeschwächt ist. Zudem verbesserte die lokale Inhibition der IL-1-Signalgebung an der Augenoberfläche bei Aire-defizienten Mäusen durch die topische Anwendung des IL-1-Rezeptorantagonisten Anakinra die Tränensekretion, stellte die Unversehrtheit der Augenoberfläche wieder her und reduzierte die Keratinisierung [741]. Es bleibt allerdings noch nachzuweisen, ob diese Erkenntnisse auf die Behandlung von Menschen übertragen werden können. Eine klinische Studie in jüngerer Zeit mit einem topischen IL-1-Rezeptorantagonisten für die Behandlung von KCS war nicht erfolgreich [1209].

## 9.2. *Trockenes Auge, das nicht mit Sjögren-Syndrom assoziiert ist (NSDE)*

NSDE umfasst erbliche und erworbene Formen von KCS ohne

die systemischen Autoimmunmerkmale von Sjögren-Syndrom. Zu den Erkrankungen gehören altersbedingtes NSDE, angeborener Tränenmangel und familiäre Dysautonomie [742].

### 9.2.1. *Intrinsische Tränendefizienz*

9.2.1.1. *Tränendrüsenablation.* KCS kann durch die Ablation der Tränendrüse in einem beliebigen Alter oder durch die Durchtrennung der Kanäle während einer Augenlidoperation verursacht werden. KCS ist kein unvermeidliches Ergebnis, da die akzessorischen Drüsen und konjunktivalen Sekretionen in einigen Fällen kompensieren können [743].

9.2.1.2. *Angeborener Tränenmangel.* Angeborener Tränenmangel oder Tränenagenesie kann als eine erbliche Erkrankung [744] und manchmal mit Agenesie der Speicheldrüsen auftreten [745] und ist eine seltene Ursache für KCS in der Jugend oder Kindheit. Es gibt zusätzliche Assoziationen mit Blepharophimose [746], Lakrimoaurikulo-dento-digitalem Syndrom (LADD), Pierre-Robin-Sequenz [747] und Allgrove-Syndrom (siehe unten).

9.2.1.3. *Triple-A-Syndrom.* Das Triple-A- oder Allgrove-Syndrom ist eine progressive, rezessiv erbliche Erkrankung, bei der angeborener Tränenmangel mit Achalasie der Kardial, Morbus Addison, zentraler Neurodegeneration und autonomer Dysfunktion assoziiert ist. Es wird durch Mutationen im AAAS-Gen verursacht, die das Protein ALADIN kodieren [748–750].

### 9.2.2. *Altersbedingtes trockenes Auge, das nicht mit Sjögren-Syndrom assoziiert ist (NSDE)*

Die häufigste Form von NSDE ist das altersbedingte ADDE, das dem Begriff „Keratokonjunktivitis sicca (KCS)“ entspricht, der in älterer Literatur verwendet wird (Lemp 1995). Die klinischen Merkmale ähneln denen von SSDE, aber im Allgemeinen ist das Alter des Eintritts höher, der Grad der Tränendrüseninfiltration niedriger, die Progression langsamer und eine schwerwiegende Erkrankung weniger häufig als bei SSDE. Evidenz für die über die Lebensdauer steigende Häufigkeit wird in dem Bericht des Unterausschusses für Epidemiologie präsentiert. Ein kontinuierlicher Anstieg der Inzidenz dieser Form von ADDE wird ab einem Alter von ungefähr 50 Jahren festgestellt.

Alterung kann als die Anhäufung von strukturellen und funktionellen Veränderungen definiert werden, die in einem Gewebe oder Organismus im Laufe seines Lebens stattfinden. Solche Veränderungen können einen Beitrag leisten, sind aber von solchen Ereignissen zu unterscheiden, die für altersbedingte Erkrankungen verantwortlich sind [751]. Laut Rocha et al. [751] können Theorien des Alterns nützlicherweise als programmiert klassifiziert werden, was genetische, hormonelle und immunologische Einflüsse und Schädigungen umfasst, oder als fehlerbasiert klassifiziert werden, was Abnutzung, Gewebeoxidation und -vernetzung, posttranslationale Modifikation oder die Konsequenzen somatischer Mutation umfasst.

Unter all diesen Faktoren wird die Rolle von Hormonen von dem Unterausschuss zu Geschlecht und Hormonen behandelt, während die genetische Anfälligkeit im Gegensatz zu der Situation für das Sjögren-Syndrom nur wenig Aufmerksamkeit erhalten hat. In einer Studie mit ein- und zweieiigen weiblichen Zwillingspaaren fanden Vehof et al. eine Vererbbarkeit von 29 % (95%-Konfidenzintervall [KI], 18 %–40 %) für KCS-Symptome und von 41 % (95%-KI, 26 %–56 %) für KCS auf der Basis einer ärztlichen

Diagnose und gleichzeitiger Anwendung künstlicher Tränen. Allerdings wurde dieses Ergebnis von der Verwendung eines Fragebogens abgeleitet, in dem die Art der KCS nicht identifiziert wurde. Abgesehen davon gab es einige kleine Kandidatengen-Studien mit NSDE-Patienten, die eine mögliche Rolle für Polymorphismen bei entzündungsfördernden Zytokinen [752] sowie im Killerzellen-Ig-artigen Rezeptor und menschlichen Leukozyten-Antigen-C-Genen berichtet haben [753]. Diese Ergebnisse wurden noch nicht repliziert, und die Durchführung einer künftigen Suche nach generischen Polymorphismen bei altersbedingter NSDE wird wichtig sein.

**9.2.2.1. Alterung der Tränendrüse.** Die potentiellen Beiträge der Gewebeerterung zu dieser Erkrankung wurden von Rocha et al. [751] überprüft, die darauf hingewiesen haben, dass die berichtete Abnahme der Schirmer'schen Reflexwerte im Lauf eines Lebens [754–756] dem Versagen eines beliebigen Elements der Tränenfunktionseinheit und somit einer beliebigen Kombination aus Faktoren geschuldet sein kann. Dazu gehören beispielsweise der Verlust des sensorischen Reizes von der Augenoberfläche, eine reduzierte Bereitstellung sekretorischer Neurotransmitter sowie der Verlust von funktionsfähigem sekretorischem Gewebe. Der Schirmer-Test misst die sekretorische Reaktion der Tränendrüse auf einen verstärkten sensorischen Reiz, und Informationen über den Einfluss von Alterung auf die Tränensekretion in Abwesenheit eines sensorischen Eingangssignals von der Kornea sind nicht verfügbar. Es wäre von einigem Wert, die Auswirkungen von Alterung auf das Ergebnis des Schirmer-Tests mit Lokalanästhesie oder auf die Tränensekretion gemessen mittels Fluorophotometrie unter festgelegten Umweltbedingungen zu untersuchen. Hamano et al. [757] schlossen auf einen Verlust von Tränenvolumen beim Altern basierend auf den Ergebnissen des Phenolrot-Tests.

Die korneale Empfindlichkeit gegenüber mechanischen [389,758–760] und chemischen Reizen [389,760] fällt mit dem Alter, was den sensorischen Reiz für eine Tränensekretion reduzieren könnte, aber eine altersbedingte Senkung bei der Wärmeempfindlichkeit (kalt oder heiß) wurde von Bourcier et al. [389] bei Verwendung des Gasästhesiometers nicht festgestellt. Andererseits wird in zahlreichen Veröffentlichungen berichtet, dass die regulierte Sekretion der von den Tränen abgeleiteten Proteine Lysozym, Laktoferrin und Peroxidase mit dem Alter abnimmt [755,756,761–763], was mit einem Verlust der Tränendrüsensfunktion übereinstimmen würde.

T-Zellen-Lymphozyten gehören zu der normalen Immunzellenpopulation der menschlichen Tränendrüse (Tabelle 1). Ab einem Alter von etwa 40 Jahren werden die Drüsen immer stärker von CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen infiltriert, die als die Basis einer allmählichen Zerstörung von Tränen-Azinas- und -Ductusgewebe angesehen werden. Histopathologisch tritt eine schwache Dakryoadenitis auf, die mit interazinärer und periduktaler Fibrose, paraduktalem Blutgefäßverlust und Azinaszellenatrophie assoziiert ist [764–766]. Eine deutliche Leukozyteninfiltration der menschlichen Tränendrüse bei älteren Personen wurde auch von Kojima et al. dokumentiert [767]. Es wurde zur Diskussion gestellt, dass die Azinasatrophie sekundär zur Ductusobstruktion auftritt, wie dies auch für MGD vorgeschlagen wurde. Es ist eine begründete Annahme, dass infiltrierende inflammatorische Zellen, die Zytokine und andere Mediatoren in die Drüse freisetzen, zu der

Tränengewebeschädigung beitragen und dass zu einem bestimmten Zeitpunkt die kumulativen Auswirkungen dieser altersbedingten strukturellen Schädigung den Beginn der Tränensekretionsdefizienz bestimmen. Studien an MRL/lpr-Mäusen, einem Modell für Sjögren-Syndrom, deuten darauf hin, dass entzündungsfördernde Zytokine, wie beispielsweise IL-1 $\beta$ , die von Lymphozyten freigesetzt werden, die die Tränendrüse infiltrieren, die Freisetzung von Neurotransmittern behindern und die Agonisten-vermittelte Tränendrüsensekretion hemmen können [768,769]. Wenn dies für SSDE beim Menschen relevant ist, kann davon ausgegangen werden, dass ein ähnlicher Mechanismus bei der altersbedingten KCS stattfindet.

Die potentielle Rolle von Virusinfektionen bei der Auslösung der sich selbst begrenzenden Entzündungsantwort in der menschlichen Tränendrüse und von Geschlechtshormonen bei der Begünstigung einer entzündungsfördernden Umgebung innerhalb der Drüse werden an anderer Stelle in diesem und anderen Berichten behandelt.

Einer der vorgeschlagenen Mechanismen für Drüsenschädigung im Lauf eines Lebens ist die oxidative Belastung, die aus der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS) wie Superoxid und Wasserstoffperoxid im Prozess des aeroben Metabolismus resultiert. Die Produktion freier Radikale findet im Verlauf des mitochondrialen Elektronentransfers als Teil des Prozesses der Energieproduktion statt. Diese ROS werden normalerweise von der reinigenden Maschinerie der Zelle durch Enzyme wie Superoxiddismutase (SOD) und Reduktionsmitteln wie Glutathion entfernt. Daten aus experimentellen Studien an Mäusen haben gezeigt, dass eine erhöhte mitochondriale Superoxidproduktion (wie bei der konditionalen Tet-mev1 transgenen Maus zu sehen) [770] oder eine verringerte Superoxidreinigung (wie bei der Superoxiddismutase-Knockout-Maus - SOD1<sup>-/-</sup> zu sehen) [767], eine Schädigung der Tränendrüse verursachen, die mit verstärkter Lipidperoxidation, oxidativer DNA-Schädigung und entzündlicher Zellinfiltration assoziiert ist. Dies geht mit einem reduzierten Tränenvolumen und verstärkter kornealer Färbung einher, die bei älteren Tieren einen höheren Schweregrad aufweist. Interessanterweise treten solche Veränderungen in den Speicheldrüsen nicht im Tet-mev1-Modell auf [770]. Es kann keine Aussage dazu getroffen werden, ob die kornealen Veränderungen eine Konsequenz reduzierter Tränensekretion oder der direkten Auswirkung oxidativer Belastung an der Augenoberfläche sind, aber solche Modelle deuten darauf hin, dass oxidative Belastung eine Rolle bei der altersbedingten KCS spielen könnte. Es ist relevant, dass bei einem Vergleich menschlichen Tränendrüsengewebes von Leichen junger Menschen (17–48 Jahren) im Vergleich zu alten Menschen (76–87 Jahre) Evidenz für Lipidperoxidation und für oxidative DNA-Schädigung bei der älteren Gruppe gefunden wurde [767]. Da aktivierte, phagozytierende Leukozyten eine starke Quelle für ROS sind [771], können inflammatorische Zellen, die entweder die Tränendrüse oder die Konjunktiva infiltrieren, nicht als Ursache für diese oxidative Schädigung [772] oder für die Lipidperoxide ausgeschlossen werden, die in den Tränen vom Patienten mit altersbedingtem NSDE nachgewiesen wurden [773].

**9.2.2.2. Altern der Konjunktiva.** Giebel et al. haben eine altersbedingte Expression von Apoptose-bezogenen Genen wie Casp-3, Bad, Bax und Bcl-2 in menschlichen konjunktivalen Zellen



nachgewiesen, die aus der Impressionssoziologie stammten [774]. Zhu et al. [775] haben mithilfe von Konfokalmikroskopie eine altersbedingte Abnahme bei Strukturen gefunden, die als dendritische Zellen interpretiert wurden, jedoch keinen Unterschied bei der konjunktivalen Epithelzellen- oder Becherzellendichte festgestellt. Es gab einen Anstieg bei epithelialen Mikrozysten, von dem einige annehmen, dass sie das Produkt von Becherzellendegeneration sind; diese Annahme ist umstritten [776]. Zuvor hatte Kessing [97] anhand von Histologie die Okklusion von Becherzellen unter Beibehaltung ihres Inhalts bei älteren Menschen berichtet, und Abdel-Khalek et al. [777] beobachtete die Präsenz von Hyalinkörperchen im konjunktivalen Epithel bei 25 % der Teilnehmer im Alter von über 79 Jahren. Insgesamt deuten solche Berichte darauf hin, dass die Konjunktiva gegenüber dem altersbedingten Verfall relativ resistent ist.

**9.2.2.3. Die Augenoberfläche bei altersbedingtem NSDE.** Bei altersbedingtem NSDE dominiert eine Reduzierung der Tränensekretion das klinische Bild und sie ist die Basis für Tränenhyperosmolarität. Dies resultiert hauptsächlich aus dem Verlust von sekretorischem Tränendrüsenepithel, aber eine Senkung der sensorischen Empfindlichkeit gegenüber allen sensorischen Modalitäten, die für das NSDE und das SSDE berichtet wurde, kann zu der reduzierten Sekretion beitragen, die auf einem Mangel an sensorischem Reiz basiert [389]. Die konjunktivale Entzündung ist ein allgemein anerkannter Aspekt von NSDE, aber in einem geringeren Grad als bei SSDE. Seine Merkmale sind in Tabelle 12 illustriert. Es wurde eine deutliche konjunktivale Infiltration mit HLA-DR exprimierenden CD4<sup>+</sup>-T-Zellen berichtet [488], die wahrscheinlich inflammatorische Ereignisse durch die Freisetzung von Zytokinen wie IFN- $\gamma$  organisieren, Becherzellenverlust fördern, Apoptose auslösen und eine Keratinisierung des konjunktivalen Epithels stimulieren [478] sowie auch die Anzahl von IFN- $\gamma$ -sezernierenden NK-Zellen erhöhen können [522]. Zudem gibt es eine verringerte Anzahl von immunsuppressiven TRegs und einen Anstieg bei den IL-17-produzierenden T-Zellen, die an der Schädigung des kornealen und den konjunktivalen Epithels beteiligt sind. In einem Mausmodell der KCS wurde nachgewiesen, dass Th1- und Th17-Zellen die Augenoberfläche infiltrieren [529].

**Tabelle 10**

Manifestationen beim primären Sjögren-Syndrom.

Nicht spezifische Merkmale
Muskuloskeletale Symptome, Raynaud-Syndrom,
CNS – Erschöpfungssymptome
Exokrine Epitheliitis (glandulär)
Tränen- und Speicheldrüsen-
Sonstige Drüsen – Bauchspeicheldrüse
Parenchymale Epitheliitis (extraglandulär)
Bronchial, hepatisch, renal – periepittheliale
Lymphozyteninfiltration
Endokrine Drüsenbeteiligung
Schilddrüse, Nebennieren, Ovarien
Immunkomplex-vermittelte Erkrankung
Vasculitis – betrifft kleine Gefäße der Haut, Nerven und
Nieren als Ergebnis von B-Zellenhyperaktivität)
Lymphoproliferativ
B-Zellenlymphom

Aus der Literatur [697].

Th17-Zellen sezernieren IL-17 als ihr Signaturzytokin, das MMP-3 und MMP-9 mRNA im kornealen Epithel hochregulieren kann. Wie bereits angemerkt wurde, kann dieses Zytokin die Integrität der kornealen Barriere stören.

In Übereinstimmung mit diesen Ereignissen werden auch erhöhte Konzentrationen inflammatorischer Zytokine und Chemokine in den Tränen von ADDE-Patienten festgestellt, und diese werden im Detail im Bericht des Unterausschusses für Tränenfilm besprochen. Ihre wahrscheinliche Quelle ist die Konjunktiva, aber ein Ursprung in der entzündeten Tränendrüse ist ebenfalls möglich. Massingale et al. [778] fanden eine Korrelation zwischen der Konzentration von Tränenzytokinen und der Schwere der KCS. Erhöhte Konzentrationen von IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  könnten die Entzündung durch Rekrutierung aktivierter Immunzellen zur Augenoberfläche verstärken [458].

### 9.2.3. Inflammatorische und sonstige Infiltrationen der Tränendrüsen

**9.2.3.1. Sarkoidose.** Sarkoidose ist eine chronische systemische Störung unbekanntes Ursprungs mit einer geschätzten Prävalenz, die von 1 bis 40 Fällen pro 100.000 Personen reicht [779]. Sie wird durch die Präsenz nicht verkäsender Granulome in multiplen Organen charakterisiert, wobei die Lungen am häufigsten beteiligt sind. Andere beteiligte Organe sind Milz, Leber, Lymphknoten und Haut sowie die Speichel- und Tränendrüsen [780,781]. Patienten mit Tränendrüsenbeteiligung (bis zu 63 % der Fälle) zeigen typischerweise eine signifikante Vergrößerung der Drüse [782]. Das Auftreten der KCS sekundär zur Sarkoidose ist sehr häufig und eine Folge der Tränendrüsenentzündung [782,783]. Verstreute Lymphozyteninfiltrate kommen häufig vor, bilden aber im Gegensatz zu denen des Sjögren-Syndroms keine Foki [784,785]. Erhöhte Konzentrationen zirkulierender proinflammatorischer Zytokine (TNF- $\alpha$ ) sind ebenfalls zu finden [786,787].

**9.2.3.2. Lymphom.** Die Infiltration der Tränendrüse durch lymphomatische Zellen kann KCS verursachen [788].

### 9.2.3.3. Virusinfektion

**9.2.3.3.1. Hepatitis C.** In einer Studie von 321 mit dem Hepatitis-C-Virus (HCV) infizierten Patienten wurden in 10 % der Fälle Sicca-Symptome (Augen und/oder Mund) festgestellt [789]. Mehrere Studien haben gezeigt, dass Patienten mit chronischer HCV-Infektion extrahepatische Manifestationen zeigen, die die klinische, immunologische und histologische Manifestation von primärem Sjögren-Syndrom nachahmen [790], und in einer Studie mit 1020 HCV-Patienten lag bei nahezu der Hälfte der Fälle (47,5 %) ein Sjögren-Syndrom vor [791].

**9.2.3.3.2. HIV – AIDS.** KCS ist auch ein häufiger Befund bei Patienten, die mit dem humanen Immundefizienzvirus (HIV) infiziert sind, und die Prävalenz wurde auf 38,8 % geschätzt [34,792,793]. Bei der AIDS-bezogenen KCS gibt es, anders als bei der SSDE, eine Infiltration der Tränendrüse mit vorwiegend CD8<sup>+</sup>-Suppressorzellen anstelle von CD4<sup>+</sup>-Helferzellen [794].

**9.2.3.4. Schädigung durch Strahlung.** KCS kann eine Komplikation der Strahlentherapie für benigne und maligne Erkrankungen der Augenhöhle [795] oder des Kopfes und Nackens sein, wenn sich das Behandlungsfeld über den periorbitalen Bereich erstreckt. Mehrere Studien an Menschen haben berichtet, dass die Entwicklung der KCS dosisabhängig ist [345,795–798]. Zusammenfassend ist zu sagen, dass veröffentlichte Daten darauf hindeuten, dass Dosen > 57 Gy prädiktiv für bestimmte KCS-

Formen sind, während Dosen von <30 Gy mit geringerer Wahrscheinlichkeit eine KCS verursachen [795]. Das Auftreten von KCS-Symptomen wird nach der Exposition gegenüber Dosen von <30 Gy um 4 bis 11 Jahre und nach der Behandlung mit hohen Dosen um 9 bis 10 Monate verzögert [795].

Die häufigsten ophthalmischen Befunde in Reaktion auf eine Strahlenexposition beim Menschen sind externe Augenerkrankungen [799]. Wie in Studien bei Kindern nach der Katastrophe von Chernobyl festgestellt wurde, umfassen diese Befunde eine verringerte Lakrimation sowie akute und chronische Blepharokonjunktivitis [799]. Die Kinder, die der Strahlenquelle am nächsten wohnten, wiesen den höchsten Grad einer Defizienz wässriger Tränenflüssigkeit auf.

Bei Studien an Tieren gibt es weniger Berichte über die Auswirkungen von Strahlung auf die Tränendrüse als auf die Speicheldrüse [800–803]. Eine Studie berichtete von der Wirkung einer Strahlungseinzeldosis (15 Gy) auf die Tränendrüsen bei Kaninchen 3 und 30 Tage nach der Behandlung [801]. In drei weiteren Studien wurden die Auswirkungen von Strahlungseinzeldosen mit 2,5–20 Gy auf die Tränendrüse und andere Augenadnexen bei Affen [802] 24–48 Stunden [802,803] oder bis zu 112 Tage [800] nach der Behandlung untersucht. Ein häufiges Ergebnis in all diesen Studien war der schnelle (24 Stunden) apoptotische Verlust von Azinus- und Myoepithelzellen. Im Gegensatz dazu waren Ductuszellen entweder bei niedrigeren Dosen unbeeinträchtigt oder bei höheren Dosen und zu späteren Zeitpunkten dilatiert. Zudem war das Gewebe 24 Stunden nach der Strahlenbehandlung von Neutrophilen infiltriert, die allmählich durch mononukleäre Zellen und Makrophagen ersetzt wurden. Andere berichtete Veränderungen waren die sekretorische Retention in Azini, die Vakuolenbildung, extrazelluläres Ödem und die Verdickung der Basalmembran. Eine Studie zeigte eine Umverteilung der Tenascin-C-Matrix. Die Schwere der Tränendrüsenläsionen war dosisbezogen und sank im Lauf der Zeit, aber die Gewebe erholten sich langfristig nicht. Die Autoren stellten die Hypothese auf, dass dies wahrscheinlich am Tod der Azinusprogenitor- oder -stammzellen liegt.

Ein Befund aus der Studie von Stephens et al. [802] war, dass die Strahlungsbehandlung (24–48 Stunden) keine Auswirkung auf andere Augenadnexen, nämlich die Meibom-Drüsen und konjunktivalen Becherzellen, hatte. Die Autoren stellten die Hypothese auf, dass ein „akuter Verlust von serösen Azini der Tränendrüse und die sich daraus ergebende Reduzierung der Tränenflüssigkeit allein ausreichend ist, um eine KCS zu verursachen, und für die Entwicklung sekundärer Veränderungen in anderen Drüsen der Augenlider prädisponieren könnte“. Diese Hypothese muss geprüft werden, und dieses Tiermodell könnte ein quantifizierbares Modell für ADDE sein.

#### 9.2.4. Tränendrüsenobstruktion

9.2.4.1. *Narbenkonjunktivitis.* KCS kann ein ernstes Ergebnis bei Erkrankungen sein, die eine umfassende konjunktivale Narbenbildung verursachen, wie z. B. chronische Graft-versus-Host-Reaktion, Stevens-Johnson-Syndrom (SJS)/toxische epidermale Nekrose (TEN), Schleimhaut-Pemphigoid und Trachom und sie kann als Folge einer körperlichen oder chemischen Verletzung auftreten.

**Tabelle 11**

Sjögren-Syndrom-assoziierte Nicht-HLA-Gene.

Gen	Genfunktion
STAT4	Transkriptionsfaktor
IRF5	Transkriptionsfaktor
IL12A	Zytokin
BLK	B-Zellenkinase
CXCR5	Chemokin
TNIP	NF $\kappa$ B-Signalgebung
GTF2I	Transkriptionsfaktor
TNFAIP3	NF $\kappa$ B-Signalgebung

Aus der Literatur [694,1174].

Die KCS hat einen gemischten Phänotyp aufgrund der kombinierten Beteiligung der Tränen- und Meibom-Drüsen und von Augenoberflächenveränderungen, die sich auf ihre Benetzbarkeit und sekretorische Kapazität auswirken. Die Tränendistribution kann ebenfalls betroffen sein. In der Konsequenz ist der klinische Schweregrad häufig hoch, und eine Entzündung der Augenoberfläche aufgrund von KCS wird durch entzündliche Ereignisse verschlimmert, die Teil der primären Erkrankung sind. Im schlimmsten Fall können solche Erkrankungen zur kornealen Trübung, Perforation und Blindheit führen. In einem Bericht aus Großbritannien zur narbenbildenden Konjunktivitis machten OcMMP 61 % der neuen Fälle in einem einzigen Jahr, SJS/TEN 20 % der Fälle und sonstige Ursachen 20 % der Fälle aus [804]. Einige Ursachen für die narbenbildende Konjunktivitis werden nachfolgend besprochen.

#### 9.2.4.2. Graft-versus-Host-Reaktion der Augen

9.2.4.2.1. *Einführung.* Die allogene hämatopoetische Stammzellentransplantation (HSCT) ist eine wirksame Behandlung für hämatologische Malignitäten. Der Erfolg wird allerdings durch chronische Graft-versus-Host-Reaktion (cGVHD) behindert, die zum Tod oder signifikanter Morbidität mit erheblich verringerter Lebensqualität führen kann [805]. KCS ist eine schwere Spätkomplikation [806–810] und hat weltweite Aufmerksamkeit erregt [806,811–814]. Augen-cGVHD tritt bei 40–80 % der Empfänger auf und zeigt sich mehrere Monate nach dem Datum der HSCT. Die damit verbundene KCS ist eine immunvermittelte entzündliche Erkrankung [489,815].

Zu den berichteten Risikofaktoren für die cGVHD gehören: die Präsenz mononukleärer Zellen unter den Stammzellenquellen im Peripherblut [816], eine Transplantation von Frau zu Mann [817,818], Epstein-Barr-Virus beim Spender und vorangegangene akute Haut-GVHD [818], wiederholte Allo-HSCTs und Diabetes mellitus. Das Auftreten von cGVHD in multiplen Organen kann die Schwere der Augen-GVHD erhöhen [819].

Chronische GVHD wird aufgrund der Host-Gewebeerkennung (Allo-Erkennung) durch Spender-T-Zellen als eine spätere Phase der akuten GVHD-Reaktion angesehen, es kann jedoch auch ein Autoimmunelement gegeben sein. Beschleunigte, immunvermittelte Fibrose führt zu funktionellen Veränderungen an Tränendrüse, Kornea, Konjunktiva und Lid sowie in weiteren Organen. Das histologische Hauptmerkmal von cGVHD-bezogener KCS ist eine ausgedehnte Gewebeatrophie und Fibrose mit Lymphozyteninfiltration. Immunvermittelte Fibrose führt zur Tränendrüsenobstruktion [815,820–824] und zur Obstruktion der Meibom-Drüsenkanäle [825]. Vom Spender stammende Fibroblasten können an diesem Prozess [815,822] und an der epithelialen mesenchymalen Transition (EMT) beteiligt sein [821].

Wie zuvor erwähnt ist die EMT ein Prozess, bei dem Epithelzellen in multipotente mesenchymale Stammzellen umgewandelt werden, die in eine Vielzahl von Zelltypen differenzieren können. Bei der cGVHD-bezogenen KCS erzeugen Kreuzreaktionen zwischen den Immunzellen von Spender und Empfänger einen „Zytokinsturm“, der die Schleimhautbarrieren an der Augenoberfläche beeinträchtigt und an verschiedenen Stellen EMT auslösen kann. In der Tränendrüse und unter dem Einfluss lokaler T-Zellen wird eine EMT, die sich auf Myoepithelzellen auswirkt, als eine Ursache für schwere Fibrose angesehen, die zum Drüsenverlust und Tränendrüsenerkrankung führt [821]. Die epithelial-mesenchymale Transition im konjunktivalen Epithel kann die Benetzbarkeit durch Beeinträchtigung der Mikrovilli und die Expression von Glykokalyxmuzinen stören [826]. Die okulären Merkmale von GVHD sind komplex und umfassen eine Wechselwirkung zwischen den Tränen- und den Meibom-Drüsen und der Augenoberfläche. Anhand von OCT beobachtete Manifestationen umfassen abnormale Meibom-Drüsenöffnungen, konjunktivale Keratinisierung und Chemose sowie korneale epitheliale Trübung, Verdünnung und Verschörfung [827].

**9.2.4.2.2. Beteiligung der Tränendrüse.** Verschiedene Ereignisse führen bei der cGVHD zu Tränendrüsenerkrankung und Gewebeschäden. Aktivierte CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen, die hauptsächlich in periduktalen Bereichen vorhanden sind, koloalisieren mit dem vollen Komplement an Oberflächenmolekülen, die für die Antigenpräsentation erforderlich sind. Dabei handelt es sich um periduktale Fibroblasten, die CD34<sup>+</sup> und HLA-DR exprimieren, und Adhäsionsmoleküle wie CD54<sup>+</sup> und co-stimulatorische Moleküle wie CD40<sup>+</sup>, CD80<sup>+</sup> und CD86<sup>+</sup> (Abb. 11) [823,828]. Makrophagen in den betroffenen Drüsen bei der cGVHD wurden als Quelle von Zytokinen und Chemokinen und von erhöhter oxidativer Belastung inkriminiert, was zur narbenbildenden Tränendrüsenerkrankung beiträgt.

Das Renin-Angiotensin-System (RAS) des Gewebes, das in der Tränendrüse vorhanden ist, kann zu der Tränendrüsenerkrankung bei der cGVHD beitragen [820]. In einem Mausmodell steigt die Häufigkeit von CD45<sup>+</sup>inflammatorischen Zellen und HSP47<sup>+</sup>-Fibroblasten und die Expression von fibrogenen Molekülen in der von cGVHD betroffenen Tränendrüse an und fällt bei einem AT1R-Antagonisten [829], was darauf hindeutet, dass Gewebe-RAS mit der inflammatorischen und fibrotischen Kaskade verbunden ist.

**9.2.4.2.3. Beteiligung der Meibom-Drüse.** Periglanduläre Veränderungen der Meibom-Drüsen wurden bei der GVHD mithilfe von konfokaler Mikroskopie und Infrarot-Meibographie beobachtet. Es wurde von der Infiltration inflammatorischer Zellen, Fibrose und Obstruktion von Meibom-Drüsen berichtet, die diffus sind als Symptome, die bei der MGD berichtet wurden [825]. Eine frühzeitige Erkennung und Überwachung okulärer GVHD-Veränderungen wird mit dieser Technik möglich sein [830].

**9.2.4.2.4. Konjunktivale Beteiligung.** Die Konjunktiva ist ein anerkanntes Ziel bei der cGVHD der Augen [821,831], und die Infiltration inflammatorischer Zellen zusammen mit konjunktivaler Keratinisierung [824] und Vernarbung sind signifikante Merkmale [832], die eine lokale Erhöhung von CXCL9- und CXCL10-Chemokinen und ihres C-X-C-Motivzeptors 3 bei GVHD-bezogener KCS mit sich bringen [833].

**9.2.4.2.5. Korneale Beteiligung.** Jabs et al. berichteten, dass

korneale Epithelverdünnung und -keratinisierung die Hauptmerkmale von GVHD waren [824]. Die Keratinisierung der Konjunktiva und Kornea wurde entweder einer primären Manifestation der GVHD zugeschrieben oder als sekundäres Zeichen der KCS-Erkrankung angesehen, aber es wurde auch zur Diskussion gestellt, dass korneale Epithelverdünnung mit der Chemotherapie assoziiert sein kann, die der Transplantation vorausging. Die GVHD-Kornea zeigt möglicherweise schwere epitheliale Schädigungen, und das Auftreten eines vorzeitigen Tränenfilmaufreiens kann zur Sehbefähigung beitragen. Gelegentlich kann es zu kornealer Perforation kommen, und es wurde nachgewiesen, dass CD8<sup>+</sup>-T-Zellen [834] und Makrophagen die Perforationskante infiltrieren. Matrix-Metalloproteasen wie MMP2 und MMP9 wurden ebenfalls gefunden, und es wird angenommen, dass sie für Gewebeerlust verantwortlich sind [835].

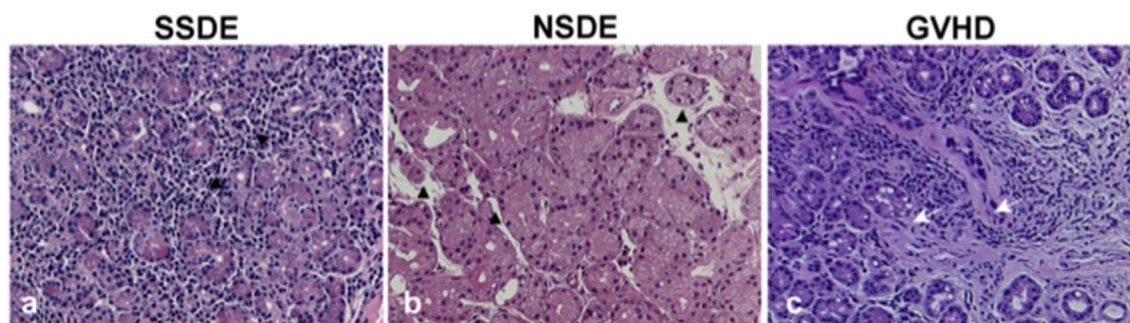
**9.2.4.2.6. Befunde in der Tränenflüssigkeit.** Veränderungen der Tränenflüssigkeit bei der GVHD reflektieren eine Entzündung an der Augenoberfläche oder tragen zu dieser bei. Der Tränen-Turnover ist reduziert, und die mithilfe von DR-1-Interferometrie beobachtete Lipidschicht des Tränenfilms kann schwer gestört sein [836]. In einer Studie war die Tränenosmolarität erhöht ( $314,0 \pm 22,1$  mOsm/L) und korrelierte umgekehrt mit der TBUT und dem Schirmer-Test [837]. Im Frühstadium der Augen-GVHD wird von einer Erhöhung von INF- $\gamma$  und in einem späteren Stadium von IL-6 berichtet [838], während eine andere Studie gezeigt hat, dass eine IL-6-, IL-10- und TNF- $\alpha$ -Erhöhung stark mit Augenbefunden korreliert [839]. In einer weiteren Studie war die Expression des löslichen TNF-Rezeptors 1 hochreguliert [840]. Tibrewal et al. [245] berichteten von einer Erhöhung der eDNA- und NET-Bildung bei der GVHD, die der bei anderen Formen der KCS entspricht.

**9.2.4.2.7. Präklinische Modelle okulärer GVHD.** Die Pathophysiologie von cGVHD wurde in einer Reihe von Tiermodellen untersucht [489,815,841,842]. Herretes et al. [489] entwickelten ein Mausmodell okulärer GVHD, bei dem Spender-T-Zellen zu den Augen der Empfänger von MHC-abgeglichenen, allogenen hämatopoetischen Stammzellentransplantationen rekrutiert wurden. In diesem Modell erhielten MHC-abgegliche (H2b) C3H.SW-Mäuse eine tödliche Bestrahlung und erhielten mehrere Stunden später Spender-B6-BMCs, die reich an B6-T-Zellen waren. Mehrere Wochen nach der HSCT verloren Tiere, die Spender-T-Zellen erhielten, Gewicht und begannen, klinische Anzeichen muriner GVHD aufzuweisen, einschließlich zerzaustem Fell, kauender Körperhaltung und Durchfall. Ungefähr 3–4 Wochen nach der Transplantation wurde eine verstärkte Fluoreszenzfärbung in den Korneas von Empfänger-mäusen beobachtet, die ungefähr 6 Wochen nach der Transplantation zur kornealen Ulzeration fortschritt. Es gab einen Unterschied bei dem Tempo des Einsetzens systemischer und okulärer GVHD. In einem anderen Modell, bei dem eine MHC-abgegliche, in histokompatibler Hinsicht leicht unpassende HSCT verwendet wurde, wurde nachgewiesen, dass Spenderfibroblasten, die aus mesenchymalen Stamm- oder Stromazellen stammten, zur Pathogenese immunvermittelter Fibrose beitragen [815]. Solche Modelle bieten eine Gelegenheit, die zugrundeliegenden Mechanismen okulärer GVHD zu untersuchen.

9.2.4.3. *Steven-Johnson-Syndrom/toxische epidermale Nekrolyse.* Stevens-Johnson-Syndrom/toxische epidermale Nekrose (SJS/TEN) ist eine lebensbedrohliche, dermatobullöse Erkrankung, die Haut und Schleimhäute einschließlich Kornea und Konjunktiva befällt [843]. Weitere Ziele umfassen respiratorische, gastrointestinale, hepatische, orale, otorhinolaryngologische, renale und urogenitale Systeme [844]. Die Erkrankung umfasst ausgedehnten Keratinozytentod und epidermale Nekrose, was zu einer Spaltung subepithelialer Schichten und der Epithelablösung an Hautstellen und Schleimhautoberflächen führt. Diagnostisch gesehen unterscheidet sich das SJS von der TEN durch eine Hautablösung, die weniger als 10 % der Körperoberfläche betrifft, im Vergleich zu einem Verlust von mehr als 30 % bei der TEN. Ein überlappendes SJS/TEN-Syndrom ist durch einen Verlust von 10–30 % der Haut definiert [845]. SJS betrifft Kinder und Jugendliche,

scheinen das Risiko einer schweren Schleimhautbeteiligung bei Japanern zu erhöhen.

Kinoshita und Kollegen haben zur Diskussion gestellt, dass die Anfälligkeit gegenüber Augenkomplikationen von SJS/TEN mit einem Ungleichgewicht von Mechanismen in Verbindung steht, die die Immunität an der Augenoberfläche kontrollieren. Dies kann eine Besiedelung der Augenoberfläche durch Bakterien wie Methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA) oder *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) nach dem Einsetzen der Erkrankung verursachen oder für schwere okuläre Manifestationen bei TEN verantwortlich sein [857,858]. Ueta et al. [857] berichteten von einer signifikanten Rolle von Wechselwirkungen zwischen HLA-A und dem Toll-Like-Rezeptor 3 (TLR3)-Gen bei dem Einsetzen okulärer Komplikationen und zusätzlich auch von einer Wechselwirkung zwischen TLR3 und dem Prostaglandin-E-



**Abb. 11.** Histopathologie der Tränenrüden bei verschiedenen Formen der KCS. (a) Bei SSDE gibt es eine deutliche intralobuläre Lymphozyteninfiltration (▲), und eine Fibrose ist nicht apparent. (b) Bei einem Patienten mit NSDE-Entzündungszellen ist die Infiltration begrenzt, außerdem ist kaum eine Fibrose zu erkennen (▲). Die Azini behalten eine nahezu normale Struktur bei. (c) Im Gegensatz dazu gibt es bei einem Patienten mit chronischer Graft-versus-Host-Reaktion (GVHD) eine deutliche interstitielle periduktale Fibrose (Pfeile) zusätzlich zu der Lymphozyteninfiltration. Die Peripherie der Drüsenlobuli wird unregelmäßig durch fibrotisches Gewebe ersetzt. (Mit freundlicher Genehmigung von Y. Ogawa.)

während TEN in jedem Alter auftreten kann. Die geschätzte Inzidenz von SJS beträgt ungefähr 0,4–7 Fälle pro Million.

SJS/TEN muss von einer anderen bullösen Hauterkrankung, dem Erythem multiforme, unterschieden werden, das einen kürzeren Verlauf mit begrenzter Schleimhautbeteiligung hat. Sie wird durch Infektion, in der Regel durch das Herpes-simplex-Virus, und nicht durch Medikamente und andere chemische und physikalische Faktoren ausgelöst, was mehr für SJS/TEN charakteristisch ist [846].

Antibiotika [847] sind eine häufige Ursache für SJS, zusätzlich zu Analgetika, Husten- und Erkältungsmedikamenten, NSAR und Antiepileptika [848] sowie Medikamenten, die bei der Behandlung von Gicht eingesetzt werden [849–851]. Es wurden auch Fälle von Doxycyclin- und Azetazolamid-Empfindlichkeit berichtet [852,853]. Die Verwendung antiretroviraler Behandlung für eine HIV-Infektion war eine Ursache für SJS in Subsahara-Afrika [854,855]. Andere Ätiologien umfassen physikalische Agenzien wie Sonnenexposition und Strahlentherapie [846]. Die Erkrankung kann auch idiopathisch sein.

Das Auftreten von SJS/TEN zeigt eine genetische Anfälligkeit auf, die mit der ethnischen Zugehörigkeit verbunden ist und Medikamentenspezifität aufweisen kann. HLA-B\*1502 ist mit Carbamazepin-induziertem SJS bei Personen Han-chinesischer Abstammung assoziiert [856], und IKZF1 wurde als Anfälligkeitsgen für Erkältungsmedizin-bezogenes SJS/TEN mit schwerer mukosaler Beteiligung in Japan, Korea, Brasilien und Indien identifiziert [850]. HLA-A\*02:06 und HLA-B\*44:03C

Rezeptor 3 (PTGER3) [859]. Diese Autoren [859] haben auch von Genpolymorphismen berichtet, die die angeborene Immunität beeinflussen. Sotozono et al. [858] betonten die Wichtigkeit von NSAR und Erkältungsmedikamenten bei der Ätiologie von SJS/TEN.

Akute SJS/TEN wird im Allgemeinen als eine von T-Zellen vermittelte Überempfindlichkeitsstörung des Typs IV angesehen, und es gibt breite Zustimmung für die Rolle zytotoxischer T-Zellen bei ihrer Pathogenese [846]. In den frühen Stadien der TEN herrschen CD8<sup>+</sup>-Lymphozyten in der Bläschenflüssigkeit und Epidermis vor, und viele exprimieren Oberflächenmarker, die normalerweise auf NK-Zellen gefunden werden, während CD4<sup>+</sup>-Lymphozyten auf den dermalen Schichten lokalisiert werden [860]. Später kommt es zu einer Erhöhung der aktivierten Monozyten. Keratinozytentod tritt bei Apoptose [846,861] entweder durch einen FAS/FAS-Ligandenprozess oder durch Bereitstellung von Granzym B für Zielzellen durch aktivierte T-Zellen und durch Perforin-induzierte Kanäle auf. Jeder dieser beiden Mechanismen aktiviert die intrazelluläre Caspase-Kaskade, was zum apoptotischen Zelltod führt [862].

Das akute Stadium der Augenerkrankung wird durch das Einsetzen einer membranösen Keratokonjunktivitis charakterisiert. Im chronischen Stadium der Erkrankung leiden die meisten Patienten unter konjunktivaler Entzündung, Symbblepharon, Entropium, Trichiasis, Limbusstammzellendefizienz und Konjunktivalisierung der Kornea und Neovaskularisation [863]. Es gibt eine enge Beziehung zwischen dem kornealen Epithel-

Stammzellenverlust und dem Grad der Sehbeeinträchtigung [864].

In der Tränenflüssigkeit von Patienten mit SJS/TEN wurden verschiedene Veränderungen verzeichnet, und IL-17 ist wie bei anderen narbenbildenden Formen von schwerer KCS erhöht [865]. Es wird angenommen, dass eine Abnahme der Konzentration von zwei aus den Tränen stammenden Proteinen, Laktoferrin und epidermale Wachstumsfaktor (epidermal growth factor, EGF), zur Schädigung der Augenoberfläche beiträgt [866]. MMP8, MMP9 und MPO waren beim SJS erhöht, und das Verhältnis MMP zu Gewebeschmelzer der Metalloproteinase war hoch, was auf einen potentiellen Beitrag zur Korneaschmelzung hindeutet [149].

KCS weist bei SJS/TEN häufig einen extremen Schweregrad mit totaler Abwesenheit von Tränenproduktion auf. In diesem Fall führt die rezidivierende Entzündung zu Plattenepithelmetaplasie und Keratinisierung des gesamten konjunktivalen Epithels mit verminderter Becherzellendichte [867]. Dies ist mit epithelialer Hyperproliferation und Expression von Transglutaminase I [868–870] und Filaggrin assoziiert [871].

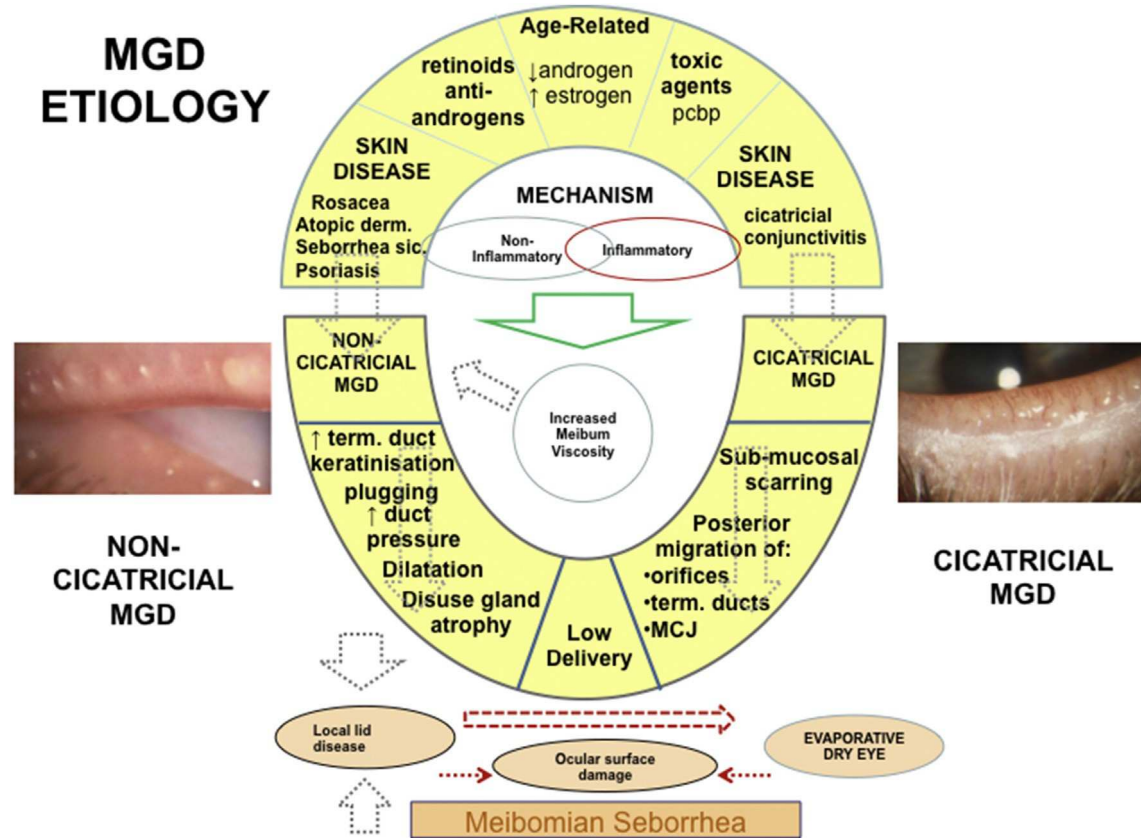
*9.2.4.4. Schleimhaut-Pemphigoid und okuläres narbenbildendes Pemphigoid.* Schleimhaut-Pemphigoid ist eine chronische progressive, bläschenbildende Autoimmunerkrankung, die Schleimhäute an verschiedenen Körperstellen und gelegentlich auch die Haut befällt. Sie kommt bei Frauen häufiger als bei Männern vor (F:M 2:1) [872] und tritt in der Regel in den späteren Lebensdekaden ( $\geq 60$  Jahre) auf, obwohl sie sogar schon im ersten Lebensjahrzehnt auftreten kann.

Schleimhaut-Pemphigoid betrifft am häufigsten die Mundschleimhaut (85 % der Patienten) und die Konjunktiva (65 %) und weniger häufig die Nasenschleimhaut (20–40 %), die Haut (25–30 %), den Anogenitalbereich und/oder den Pharynx (20 %), den

Larynx (5–15 %) und die Speiseröhre (5–15%) [873–875]. Die konjunktivale Beteiligung wird als okuläres narbenbildendes Pemphigoid (ocular cicatricial pemphigoid, OCP) bezeichnet. Auf Episoden der Entzündung und Epithelablösung folgt eine Fibrose, die lebensbedrohliche Strukturen im Larynx oder der Speiseröhre verursachen oder im Fall der Augen zur Erblindung führen kann. Die Schwere und die Anzahl der betroffenen Schleimhautstellen variiert, und die orale Form kann isoliert auftreten. In einer Umfrage im Vereinigten Königreich machte das okuläre Schleimhaut-Pemphigoid (OCP-Implikation) 61 % neu diagnostizierter Fälle von narbenbildender Konjunktivitis aus mit einer geschätzten Inzidenz von 0,8 pro eine Million Personen [804]. In Frankreich und Deutschland wurde eine Inzidenz von 1,3–2,0 berichtet [876,877].

Auf die genetische Anfälligkeit für OCP wird durch Assoziationen mit HLA B12, HLA A3, HLA-DR4 und HLA-DQB1\*0301 hingedeutet [878,879]. Zudem wurde auch von Assoziationen mit rheumatoider Arthritis [880] und Wegener'scher Granulomatose [881] berichtet. Die Erkrankung kann durch eine Operation ausgelöst oder verschlimmert werden [882], und MMP wird gelegentlich als eine Reaktion auf Medikamentenexposition berichtet.

Die Pathogenese von MMP umfasst einen Verlust der Immuntoleranz gegenüber Komponenten der epithelialen Basallamina und eine Antikörper-induzierte, komplementvermittelte Reaktion, die zur Epithelablösung führt [873]. Die Epithelablösung kann aus den zytotoxischen Auswirkungen von Entzündungsmediatoren oder aus der Freisetzung von lysosomalen Proteasen resultieren [883]. TGF $\beta$  spielen möglicherweise eine Rolle bei dem Vererbungsprozess [884].



**Abb. 12.** Ein schematisches Diagramm, das die Ätiologie und den Mechanismus der Meibom-Drüsen-Dysfunktion (MGD) zeigt. Obwohl viele mechanistische Aspekte noch nicht verstanden werden, wird in der Abbildung versucht, die aktuelle Ansicht zusammenzufassen. Im oberen Teil der Abbildung wird die Ätiologie der zwei Formen von MGD dargestellt, die zu der geringen Bereitstellung von Meibomöl führen, der narbigen und der nicht narbigen MGD. Mit fortschreitendem Alter kommt es zu einer Zunahme des Meibom-Drüsen-Ausfalls, insbesondere nach Erreichen eines Alters von 50 Jahren, was mit dem Auftreten der primären MGD korreliert. Ein Abfall der bioverfügbaren Androgene kann zu diesen Ereignissen beitragen. Im Jugendalter kann die Behandlung der Akne vulgaris mit *cis*-Retinsäure eine Drüsenatrophie und MGD induzieren, während in einer älteren Altersgruppe die Unempfindlichkeit oder Blockade von Androgenrezeptoren die Zeichen der MGD induzieren kann. Polychlorierte Biphenyle können eine systemische Störung verursachen, die MGD-artige Merkmale aufweist. Bestimmte Hautkrankheiten sind stark mit MGD assoziiert. Im Allgemeinen sind Akne rosacea, atopische Dermatitis, Seborrhea sicca und Psoriasis mit nicht narbenbildender MGD assoziiert, während narbenbildende konjunktivale Erkrankungen wie beispielsweise Trachom, Erythema multiforme und Pemphigoid zu narbenbildender MGD führen. Ein wichtiges Ereignis bei der nicht narbigen MGD ist die Hyperkeratinisierung der terminalen Ducti, die zur Obstruktion und Dilatation des Ductus und zur Inaktivitätsatrophie der Drüsen führt. Zu einem späteren Zeitpunkt kann es zu einem Verschluss der Öffnungen kommen. Die Obstruktion kann durch Veränderungen der Ölzusammensetzung, die die Viskosität des Meibums verstärkt, verschlimmert werden. Der Grad der entzündlichen Veränderungen im Bereich der betroffenen Drüsen variiert in verschiedenen Berichten, aber Entzündungszeichen am Lidrand sind häufig. Entzündungsmediatoren und Lipide können auf der Augenoberfläche freigesetzt werden und epitheliale Schädigungen verursachen. Bei der narbenbildenden MGD zieht die submukosale konjunktivale Narbenbildung die Meibomöffnungen, die terminalen Ducti und die mukokutane Verbindung nach hinten über die hintere Lidkante und auf die Tarsalplatte zu, wo die verengten und deplatzierten Ducti das Öl nicht mehr effektiv zur TFL leiten können. Eine reduzierte Meibumbereitstellung und Veränderungen der Ölzusammensetzung führen zur Tränenfilminstabilität, zu verstärkter Verdunstung und letztendlich zu EDE. Bei MGD mit geringer Abgabe von Meibom-Sekret können Symptome durch die lokale Erkrankung der Lider selber, durch die Liderkrankung mit Schädigung der Augenoberfläche und durch die evaporative KCS entstehen. Bei der Meibom-Seborrhö werden bei der Drüsenexpression reichhaltige Mengen Meibum aus den Drüsenöffnungen freigesetzt, was zu der Auffassung geführt hat, dass es sich hier um eine hypersekretorische Erkrankung handelt. Es gibt weniger Drüsenausfälle als bei der obstruktiven MGD, und die Zusammensetzung des Meibums weist deutliche Veränderungen auf. Sie ist mit seborrhöischer Dermatitis assoziiert und stellt keine Basis für EDE dar.

Es wurden Serum-Autoantikörper erkannt gegen: bullöse Pemphigoidantigene (BPAg) 1 und 2. Integrin-Untereinheiten  $\alpha 6/\beta 4$ , Laminin-5, Laminin-6 und Kollagen Typ I. BPAg2 und  $\alpha 6/\beta 4$ -Integrine sind Transmembranproteine, die durch Laminin-5 mit den epithelverankernden Fibrillen verbunden sind, die aus Kollagen des Typs VII bestehen. Diese Elemente sind für die Epithelanheftung wichtig. Die Diagnose von Schleimhaut-Pemphigoid oder OCP basiert auf dem klinischen Bild und dem durch direkte Immunfluoreszenzmikroskopie erbrachten Nachweis linearer Ablagerungen von IgG und/oder IgA und/oder C3 in der Basallamina in einem periläsionalen Biopsat.

Die Präsenz von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen und B-Zellen in konjunktivalen Infiltraten deutet auf die Beteiligung von Zellimmunität bei der OCP hin [884,885,886], wobei Th17-Lymphozyten eine prominente Rolle spielen [887]. Es wurde nachgewiesen, dass Langerhans-Zellen co-stimulatorische Moleküle für die T-Zellenaktivierung exprimieren (CD86<sup>+</sup>) [888,889], und Bindegewebs-Mastzellen werden als Schlüsselakteure im fibrotischen Prozess angesehen [890]. CD14<sup>+</sup>-Zellen unter CD45<sup>+</sup>-Zellen werden in der OCP-Konjunktiva ebenfalls gefunden [891].

Zudem wird angenommen, dass eine verstärkte Expression von Makrophagenkolonie-stimulierendem Faktor, Kollagen-bindendem Hitzeschockprotein 47, TGF- $\beta 1$  und IL-4 als Elemente angesehen sowohl die konjunktivale Entzündung als auch die Narbenbildung bei der OCP verstärkt [892–895]. In Übereinstimmung mit anderen entzündlichen Störungen der Augenoberfläche wurde ein Anstieg der Konzentrationen von MMP8, MMP9 und MPO in der Tränenflüssigkeit von OCP-Patienten [149,896] zusammen mit IL-8 nachgewiesen [896].

Zu den klinischen Merkmalen der OCP gehören eine progressive subepitheliale Fibrose, eine Fornixverkürzung, Symblepharon, Ankyloblepharon, die Obstruktion der Meibom-Drüsengänge und die KCS. Zusätzlich treten Entropium, Trichiasis und korneale Neovaskularisation und Narbenbildung auf. Die konjunktivale Fibrose ähnelt der, die bei der cGVHD und bei SJS/TEN zu beobachten ist. Sie kann in folgende Stadien eingeteilt werden: Stadium I – subepitheliale Fibrose, Stadium II – Fornixverkürzung, Stadium III – Symblepharon und Stadium IV – Ankyloblepharon und Oberflächenkeratinisierung [897].

Wie bei anderen betroffenen Schleimhäuten ist die auslösende

Ursache von OCP eine Trennung des Epithels vom darunterliegenden Stroma, gefolgt von subepithelialer Fibrose [898]. Ihre klinische Entwicklung verläuft langsam, und die Diagnose wird im Vergleich zu der von SJS/TEN verzögert, mit einem medianen Wert von 225 Tagen, die ab dem Einsetzen der Symptome vergehen, im Vergleich zu 7 Tagen für SJS/TEN [804]. Die Schwere kann bei beiden Augen unterschiedlich sein, aber die Erkrankung schreitet in der Regel zur bilateralen Beteiligung der

palpebralen und bulbären Konjunktiva fort [899]. Das Einsetzen der KCS erfolgt bei dieser Erkrankung relativ spät. Wie bei anderen Formen der narbenbildenden Konjunktivitis umfassen die beitragenden Faktoren die Obstruktion von Tränendrüsen- und Meibom-Drüsenkanälen, konjunktivalen Becherzellenverlust [435], geänderte Expression epithelialer Glykokalyxmuzine, epitheliale Keratinisierung und gestörte Tränenfilmausbreitung.

Tabelle 12

Entzündungsereignisse in der Konjunktiva bei Patienten mit hypovolämer Keratokonjunktivitis sicca.

Ereignis	Verwendete Technik			Befunde im Vergleich zu Kontrollen	Form der Keratokonjunktivitis sicca
	Durchflusszytometrie	IHC oder IF*	mRNA – Impressionszytologie		
Metaplasie		SPRR1 $\beta$	SPRR1 $\beta$ , SPRR2a, SPRR2 $\gamma$	Verstärkt	(Li et al., 2008, Kawasaki et al., 2003, Pflugfelder et al., 2015) SSDE [532,737,1175]
Entzündung			IL-1 $\alpha$ und $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ und TGF- $\beta$ 1	Verstärkt	Pisella et al., 2000, Jones et al., 1998, Jones et al., 1994) SSDE [471,1176,1177]
		MUC1		Verringert	(Yoon et al., 2007) SSDE [466]
		IL-6		Verstärkt	(Zhang et al., 2016) NSDE [1178]
		IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$	IL-8, Ephrin	Verstärkt	(Narayanan et al., 2006) Moderate DED [1179]
Immunaktivierung			IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ und TGF- $\beta$ 1	Verstärkt	(Pflugfelder et al., 1999) SSDE [1180]
			HLA-DR		(Kawasaki et al., 2003, Jones et al., 1994) SSDE [1175,1177]
Reaktion der T-Zellen	HLA-DR +-Zellen	CD11c + HLA-DR+		Verstärkt bei Patienten, verringert nach Behandlung	(Epstein et al., 2013, Baudouin et al., 2002, Baudouin et al., 2005, Brignole et al., 2000, Brignole et al., 2001, Sheppard et al., 2013, Pisella et al., 2000, Tsubota et al., 1999a, Tsubota et al., 1999b, Rolando et al., 2005, Kunert et al., 2000) SSDE and NSDE [471,1181-1190]
	CD4+CXCR3 +-Zellen	HLA-DR CXCL9, -10 und -11 und CXCR3		Verstärkt Verstärkt	(Versura et al., 2011) NSDE [1191] (Yoon et al., 2010) SSDE and NSDE [1192]
	CD4+CCR5+-Zellen		CCR5	Verstärkt	(Choi et al., 2012, Baudouin et al., 2005) SSDE and NSDE [468,1190]
Immunzellen-Trafficking		IFN- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ R, IL-13, IL-13R, MUC5AC		Verstärktes IFN- $\gamma$ und IFN- $\gamma$ R; keine Änderung bei IL-13 und seinem Rezeptor, verringertes MUC5AC	(Pflugfelder et al., 2015) SSDE [532]
			IL1 $\beta$ , IL-6, IL-23, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , MMP-9, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2	Verstärkt	Chotikavanich et al., 2009, de Paiva et al., 2009) SSDE and NSDE [316,456]
	ICAM-1		ICAM-1	Verstärkt	(Pisella et al., 2000) SSDE [471] (Tsubota et al., 1999b, Tsubota et al., 1999a) DE [1186,1187] (Jones et al., 1994) SSDE [1177] (Narayanan et al., 2006) NSDE [1179]
MMP-Produktion		MMP-9	MMP-9	Verstärkt	(Uchino et al., 2015, Chotikavanich et al., 2009, de Paiva et al., 2009, Gurdal et al., 2010) SSDE and NSDE [155,316,456,1193]
			MMP-9, Transglutaminase 2	Verstärkt	(Aragona et al., 2015) SSDE [1194]
Oxidative Belastung		HEL, 4NE		Verstärkt	(Wakamatsu et al., 2013) SSDE [1195]
		Peroxidationsmarker		Verstärkt	(Choi et al., 2016) NSDE [1196]
		ROS-Generation XO		Verstärkt	(Cejkova et al., 2007) SSDE [1197]
		ROS-Reinigung SOD, Cat, GP		Verringert	(Cejkova et al., 2008) SSDE [1198]
ER-Belastung			GPR78, sXBP1	Verstärkt	(Coursey et al., 2016) SSDE [1199]
Sonstiges			hBD2 hBD1, hBD3	Verstärkt Keine Änderung	(Narayanan et al., 2003) NSDE [1200]
			KLK7, CXCL9	Verstärkt	(Kawasaki et al., 2003) SSDE [1175]
			Aquaporin 3; IFN- $\gamma$ R	Verringert	(Kawasaki et al., 2003) SSDE [1175]

Schlüssel: \* = Biopsie oder Impressionszytologie; IHC = Immunhistochemie; IF = Immunfluoreszenz; Cat = Katalase; hBD = humane Defensine; GP = Glutathionperoxidase; NSDE = trockenes Auge ohne Vorliegen von Sjögren-Syndrom (non-Sjögren-Syndrom dry eye); SSDE = trockenes Auge bei Sjögren-Syndrom (Sjögren-Syndrom dry eye); SOD = Superoxiddismutase; SPRR = kleine prolinreiche Proteine (small proline-rich proteins); XO = Xanthinoxidoreduktase/Xanthinoxidase; SOD; KLK7 = Kallikrein 7; GPR78 = 78 kDa Glukose-reguliertes Protein; sXBP1 = verbundenes X-Box-Bindungsprotein-1 (spliced X-box-binding protein-1). Weitere Abkürzungen sind im Text zu finden. Eine detaillierte Liste von Biomarkern, die bei der Keratokonjunktivitis sicca in der Tränenflüssigkeit berichtet werden, ist im Bericht des Unterausschusses für Tränenfilm zu finden.



9.2.4.5. *Pemphigus*. Pemphigus ist eine potentiell tödliche, bläschenbildende Autoimmunerkrankung der Haut und Schleimhäute mit einer Inzidenz von 0,1–0,5 Patienten pro 100.000 Personen pro Jahr. In der Kindheit ist sie selten [900]. Sie ist der Bildung von pathogenen Autoantikörpern geschuldet, die gegen desmosomale Proteine gerichtet ist, die an der interzellulären Adhäsion beteiligt sind. Pemphigus vulgaris (PV), die häufigste Variante, ist durch zirkulierende IgG-Antikörper gegen Desmoglein 3 (Dsg3) und bei etwa der Hälfte der Patienten gegen Dsg1 charakterisiert [901,902].

Die charakteristischen okulären Befunde bei PV sind Konjunktivitis mit Hyperämie und mukoider Ausfluss [900]. Konjunktivale Bläschen, Erosionen und Symbblepharon sind selten, obwohl in konjunktivalen Biopsaten ähnliche histopathologische und direkte Immunfluoreszenzbefunde wie bei Hautbiopsien nachgewiesen werden können [903]. Obwohl die okulären Manifestationen von Pemphigus vulgaris oralen Läsionen oder Hautläsionen um mehrere Tage bis Monate vorausgehen können, sind Augenfolgeschäden in der Regel schwächer als bei der OCP, und die Symptome bessern sich üblicherweise mit der Einleitung einer systemischen Therapie. Es kann sein, dass die selbstbegrenzende Art der okulären Veränderungen bei Pemphigus im Vergleich zu OCP mit der Nichtbeteiligung der Basallamina verbunden ist [1210].

9.2.4.6. *Trachom*. Trachom ist eine chronische, narbenbildende Keratokonjunktivitis, die durch rezidivierende Infektionen mit *Chlamydia trachomatis* in der Kindheit ausgelöst wird. Die narbenbildenden Komplikationen, die weltweit eine Ursache für Erblindung darstellen, treten in der Regel nur im Erwachsenenalter auf und beinhalten eine Hornhauttrübung, die sich aus tarsaler und konjunktivaler Narbenbildung, Limbusstammzellen-Defizienz und Trichiasis ergibt. KCS ist Teil des Gesamtbildes und resultiert aus der Obstruktion der Tränenrüsengänge, dem Becherzellenverlust, einer narbigen Meibom-Drüsenobstruktion und einer Malapposition des Lids [904]. Bei der chronischen Erkrankung ist die Lidverdickung auf ein fibröses Subepithelblatt neben der Tarsalplatte zurückzuführen [905], dessen Quantifizierung durch Konfokalmikroskopie *in vivo* (in vivo confocal microscopy, IVC) gut mit histologischen Befunden korreliert [906]. Ein variabler Grad von Meibom-Drüsenatrophie wurde von Al-Rajhi berichtet [905]. Es scheint keine systematische Studie zur Entwicklung von narbenbildenden Tränen- oder Meibom-Drüsenveränderungen durchgeführt worden zu sein.

9.2.4.7. *Schädigung durch Chemikalien*. Versehentliche oder absichtliche Schädigung der Augen durch Chemikalien, z. B. durch Exposition gegenüber Säuren und Laugen, sind eine bedeutende Ursache für chronische, symptomatische Sehbeeinträchtigung, einschließlich Verlust der Sehkraft, die bis zur Blindheit führen kann. Sie ist die Grundlage für eine erhebliche persönliche Tragödie. Bei einer umfassenden Verletzung können die Auswirkungen von Entzündung und Gewebeerstörung durch KCS aufgrund von Schädigungen der Meibom-Drüse und der Augenoberfläche sowie Obstruktion der Tränensekretion verschlimmert werden. Die Wichtigkeit in Zahlen wird durch eine populationsbasierte Studie angezeigt, die über einen Zeitraum von 2 Jahren in den USA durchgeführt wurde und einen Mittelwert von 15.865 neuen Chemikalienverbrennungen pro Jahr verzeichnete,

was eine Inzidenzrate von 51,10 neuen Fällen pro Million Personen pro Jahr ergab [907]. Bei einer globalen Projektion dieser Zahl wurde vorhergesagt, dass weltweit mindestens 357.710 Verbrennungsunfälle pro Jahr stattfinden würden.

Dies ist in sich selbst ein wichtiges Thema und wird von diesem Unterausschuss nicht im Detail besprochen; der Leser wird nur auf mehrere hervorragende Besprechungen der Pathophysiologie, Klassifizierung und des Einflusses des topographischen Umfangs und der Schwere auf die Prognose hingewiesen [908–912]. Aktuelle Ansätze verlassen sich insbesondere auf eine Untersuchung des Ausmaßes der limbalen Schädigung und des Ausmaßes und der Tiefe der kornealen Schädigung [910,911]. Gupta et al. schlussfolgerten, dass die Unterteilung der Schädigung IV. Grades in weitere 3 Untergruppen durch Dua [910] einen größeren prädiktiven Wert als die Roper-Hall-Methode hatte [912]. Obwohl allgemein anerkannt ist, dass die KCS, die einer umfassenden Schädigung durch Chemikalien folgt, zu der schlechten Prognose beiträgt, wurde dieser Beitrag formell nur wenig untersucht [913]. Das Thema würde von einer longitudinalen, multizentrischen Studie profitieren.

### 9.3. *Hyposekretorische Zustände durch Ausfall der lakrimalen Funktionseinheit*

Dieser Abschnitt behandelt die KCS aufgrund von Tränenhyposekretion im Gegensatz zu der KCS aufgrund von organischer Erkrankung der Tränenrüse. Beim gesunden Auge unterliegt die Tränensekretion der Kontrolle der LFU mit zusätzlichen Eingangssignalen aus höheren Zentren. Die sekretorische Reaktion hängt daher von der Integrität der afferenten und efferenten Glieder des Reflexbogens ab. Der Einfluss des Versagens eines solchen Reflexes auf die Sekretion der Konjunktiva und der Meibom-Drüsen ist unklar. Der Beitrag des LFU-Ausfalls zu der KCS wird nachfolgend erwogen.

#### 9.3.1. *Reflexafferenter Block*

Die Tränenproduktion unterliegt neutraler Regulierung, und eine Veränderung der trigeminalen Eingangssignale von der Kornea kann durch das Blockieren der Sekretion von lakrimalen Proteinen, Elektrolyten und Wasser eine KCS verursachen [13]. Korneale Nervenenden üben auch eine Reihe von trophischen Funktionen aus, die die epitheliale Zellproliferation und/oder Migration [914–916] und möglicherweise die Immunregulierung unterstützen. Ein Verlust des sensorischen Reizes kann auf mehrere Arten zustande kommen.

9.3.1.1. *Anwendung topischer Anästhetika*. Bilateral topisch angewendetes Proparacain verringert die Lidschlagfrequenz um etwa 30 % und die Tränensekretion um 60–75 % aufgrund eines Mangels an trigeminaler, sensorineuraler Stimulation [217]. Die chronische Anwendung und der Missbrauch von topischen Anästhetika kann zu permanenter Schädigung der Kornea führen, die zu Hornhauttrübung, -schmelzung und -perforation führt [917]. Es wird angenommen, dass die KCS mindestens aufgrund des Tränenmangels und der reduzierten Lidschlagfrequenz zu diesen Veränderungen beiträgt, aber ein Verlust trophischer Nervenfunktionen und direkte Toxizität sind wahrscheinlich zusätzliche Faktoren.

9.3.1.2. *Schädigung des Trigemini-nervs.* Schädigungen des Trigemini-nervs durch chirurgische oder unfallbedingte Verletzung können an jeder beliebigen Stelle entlang des Nervenverlaufs vom Trigemini-nucleus, der Wurzel oder dem Ganglion, über seinen ophthalmischen Zweig bis zur Augenoberfläche auftreten. Die Schwere der Auswirkungen auf das Auge hängt vom Umfang der Schädigung ab.

9.3.1.3. *Refraktive Chirurgie.* Komplikationen aufgrund einer Unterbrechung der kornealen sensorischen Innervation sind ein Merkmal der refraktiven Chirurgie wie beispielsweise die photorefraktäre Keratoplastie (PRK) und die Laser-in-situ-Keratomileuse (LASIK) [918], und sie sind zum Teil das Ergebnis einer reduzierten Tränensekretion [259,919], einem Rückgang der Lidschlagfrequenz [259,920], einem Verlust der trophischen Unterstützung [921] und von Veränderungen der Tränenzusammensetzung und -stabilität [922]. Das klinische Syndrom von Schmerzen und Keratopathia superficialis punctata auf dem Flap wurde in der Vergangenheit und wird auch heute noch als LASIK-KCS bezeichnet. Sie tritt bei bis zu 60 % der Patienten im ersten Monat nach der Operation auf, und ihre Schwere nimmt im Verlauf von 6–12 Monaten ab [923,924]. Von einem Beobachter wurde Tränenhyperosmolarität dokumentiert [925]. Keratopathia superficialis punctata auf dem Flap, die aber den Bereich des Scharniers ausspart, unterstützt die Annahme, dass sensorische Denervierung und neuropathisches Feuern geschädigter sensorischer Nervenenden eine kausale Rolle spielen; die Bezeichnung dafür lautet LASIK-induzierte-Neuro-Epitheliopathie oder LINE laut Wilson [926]. Es wird auch zur Diskussion gestellt, dass NGF und andere Neuropeptide wie Substanz P oder CGRP Schlüsselfaktoren für das Syndrom sein können [918]. Die zwei Ideologien schließen sich nicht gegenseitig aus, und es ist wahrscheinlich, dass LASIK-KCS und LINE zusammen auftreten können, in welchem Fall ein Hinweis auf die Präsenz von KCS die punktförmige Epitheliopathie ist, die sowohl den LASIK-Flap als auch die Kornea/Konjunktiva außerhalb des Flaps in einer Verteilung betrifft, die typisch für die KCS ist. Weitere Informationen sind in den Berichten des Unterausschusses für iatrogenes trockenes Auge und Schmerz und Empfindung zu finden.

9.3.1.4. *Neurotrophische Keratitis.* Neurotrophische Keratitis (NK) ist eine seltene Erkrankung der Kornea, die durch Störung der kornealen sensorischen Innervation verursacht wird. Die Krankheit wird durch verringerte oder nicht vorhandene korneale Empfindlichkeit in Kombination mit einer extensiveren Anästhesie des Augapfels charakterisiert und umfasst mindestens das Oberlid und die Nasenschleimhaut. Die Schwere der neurotrophen Keratitis reicht von Keratopathia superficialis punctata, Hornhauttrübung mit oberflächlicher Neovaskularisation, schwerer Entzündung und Epithelverlust bis hin zu persistierendem Epitheldefekt und therapiefraktärer Ulzeration, die zur Perforation fortschreiten kann [927]. Da das Auge unempfindlich ist, kann die Diagnose verzögert werden. Obwohl zahlreiche okuläre und systemische Erkrankungen eine neurotrophe Keratitis verursachen können, ist die häufigste Ursache eine Virusinfektion, insbesondere die Herpes-Zoster-Keratokonjunktivitis und selten die Herpes-simplex-Keratitis. Sie kann auch durch Nervenkompression verursacht

werden. Heutzutage ist es ein weniger häufig auftretendes Ergebnis nach einem chirurgischen Eingriff wegen Trigemini-neuralgie.

Wenn der ophthalmische Abschnitt des Nervus trigeminus durch H. Zoster beeinträchtigt wird, ist die Beeinträchtigung des nasociliaren Zweigs des Nervus ophthalmicus, die durch einen zosteriformen Ausschlag an der Nasenwurzel angekündigt wird, ein Risikofaktor für Herpes Zoster Ophthalmicus (HZO) [928]. KCS ist ein wichtiges Merkmal. In einer Studie zu neurotropher Keratitis aufgrund von HZO betraf der Empfindungsverlust die Kornea, das Oberlid und die Augenbraue auf der betroffenen Seite sowie die Nasenschleimhaut, wie durch einen Verlust des nasolakrimalen Reflexes angezeigt [255]. Eine diffuse Keratopathia superficialis punctata und ein deutlicher Rückgang der Reflextränenproduktion traten auf, wobei Letzteres zu einem Verlust des sekretomotorischen Reizes von sowohl der ipsilateralen Kornea als auch der Nasenschleimhaut beitrug. Es wurde die These aufgestellt, dass ein geringerer Rückgang der Reflextränenproduktion auf der gegenüberliegenden Seite und ein geringerer Grad kornealer Färbung einer Reduzierung der Lidschlagfrequenz und einer Auswirkung von Kreuzinnervierung auf die Tränenproduktion im anderen Auge geschuldet war [255]. Es ist relevant, dass bei solchen Patienten mit HZO ohne neurotrophe Keratitis der nasolakrimaler Reflex intakt war.

Ein Verlust trophischer Unterstützung wird als ein Merkmal neurotropher Keratitis angesehen. Solche trophischen Faktoren, die die epitheliale Proliferation und Differenzierung und die Heilung der Kornea fördern [929], werden durch die kornealen Nerven und im Epithel exprimiert und umfassen den Nervenwachstumsfaktor (Nerve Growth Factor, NGF), SP, CGRP, NPY und den Insulinartigen Wachstumsfaktor (Insulin-like Growth Factor, IGF-1). Diese werden in dem Bericht des Unterausschusses für Schmerz und Empfindung eingehender besprochen.

Unter klinischen Gesichtspunkten war die Kombination aus IGF-1 und einem von SP abstammenden Peptid vielversprechend für die Behandlung neurotropher Keratitis [930], und in einer weiteren vorläufigen Studie war die topische Anwendung von murinem NGF bei der Heilung der Kornea und der Wiederherstellung der kornealen Empfindlichkeit bei 12 Patienten mit neurotropher Keratitis wirksam [931]. Dies wurde später bei einer größeren Gruppe von Patienten mit mäßiger bis schwerer neurotropher Keratitis bestätigt [932]. Eine klinische Studie zu neuen hrNGF-Augentropfen läuft zurzeit mit Patienten mit mäßiger bis schwerer neurotropher Keratitis sowohl in Europa als auch in den USA.

9.3.1.5. *Das Tragen von Kontaktlinsen.* Bei Kontaktlinsenträgern können Augenbeschwerden, die häufig als Trockenheit interpretiert werden, sowie ein variabler Grad verringerter kornealer Empfindung auftreten. Das Thema wird in dem TFOS-Workshop zu Beschwerden beim Tragen von Kontaktlinsen behandelt [933], und weitere Kommentare sind in dem Bericht des Unterausschusses für iatrogenes trockenes Auge zu finden.

### 9.3.2. Sekretomotorische Blockade

9.3.2.1. *Parasympathische Schädigung.* Eine Schädigung der parasympathischen Innervation der Tränendrüse kann in der Folge einer Verletzung des Nervus intermedius während eines chirurgischen Eingriffs wegen vestibulärer Schwannome im

Kleinhirnbrückenwinkel auftreten. Ein assoziierter Lagophthalmus aufgrund der Schädigung des siebten Hirnnervs kann die sich daraus ergebende KCS verschlimmern [934]. Es wurde auch von der KCS als eine Konsequenz von Schwannomen, die den großen oberflächlichen Felsenbeinnerv betreffen, oder von einer Verletzung des Nervs zum Zeitpunkt ihrer Entfernung berichtet [935,936].

**9.3.2.2. Pharmakologische Inhibition der Tränensekretion.** Es wurde von einer großen Anzahl systemischer Medikationen berichtet, die Risikofaktoren für die KCS darstellen, dazu gehören Antidepressiva, Anticholinergika, Antipsychotika, Antispasmodika und Antihistaminika sowie Chemotherapeutika, Antihypertonika, Antiarrhythmika, Thyreostatika und opioide Analgetika [937,938]. Diese Medikamente werden bei älteren Patienten zur Behandlung von häufig auftretenden Erkrankungen eingesetzt, wie z. B. Depression, Morbus Parkinson und Arthritis. Ungefähr 76 % aller Amerikaner im Alter von 60 Jahren oder darüber haben in den Jahren 2007 und 2008 zwei oder mehr verschreibungspflichtige Medikamente und 37 % haben mindestens fünf solcher Medikamente angewendet [939]. Eine weitere Studie zeigte zudem, dass Patienten, die Dekongestiva, Antihistaminika und Vitamine einnehmen, eine höhere Inzidenz von KCS aufweisen [940]. Zusätzlich darf angenommen werden, dass die Prävalenz von KCS durch Berichterstattung in klinischen Studien möglicherweise unterschätzt wird.

Ein vollständiger Bericht zu iatrogenen KCS ist in dem Bericht des Unterausschusses für iatrogenes trockenes Auge enthalten.

### 9.3.2.3. Kombiniertes afferentes und efferentes Block

**9.3.2.3.1. Familiäre Dysautonomie.** Die familiäre Dysautonomie (Riley-Day-Syndrom) ist eine autosomal-rezessive Erkrankung aufgrund von Mutationen in einem Gen, das ein I $\kappa$ B-Kinase-assoziiertes Protein kodiert [941]. Lakrimale Dysfunktion, KCS und korneale Schädigung sind Hauptmerkmale der Erkrankung, bei der eine allgemeine Unempfindlichkeit gegenüber Schmerzen, die von Geburt an vorhanden ist, mit einem deutlichen Mangel der Produktion von sowohl emotionalen Tränen als auch Reflextränen einhergeht. Es gibt einen fortschreitenden Defekt in der zervikalen sympathischen und parasympathischen Innervation der Tränendrüse und der sensorischen Innervation der Augenoberfläche, die sowohl kleine myelinisierte (A $\delta$ ) und nicht myelinisierte (C) Trigeminalneuronen betrifft.

## 9.4. Sonstige Erkrankungen

### 9.4.1. Meige-Syndrom: Blepharospasmus und trockenes Auge

Im Grunde genommen ist der Blepharospasmus eine Erkrankung, die durch spontane, exzessive, intermittierende oder konstante Kontraktion der periorbitalen Muskeln, hauptsächlich des *Musculus orbicularis oculi*, charakterisiert ist, die ohne sonstigen neurologischen oder ophthalmologischen Grund auftritt [942]. Beim Meige-Syndrom sind die Spasmen erweitert und umfassen andere Gesichtsmuskeln, die Zunge, den Pharynx und die Halsmuskulatur. Die Ursache für Blepharospasmus ist unbekannt, aber die Erkrankung kann manchmal durch Medikamente ausgelöst oder mit einer Gehirnerkrankung assoziiert sein. Es gibt mehrere Berichte, die auf eine Beziehung zwischen Blepharospasmus und KCS hindeuten [943,944]. Es wird auch

berichtet, dass 57 % der Fälle von behandlungsresistenter KCS mit einem Meige-Syndrom assoziiert sind [945]. In der Vergangenheit wurden orale psychotropische Medikamente oder eine Resektion des *Musculus orbicularis oculi* erfolgreich angewendet [942,946–948], aber in den letzten Jahren wurde die lokale Injektion von Botulinumtoxin als wirksamste Behandlung angesehen [944,947,949].

### 9.4.2. Diabetes mellitus

Patienten mit Diabetes klagen über KCS-Symptome. Es gibt Evidenz dafür, dass Tränenfilmparameter bei Patienten mit Diabetes verändert sind, dies umfasst eine Reduzierung der Tränenfilmaufrisszeit und der Tränensekretion [950]. Es wurde auch festgestellt, dass Zeichen und Symptome der KCS mit dem Grad der peripheren Neuropathie und der Schwere der diabetischen Retinopathie korrelieren [951]. Zu den Faktoren, von denen angenommen wird, dass sie zu der reduzierten Tränenproduktion bei Diabetes beitragen, gehören mikrovaskuläre Schädigungen der Tränendrüse aufgrund von Hypoglykämie, reduzierte lakrimale Innervation aufgrund autonomer Neuropathie, Reduzierung der trophischen Unterstützung für Tränengewebe und reduzierte Reflextränenbildung aufgrund einer Störung der kornealen Empfindlichkeit [951]. Die Reduzierung der Tränenfilmstabilität und TBUT ist wahrscheinlich auf die reduzierte Muzinproduktion durch Becherzellen zurückzuführen. Es wird angenommen, dass die Becherzellendichte von der kornealen Innervation abhängt, und es wurde beobachtet, dass Reduzierungen der kornealen Innervation die Becherzellenfunktion herabsetzen [952]. Dies wird auch als eine Folge von Post-LASIK-KCS angesehen [918]. (Siehe auch den Bericht des Unterausschusses für Sexus, Geschlecht und Hormone.)

### 9.4.3. Pseudoexfoliation

Das Pseudoexfoliationssyndrom (PEX) ist eine Störung der Basallamina, die bei steigendem Alter häufiger auftritt und durch die Ansammlung von Klumpen von Mikrofibrillen auf der Oberfläche von Linsenkapsel, Ziliarkörper, Iris, Trabekelwerk und Konjunktiva charakterisiert ist [953,954]. Bei PEX-Patienten waren sowohl die Schirmer-Testergebnisse als auch die Tränenfilmaufrisszeit im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant niedriger bzw. kürzer [955]. Die Anzahl von Becherzellen pro Flächeneinheit der Konjunktiva unterschieden sich nicht von den Kontrollen, aber unter Elektronenmikroskopie wurden im Stroma von PEX-Patienten typische Pseudoexfoliationsfilamente sowie bemerkenswerte Veränderungen bei der Muzinverpackung und der Becherzellenmorphologie beobachtet [956].

## 10. Evaporatives trockenes Auge

### 10.1. Einführung

Wie bereits angemerkt sind alle Formen der KCS evaporativ, also durch Verdunstung bedingt, in dem Sinne, dass Tränen- und Augenoberflächen-Hyperosmolarität nur in Reaktion auf Verdunstung auftreten kann. Ein hyperevaporativer Verlust bedeutet, dass die Rate des Verdunstungsverlusts pro Flächeneinheit der Augenoberfläche über dem normalen Bereich liegt, der bei einer Person gemessen wird, die unter Standardraumbedingungen ohne DES-Exposition spontan blinzelt.

Laut dem TFOS DEWS Report[1] entsteht das EDE als Ergebnis eines Verlusts der Verdunstungsbarrierefunktion der Tränenflüssigkeit oder aufgrund einer reduzierten Benetzbarkeit der Augenoberfläche. Dies hat zu einer Unterklassifizierung in Lid-bezogenes EDE und Augenoberflächen-bezogenes EDE geführt. Die zuletzt genannte Form des EDE stellt einen klaren Eintrittspunkt in den Circulus vitiosus dar, bei dem Tränenfilminstabilität, die zu einem Aufreißen des Tränenfilms im Lidschlagintervall (und einem OPI von < 1) führt, der Auslöser der Tränenhyperosmolarität ist. Die Existenz hybrider Formen der KCS, die eine Verdunstungskomponente umfassen, wird an anderer Stelle in dem Bericht besprochen und in [Tabelle 13](#) zusammengefasst.

## 10.2. Lid-bezogenes evaporatives trockenes Auge (intrinsisches EDE)

### 10.2.1. Altersbedingte Veränderungen der Meibom-Drüsen

Es besteht allgemeine Übereinstimmung darüber, dass Meibom-Drüsen-Azini mit steigendem Alter verloren gehen. Arita untersuchte den Meibom-Drüsenverlust mithilfe von kontaktloser Infrarot-Meibographie bei 236 gesunden Freiwilligen im Alter von 4 bis 98 Jahren [957]. Der Drüsenausfall wurde als ein kombinierter Meiboscore für die Ober- und Unterlider eines Auges angegeben. Es gab nur wenige Veränderungen der Meibom-Drüsen bei Männern und Frauen im Alter von unter 20 Jahren, wonach ein signifikanter Ausfall mit fortschreitendem Alter, aber ohne statistische Unterschiede zwischen den Geschlechtern stattfand. Den et al. [958] berichteten, dass der Meibom-Drüsenausfall-Score nach dem Alter von 40 Jahren positiv wurde, und eine ähnliche Beobachtung wurde auch von Mathers et al. berichtet [763], der zudem eine Veränderung der Exprimierbarkeit von Meibum in Übereinstimmung mit obstruktiver MGD beobachtete.

Villani et al. [390] zeigten mithilfe von OCT einen altersbedingten Rückgang der Anzahl der Azini und des Azinusdurchmessers mit steigendem Alter, zusammen mit einer verstärkten Sekretionsreflektivität und Veränderungen der Azinuswand in einer Studie mit 100 asymptomatischen Studienteilnehmern im Alter von 20–83 Jahren. Die Veränderungen waren bei Männern und Frauen ähnlich und gingen nicht mit Veränderungen der Drüsenöffnungsgrößen einher. Sie waren am deutlichsten im Alter von 50 und 60 Jahren, was im Kontrast mit den Ergebnissen von Arita et al. [959] stand, die mithilfe von Meibographie einen gewissen Ausfall ab dem Alter von 20 Jahren beobachteten. Histopathologische Studien von Obata et al. [624] unterstützen das Auftreten von Azinusatrophie ohne Azinusdilatation, was sich von dem Ergebnis der obstruktiven Erkrankung unterscheidet.

Solche Studien deuten darauf hin, dass der Verlust von Meibom-Azini mit steigendem Alter einerseits durch eine primäre, altersbedingte, nicht-obstruktive Azinusatrophie und andererseits durch obstruktive MGD verursacht sein kann. Dies stimmt mit den Beobachtungen von Nien et al. [960] auf der zellulären Ebene reduzierter Meibozytendifferenzierung und eines reduzierten Zellzyklus überein, zusammen mit einer reduzierten Expression des Lipogenesefaktors, des Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptors gamma (PPAR  $\gamma$ ) bei Teilnehmern im Alter von über 50 Jahren. Es gibt zudem bekannte, altersbedingte Veränderungen der polaren und neutralen Meibum-Lipidzusammensetzung [627]. In diesem Artikel wird auch berichtet, dass mit der Alterung bei

Männern und Frauen auch eine signifikante Zunahme von Augenliderythem, Telangiektasie, Schorfbildung, Keratinisierung, unregelmäßigen posterioren Kanten, Meibom-Drüsenöffnungs-Metaplasie und Trübung des Meibom-Drüsensekrets einherging. Sowohl die einfache Atrophie als auch die obstruktive MGD könnten potentiell die Basis für eine reduzierte Bereitstellung von Meibum bei Alterung, nicht aber eine Ursache für die Tränenendfunktion bilden.

### 10.2.2. Der Einfluss von Geschlechtshormonen auf die Meibom-Drüsenfunktion

Die Meibom-Drüsenfunktion wird durch Geschlechtshormone, insbesondere Androgene, stark beeinflusst (siehe den Bericht des Unterausschusses für Sexus, Geschlecht und Hormone). Kurz gesagt stimulieren Androgene die Synthese und Sekretion von Lipiden durch die Meibom-Drüse und unterdrücken die Expression von Genen, die mit der Keratinisierung in Verbindung stehen [36,49,653,961,962]. Entsprechend ist eine Defizienz der Androgenwirkung, wie sie beim Altern, bei Sjögren-Syndrom, bei einer Antiandrogenbehandlung und beim Syndrom der vollständigen Androgenunempfindlichkeit auftritt, mit der Meibom-Drüsendysfunktion, veränderten Meibumlipidprofilen und der Evidenz einer verringerten Tränenfilmstabilität assoziiert [36,622,623,628]. Der Einfluss von Geschlechtshormonen und sonstigen Hormonen auf die Funktion und Erkrankung von Meibom-Drüsen wird umfassend im Bericht des Unterausschusses für Sexus, Geschlecht und Hormone behandelt.

### 10.2.3. Meibom-Drüsen-Dysfunktion

Der Begriff Meibom-Drüsen-Dysfunktion (meibomian gland dysfunction, MGD) wurde 1981 von Korb und Henriquez vorgestellt und bereits seit vielen Jahren zur Identifikation der häufigsten Ätiologie von EDE und zur Unterscheidung von anderen Erkrankungen der Meibom-Drüsen verwendet [963,964]. Er ist in der Literatur wohl etabliert und bietet eine geeignete Bezeichnung für eine gut charakterisierte Erkrankung. Es ist möglich, dass sie in ihren frühesten Stadien die Form einer Funktionsstörung annimmt, die die Bereitstellung von Meibomöl zur Lidkante stört, aber in der sich klinisch präsentierenden Form ist sie ein Erkrankungszustand, der pathologische Modifikationen an der Drüse beinhaltet, die möglicherweise nicht umkehrbar sind. Der Begriff *obstruktive* MGD wurde von Mathers geprägt [965]. Eine hervorragende Abhandlung der Geschichte und des Konzepts der MGD und ihrer Beziehung zu anderen Formen der Blepharitis wurde von Blackie und Korb veröffentlicht [184].

**10.2.3.1. Zustand der Meibum-Hypersekretion – Meibom-Seborrhö.** Die MGD wurde in eine hypersekretorische und eine hyposekretorische Form unterteilt ([Abb. 12](#)). Die Prävalenz der hypersekretorischen Form wurde nicht berichtet, aber es ist wahrscheinlich, dass sie nicht häufig auftritt. Sie wird als *Meibom-Seborrhö* bezeichnet [966] und ist in Verbindung mit seborrhoischer Dermatitis und Rosacea anzutreffen. Die Diagnose wurde auf der Basis der manuellen *Expression* hoher Meibumvolumina aus betroffenen Drüsen gestellt, und die Schlussfolgerung, dass es sich um einen hypersekretorischen Zustand der Meibom-Drüse handelt, ist eine Annahme, die noch bestätigt werden muss. Es wäre von Wert, bei Patienten, denen eine Meibom-Seborrhö zugeschrieben wird,

nachzuweisen, dass der Zustand der hochvolumigen Exprimierbarkeit über einen längeren Zeitraum hinweg bestehen bleibt. Derzeit gibt es keine zuverlässigen Methoden zur Evaluierung der Sekretion der Meibom-Drüsen, aber die TFLL-Dicke war in einer Gruppe von Patienten mit KCS, die mit hypersekretorischer MGD und Lidkantenentzündung assoziiert war, signifikant erhöht [967]. Ein kausaler Zusammenhang zwischen hypersekretorischer MGD und KCS ist nicht etabliert.

*10.2.3.2. Zustand der Meibom-Hyposekretion – obstruktive Meibom-Drüsen-Dysfunktion.* Meibom-Drüsen-Dysfunktion ist die häufigste Ursache einer Meibom-Hypersekretion, deren Hauptursache eine obstruktive Erkrankung ist. Die obstruktive MGD ist die häufigste Ursache für EDE [37,180,968], und es wird angenommen, dass das MGD-abhängige EDE die häufigste Form der KCS insgesamt ist [36,376,506,969,970,1066,1211,1212]. Bei dem TFOS-Workshop zur MGD vor kurzer Zeit wurde sie wie folgt definiert, und weitere Einzelheiten sind in diesem Bericht zu finden [36,506,970]: „Meibom-Drüsen-Dysfunktion (MGD) ist eine chronische, diffuse Anomalität der Meibom-Drüsen, die häufig durch eine Obstruktion der terminalen Ducti und/oder qualitative oder quantitative Veränderungen der Drüsensekretion charakterisiert ist. Dies kann zu einer Veränderung des Tränenfilms, zu Symptomen von Augenreizung, zu klinisch apparenter Entzündung und zur Augenoberflächenerkrankung führen“.

MGD kann primär oder sekundär auftreten. Die primäre MGD tritt spontan auf und hat keine bekannte Krankheitsassoziation. Ihre Prävalenz erhöht sich mit dem Alter. Bei der sekundären MGD gibt es eine solche Assoziation, zum Beispiel mit Augenliderschlagung [971] und Augenlidtätowierung [544]. Insbesondere kann die MGD regelmäßig als Begleiterscheinung bei bestimmten Hauterkrankungen wie Rosacea, atopischer und seborrhoischer Dermatitis, Psoriasis und Ichthyose auftreten [966,972] und sie kann durch eine entzündliche Erkrankung der Augenlider und der Augenoberfläche durch Chemikalienexpositionen ausgelöst werden, unter anderem durch topische Glaukommedikamente, die Benzalkoniumchlorid enthalten. Auf welche Art MGD zur KCS beiträgt und wie sie durch diese verstärkt wird, wird von Baudouin et al. [385] besprochen.

Es gibt narbige und nicht-narbige Formen von MGD [37].

*10.2.3.2.1. Narbige MGD.* Bei der primären, narbigen MGD resultiert die Ductusobstruktion aus der Verlängerung, Dehnung und Verengung der terminalen Ducti, sodass jede Öffnung und der zugehörige Ductus aus seiner Position anterior zur mukokutanen Verbindung in die marginale konjunktivale Schleimhaut gezogen wird. Wenn dies eintritt, endet der betroffene terminale Ductus in einer horizontal liegenden Position und ist als verräterische, erhöhte Kante in der okklusalen Schleimhaut der freien Lidkante zu sehen, was die in Position gezogenen terminalen Ducti exponiert unter einem verdünnten Schleimhautepithel darstellt [37]. Die primäre, narbige MGD kann verstreute Drüsen in demselben Lid betreffen, das von der nicht-narbigen MGD betroffen ist. Sie kommt wahrscheinlich weniger häufig vor als die obstruktive MGD, aber die Häufigkeit ihres Auftretens ist nicht dokumentiert.

Die sekundäre, narbige MGD wird durch konjunktivale Narbenbildung verursacht und tritt bei narbenbildenden Erkrankungen der Konjunktiva auf. Sie kann auch mit Rosacea und vernaler („Frühlings-“) Keratokonjunktivitis einhergehen. Der Prozess ist umfassender als bei der primären Erkrankung, und die

Öffnungen und Ducti werden in die Tarsalschleimhaut gezogen, wo sie bei schwerer narbiger Erkrankung möglicherweise nicht mehr sichtbar sind, da sie in das Narbengewebe absorbiert werden. Sowohl in den primären als auch den sekundären Formen der Erkrankung, sogar in einem Frühstadium, wenn die Ducti noch offen sind, können die Drüsen ihr Öl nicht mehr auf die Oberfläche des Tränenfilms abgeben, sobald die Öffnungen in die Schleimhaut und somit in den Bereich des Tränenmeniskus gezogen wurden. Mit zunehmender Schwere führt der Prozess zur Ductusobstruktion. Die narbige MGD wurde histologisch nicht untersucht und würde aus einer klinisch-pathologischen Studie Nutzen ziehen, die spezifisch auf Öffnungen, Ducti und Drüsen gerichtet ist. Der Unterausschuss empfiehlt, dass dieser Weg verfolgt wird.

*10.2.3.2.2. Nicht-narbige MGD.* Bei der nicht-narbigen MGD werden die terminalen Ducti durch einen Prozess der Hyperkeratinisierung [494,625] und der Abstoßung von Zellen der Ductuswände in das Ductuslumen verstopft, wo sie keratotische Pfropfen bilden [36,39,973,974]. Der Hyperkeratinisierungsprozess kann mit der signifikant erhöhten Expression von Keratogenen in Meibom-Drüsen von Patienten mit MGD in Verbindung stehen [505]. Es ist zudem wahrscheinlich, dass die Obstruktion durch eine Erhöhung der Viskosität des Meibomlipids aufgrund von Veränderungen der Meibomlipidchemie und möglichen Wechselwirkungen von Lipiden mit Zytokeratinproteinen verschlimmert wird [183,975]. Der relative Beitrag von Zellablagerungen und erhöhter Lipidviskosität zu dem Obstruktionsprozess ist nicht bekannt.

Die Drüsenöffnungen bleiben in der Haut der Lidkante lokalisiert und zwar anfänglich anterior zur MCJ [37], obwohl sich dies mit dem Alter dahingehend ändern kann, dass sie möglicherweise hinter der MCJ zu liegen kommen, wenn die MCJ nach vorn migriert [454]. Dies hat therapeutische Auswirkungen, da bei einer Wiederherstellung der Drüsenfunktion die Öffnungen für die Ölbereitstellung in Position bleiben. Die Obstruktion geht mit einer Verdickung und Trübung des exprimierten Meiboms einher, das die Ducti blockiert und eine Verstopfung der Öffnungen verursacht. Die Obstruktion führt zu einer sekundären Inaktivitäts- oder Druckatrophie der Drüsen [494,976,977], die sich bei der Meibographie als ein „Drüsenausfall“ darstellt [959]. Der Drüsenverlust ist jeweils beim rechten und linken Auge ähnlich und korreliert zwischen den oberen und unteren Augenlidern. Es gibt allerdings Bereichsunterschiede, wobei der Verlust im Oberlid geringer ist als im Unterlid [978,979] und die Verluste nasal und temporal größer sind [979,980]. Der Ausfall korreliert positiv mit dem Schweregrad der MGD und verhält sich umgekehrt proportional zur Exprimierbarkeit der Meibom-Drüsen, zur TFLL-Dicke und zur TBUT [959,980–983]. In einem anderen Bericht korrelierte der Ausfall positiv mit dem OSDI-Symptom-Score und der Augenoberflächenfärbung [983]. Von Interesse ist auch, dass die reduzierte Exprimierbarkeit, die der Diagnose einer MGD entspricht, auch bei meibographisch nicht vorhandenem Ausfall auftreten kann [980]. (Weitere Einzelheiten sind dem Bericht des Unterausschusses für Tränenfilm zu entnehmen.)

Die nicht narbige MGD tritt am häufigsten als eine primäre Erkrankung auf, die ab dem Alter von 50 Jahren mit erhöhter Häufigkeit angetroffen wird [626]. Sie hat auch multiple sekundäre Assoziationen, dazu gehören unter anderem Dermatosen wie Rosacea, seborrhoische Dermatitis und atopische Dermatitis

[966,972]. Zudem verursacht das Retinoid Isotretinoin, das bei der Behandlung der Akne vulgaris eingesetzt wird, Meibom-Drüsenatrophie bei einem Teil der Patienten, was auch mit Merkmalen von MGD einhergehen kann [644,648].

Bei der nicht-narbigen MGD wird die Diagnose auf der Grundlage der morphologischen Veränderungen der Meibomöffnungen der Drüsenazini gestellt, die mithilfe von Biomikroskopie, kontaktloser Meibographie und konfokaler Mikroskopie beobachtet wird. Die Öffnungen verengen sich, und der charakteristische Ring, der sie in gesundem Zustand umgibt, wird weniger sichtbar [37,984]. Bei einer schweren Erkrankung in einem Stadium mit erhöhter Vaskularität und dem Erscheinen von Telangiektasie an der Lidkante können die Öffnungen verzerrt sein und letztendlich vernarbt und atrophisch werden. In einem früheren Stadium gehören ein Verstopfen der Öffnungen durch Zellablagerungen und Verdickung sowie Trübung oder Abwesenheit exprimierter Absonderungen zu den Merkmalen. Histologisch gesehen wurde berichtet, dass es eine begrenzte Entzündungsreaktion gibt [624,625,978], basierend auf konfokaler Mikroskopie wurde jedoch eine periglanduläre Infiltration von inflammatorischen Zellen bei schwerer MGD berichtet. Infiltrate erscheinen als rundliche Körperchen mit hoher Reflektivität, deren Anzahl nach intensiver Therapie mit Lidhygiene, topischen Steroiden, topischen künstlichen Tränen ohne Konservierungsmittel und topischen und oralen Antibiotika im Vergleich zu einer Studie nur mit Lidhygiene und topischen künstlichen Tränen ohne Konservierungsmittel reduziert ist [985]. Hyperreflektive Punkte wurden ebenfalls bei mit dem Sjögren-Syndrom assoziierter MGD beobachtet [733]. Die Identifikation solcher Punkte muss auf histologischer Ebene durchgeführt werden.

Es gibt Methoden zur Bewertung der MGD [984,986,1206] durch Einstufung des Grads des Drüsenausfalls (Meibographie) [959,986,987], der Menge von Öl im Lidkantenreservoir (Meibometrie) [186,988] und des Aussehens und der Ausbreitungsmerkmale und der Dicke der Tränenfilmlipidschicht (Interferometrie) [195,989]. Konfokale Mikroskopie wird immer häufiger zur Quantifizierung der Drüsenveränderungen im Detail eingesetzt [390].

Die MGD ist für sich genommen eine symptomatische Erkrankung, deren Symptome aus der Lidbeteiligung und der Augenoberflächenentzündung bei Abwesenheit verstärkter Verdunstung resultieren [376]. Allerdings führt bei Fortschreiten der Erkrankung der Grad und der Umfang der Obstruktion zu einer reduzierten Bereitstellung von Meibum für den Tränenfilm [36,180], zu einer TFLL-Defizienz [190,978] und zu dem Verlust der Barrierefunktion [175]. Änderungen in der Zusammensetzung des Lipids, eine reduzierte Ausbreitungszeit und eine Instabilität der Lipidschicht spielen ebenfalls eine Rolle bei der erhöhten Verdunstungsrate, die zum EDE führt [195,375,376,965,990,991].

In ihrer Zusammenfassung der Literatur zur MGD haben Blackie und Korb betont, dass sich die MGD bei Untersuchung mit der Spaltlampe ungeachtet der Merkmale einer wohl etablierten Erkrankung häufig als eine asymptomatische Erkrankung mit normalem Aussehen der Lidkante zeigen kann, was ihrer Vorhersage nach ein Risikofaktor für die progressive symptomatische Erkrankung ist [184]. Diese Form der MGD, die sie *nicht offensichtliche MGD* (NOMGD) genannt haben, wurde zu

Beginn der Beschreibung der MGD erwähnt [964], und sie wurde auch von anderen Autoren zur Kenntnis genommen [974]. Da es keine offensichtlichen Anzeichen der Erkrankung gibt, muss die Diagnose auf einer Veränderung der Qualität exponierter Sekretionen basieren. Bei einer Population von älteren Männern im Alter von über 60 Jahren wies die Mehrzahl mindestens einen abnormalen MGD-Parameter wie nicht offensichtliche Meibumqualität oder sichtbare Lidvaskularität auf, wobei die geringere Lipidqualität, nicht aber die höhere Vaskularität signifikant mit fortgeschrittenem Alter und KCS-Symptomen korrelierte [992].

Blackie et al. [184] betonen die Notwendigkeit der routinemäßigen Durchführung einer Meibom-Drüsenexpression, um NOMGD zu erkennen, und empfehlen die Verwendung einer standardisierten Expression mit ihrer speziell dafür entwickelten Expressionsvorrichtung [993,994]. Dies bietet den zusätzlichen Vorteil der Bereitstellung eines numerischen Scores für die Expression, den Score für den Flüssigkeitsexpressionsertrag aus den Meibom-Drüsen (Meibomian Glands Yielding Liquid Secretion, MGYLS). Es wird zur Diskussion gestellt, dass KCS-Symptome bei Patienten mit NOMGD unter Bedingungen der Austrocknung oder anderer Formen der Belastung der Augenoberfläche herbeigeführt werden, wie dies beim Tragen von Kontaktlinsen [964] oder in einer klimatisierten Umgebung bei der Durchführung von Aufgaben an Bildschirmen, bei dem sogenannten „Büroauge“, der Fall ist [995–998].

*10.2.3.2.3. Tränenvolumen bei Meibom-Drüsen-Dysfunktion.* Im Steady State sind die Tränenmeniskusdimensionen wie Höhe, Krümmungsradius und Querschnittsbereich Ersatz für das Tränenmeniskusvolumen sowie Tränenfluss und -fluss [170]. Sie sind beim ADDE erwartungsgemäß reduziert [172,477,999–1001]. In einer Studie von Tung et al. waren Tränenmeniskushöhe und -bereich im Vergleich zu den Kontrollen bei Patienten mit sowohl NSDE und SSDE reduziert und korrelierten negativ mit epithelialen kornealen Schädigungen [999]. Patienten mit einer Tränenmeniskushöhe von < 210 µm hatten ein relatives Risiko von 4,65 für die Entwicklung einer schweren kornealen Epithelerkrankung (korneale Fluoreszenzfärbung von > 10) mit einer Odds Ratio von 5,59.

Es wurde vorhergesagt, dass bei MGD-bezogenem EDE mit normaler lakrimaler Funktion der Tränenfluss und somit das Tränenvolumen und die Tränenmeniskusdimensionen durch die von der lakrimalen Funktionseinheit ausgehenden kompensatorischen Reaktion aufrechterhalten werden [207]. In Übereinstimmung damit zeigten Tung et al. eine nicht signifikante Differenz zwischen den normalen Kontrollwerten von Tränenmeniskushöhe und -bereich in einer Gruppe von symptomatischen MGD-Patienten mit einer reduzierten BUT [999]. Eine andere Studie kam zu dem Schluss, dass eine Erhöhung der Tränenproduktion wahrscheinlich den Verlust von Meibom-Drüsen bei Patienten mit MGD kompensiert [1002].

*10.2.3.2.4. MGD sekundär zu systemischer chemischer Exposition.* In seltenen Epidemien kann auch eine systemische Exposition gegenüber polychlorierten Biphenylen durch Aufnahme kontaminierter Speiseöle eine chronische Erkrankung mit schwerwiegenden und weitreichenden akniformen Hautveränderungen, Meibom-Seborrhö mit dickflüssigen Absonderungen und die Bildung glandulärer Zysten verursachen

[633,1003].

10.2.3.2.5. *MGD im Zusammenhang mit anteriorer Blepharitis.* Die Meibom-Drüsen-Dysfunktion kann im Zusammenhang mit anteriorer Blepharitis auftreten, insbesondere, wenn beides sekundäre Manifestationen bei einer Dermatose wie zum Beispiel Rosacea sind [641,966,1004–1006]. Eine potentielle Entzündungsquelle sind die kommensalen Bakterien des Lids [1007], deren lipolytische Enzyme Meibum abbauen können, und die Produktion veränderter Lipidspezies wie beispielsweise freie Fettsäuren, die die Gewebe reizen [1008,1009]. McCully und Dougherty [1007] haben die große Menge bakterieller Produkte besprochen, die eine Entzündung auslösen können, dazu gehören unter anderem Lipopolysaccharide (LPS), Chemolockstofflipide wie das aus ungesättigten Fettsäuren stammende Aldehyd-4-Hydroxynonenal (HNE), reaktive Sauerstoffspezies und aus Lipiden stammende Entzündungsmediatoren wie Arachidonsäure, die die Quelle von Prostaglandinen und Leukotrienen sind. Die Rolle von Mikroorganismen in der Ätiologie von MGD ist nicht vollständig bekannt, und nicht alle Studien berichten von einer Erhöhung der bakteriellen kommensalen Population oder einem konsistenten bakteriellen Profil. Ein Bericht aus jüngster Zeit zeigte signifikant höhere Kulturraten für Aerobier (besonders *S. Epidermidis*) und Anaerobier (besonders *P. Acnes*) in exprimiertem Meibum und im konjunktivalen Sack von Patienten die nur an MGD leiden und ein komplexeres bakterielles Profil im Vergleich zu den Kontrollen [63], aber in einem anderen Bericht wurden keine Unterschiede im bakteriellen Spektrum zwischen MGD-Patienten und Kontrollen im Lid oder in Kulturen exprimierten Meibums gefunden, obwohl bei 76 % der MGD-Patienten eine anteriore Blepharitis vorlag [1010]. Eine unerwartet hohe Häufigkeit von *P. acnes*-positiven Meibumkulturen, die bei der Meibomitis-bezogenen Keratokonjunktivitis (meibomitis-related, Keratokonjunktivitis, MRKC) berichtet wurde, diente als Erklärung einer Assoziation mit der Phlyktenular-artigen Keratitis bei jungen Mädchen oder weiblichen Jugendlichen, die mittels eines Hyperempfindlichkeitsmechanismus des Verzögerungstyps (delayed-type hypersensitivity, DTH) agiert [1011].

Eine weitere Ursache für die anteriore Blepharitis ist die Demodex-Milbe, ein Ektoparasit, der mit fortschreitendem Alter immer häufiger auf der Oberfläche des menschlichen Körpers zu finden ist [1012-1014]. *Demodex folliculorum* ist in Haar- und Wimpernfollikeln und *Demodex brevis* in Haartalldrüsen, einschließlich der Meibom-Drüsen, zu finden [1012-1014]. Ein Hinweis auf Demodex-Infestation der Lider ist die Präsenz zylindrischer Schuppen an den Wimpernwurzeln [1015], und die Infestation kann durch Nachweis der Milben auf epilierten Wimpern bestätigt werden. Sie wurden nicht invasiv durch konfokale *In-vivo*-Mikroskopie (in vivo confocal microscopy, IVC) an den Ausgängen der Meibom-Drüsen [1016] beobachtet, aber ihre kausative Rolle bei der MGD [1017] und der KCS ist nicht etabliert. Das Thema wird von Cheng et al. besprochen [1018].

10.2.3.2.6. *Genetisch bedingte Erkrankungen der Meibom-Drüsen.* Die KCS kann durch allgemeines Fehlen der Meibom-Drüsen oder durch diffuse Veränderungen der Drüsen verursacht werden, die sich von denen unterscheiden, die eine MGD charakterisieren.

#### 10.2.3.2.6.1. *Meibom-Drüsen-Agenesie und Distichiasis*

In seltenen Fällen kommt es vor, dass Meibom-Drüsen vollständig oder teilweise fehlen [1019] oder von Geburt an durch eine zusätzliche Reihe von Wimpern (Distichiasis) ersetzt sind.

Distichiasis kann auch im Rahmen eines weiter gefassten, dominant vererbten Syndroms der Distichiasis mit Lymphödem der unteren Extremitäten auftreten, das aus trunkierenden Mutationen des Forkhead-Transkriptionsfaktors, FOXC2, resultiert [1020]. Es gibt ein Mausmodell dieser Erkrankung, die durch die gezielte Disruption von FOXC2 verursacht wird [1021].

Die Meibom-Drüsen können bei bestimmten seltenen, erblichen Erkrankungen wie anhidrotischer ektodermaler Dysplasie, Epidermolysis bullosa und Ichthyose betroffen sein, und dies wurde auch beim Turner-Syndrom berichtet.

#### 10.2.3.2.6.2. *Anhydrotische ektodermale Dysplasie*

*Anhydrotische ektodermale Dysplasie* bezieht sich auf eine Gruppe erblicher Erkrankungen, die mit einer Missbildung der ektodermalen Hautanhängsel wie Zähne, Haare, Nägel und Drüsen einhergehen, einschließlich der Meibom-Drüsen. Mehr als 90 % der Patienten weisen eine Reduzierung der Augenbrauen, Veränderungen der Wimpern und Veränderungen der Meibom-Drüsen auf. In einer großen Fallserie wurde von Kaercher berichtet, dass 94 % solcher Patienten unter KCS-Symptomen leiden [1006]; Kaercher schlug vor, dass Veränderungen der Meibom-Drüsen, die durch Meibographie erkannt werden, das zuverlässigste okuläre Anzeichen für ektodermale Dysplasie sind. Es ist wahrscheinlich, dass die Meibomepithelzellen direkt und die Drüsen und Ducti diffus von dem genetischen Defekt betroffen sind.

Das Ektrodaktylie-Syndrom (gespaltene Hand bzw. Fuß), ektodermale Dysplasie und Spaltung (Spaltlippe und/oder Zäpfchenspalte und Gaumenspalte) (EEC) wird durch Mutationen in der DNA-Bindungsregion des Gens p63 verursacht, die einen Transkriptionsfaktor kontrolliert, der während der Embryogenese aktiv ist und sich mit der Stammzellendifferenzierung in stratifizierten Epithelen befasst. Das Syndrom kann sporadisch auftreten oder als eine autosomal-dominante Störung mit variabler phänotypischer Expression und Penetranz vererbt werden. Die Erkrankung wurde von Di Iorio et al. gut beschrieben [1022], die ein Fehlen der Meibom-Drüsen bei nahezu 100 % und eine reduzierte wässrige Sekretion bei 60 % ihrer Kohorte feststellten. Eine Obstruktion der Tränen Drainage (einschließlich Fehlen, Stenose oder Okklusion der Tränenpünktchen und/oder Canaliculi) wird bei 59 %–100 % der Fälle berichtet. Die Hauptursache für die Visusmorbidity, die zu einer dichten vaskulären Keratopathie führt, ist die Defizienz an Stammzellen des Limbus, die bei 60,9 % der Di Iorio-Serie beobachtet wurde.

#### 10.2.3.2.6.3. *Epidermolysis Bullosa*

EB beschreibt ein Spektrum genetisch bestimmter, bullöser, mukokutaner Erkrankungen, die durch Fragilität und Ruptur der Haut in Reaktion auf Reibung oder leichtes mechanisches Trauma charakterisiert ist [1023,1024]. Der Grad der Augenbeteiligung entspricht in der Regel dem der Hautbeteiligung und besteht aus rezidivierenden kornealen und konjunktivalen Erosionen und Narbenbildung und im Fall der Konjunktiva aus Symblepharon. Wiederholte korneale und konjunktivale Bläschenbildung kann zu kornealer Abrasion, Keratopathia superficialis punctata, Symblepharon, Ektropium, Entropium und kornealer Narbenbildung mit reduzierter Sehkraft und sogar Erblindung führen [1025-1028]. Tong et al. [1029] berichteten, dass die Inzidenz okulärer Komplikationen bei der dominanten Form der dystrophen EB (DDEB) 4 %, bei der am häufigsten auftretenden und schwächsten Form, EB simplex (EBS), 12 %, bei junctionaler EB (JEB) 40 % und bei der schweren, rezessiven Form der

dystrophen EB (RDEB) 51 % beträgt. Unter diesen Formen sind junctionale EB und RDEB weniger häufig als DDEB und wesentlich seltener als EBS.

Subtypen der EB ergeben sich aus Mutationen, die sich auf funktionale Integrität der dermo-epidermalen Verbindung und des äquivalenten Schleimhautbereichs auswirken. Diese werden nach der ultrastrukturellen Ebene der Bläschenbildung benannt. Bei der am häufigsten auftretenden Form, EBS, tritt die Separierung innerhalb der Basalschicht des Epithels auf, wobei eine geringere Wahrscheinlichkeit der Narbenbildung als bei der rezessiven Form besteht, bei der die Spaltung auf der Ebene der verankernden Fibrillen stattfindet [1030]. Bei der JEB liegt die Ebene der Spaltung innerhalb der Lamina lucida des hemidesmosomalen Komplexes und resultiert in einer fehlerhaften epithelialen Adhäsion. Eine Form der JEB (JEB Herlitz) führte zu extensiver Erkrankung und Tod im Kindesalter [1031].

Die Häufigkeit von Lidanomalitäten bei Kindern mit EB basierte in der Vergangenheit auf retrospektiven Studien [1030] und war auf Kommentare zur Präsenz oder Abwesenheit von „Blepharitis“ beschränkt [1032,1033]. Es wurde berichtet, dass dies je nach EB-Subtyp von 0,37 % bis 17,65 % variierte [1034]. Jones D. H. et al. [1030] weisen darauf hin, dass Blepharitis im nationalen EB-Register als ein nicht häufig gestellter Befund enthalten ist, wobei die RDEB inversa und schwere, generalisierte RDEB (etwa jeweils 18 %) und JEB-Subtypen (6 %-7 %) am häufigsten auftreten [1034]. Im Gegensatz dazu berichteten Jones et al. [1030] in einer großen prospektiven Studie von Great Ormond St. London eine hohe Häufigkeit von MGD bei allen Subtypen der EB, wobei die größte Häufigkeit und der höchste Schweregrad bei den schwereren Formen, insbesondere der RDEB und JEB, zu beobachten war. In dieser sorgfältig durchgeführten Studie basierte die Diagnose der MGD auf den Befunden der Verstopfung und Abdeckung von Drüsenöffnungen, der Lidkantenlangektasie, der Lidkantenrundung und der Retroplatzierung der mukokutanen Verbindung. Aufgrund der mit Lidmanipulation assoziierten Probleme war es nicht möglich, bei dieser Gruppe von Patienten eine Drüsenexpression oder eine Meibographie durchzuführen. Die Autoren konnten nicht feststellen, ob die MGD primären Ursprungs war oder sekundär zu der EB-bezogenen Augenoberflächenerkrankung auftrat, aber sie betonten, dass sie, nachdem sie etabliert wurde, zu der Häufigkeit und der Schwere der Augenoberflächenerkrankung durch Lid- und KCS-bezogene Mechanismen beitragen muss und ihre Behandlung daher für sich genommen erforderlich ist.

#### 10.2.3.2.6.4. Ichthyosis follicularis, Atrichie und Photophobie-Syndrom

(IFAP) ist eine seltene X-chromosomale Erkrankung, die durch eine nicht vernarbende Alopezie mit Fehlen von Augenbrauen und Wimpern, durch im Neugeborenenalter einsetzende Photophobie und durch generalisierte kutane, folliculäre Hyperkeratose charakterisiert ist. Sie ist eine erbliche Störung des Lipidmetabolismus. Die Schwere der Erkrankung reicht von leichter Hautkrankheit bis zu schweren Varianten mit multiplen extrakutanen Merkmalen (Hirnanomalien, Retardierung, ektodermaler Dysplasie und Skelettmissbildungen) [1035].

Der typische Hautbefund bei der IFAP sind „dornenartige“ folliculäre Projektionen, die der betroffenen Haut ein „Küchenreibe-Gefühl“ vermitteln. Hyperkeratosen werden manchmal an den Ellenbogen, Knien und dorsalen Fingern

beobachtet, während die Handflächen und Fußsohlen, die Zähne, Nägel und Schweißdrüsen nicht betroffen sind [1035,1036]. Haarschäfte und Haartaldrüsen fehlen [1036-1039], was auf einen Fehler bei der Entwicklung der Haartaldrüsen einheit hinweist, und Eramo berichtete von verstopften und in unregelmäßigen Abständen angeordneten Meibom-Drüsen bei einem betroffenen Jungen im Alter von 3 Jahren, was auf die Präsenz von MGD oder einer verwandten Meibom-Drüsenerkrankung hinweist [1036]. Es ist noch nicht sicher, ob Meibom-Drüsen selbst überhaupt noch vorhanden sind, und dieser Aspekt der Erkrankung verdient eine umfassende Überprüfung. Die Histopathologie der Beinhaut bei diesem Patienten zeigte, dass das Zentrallumen aller Haarfollikel nur keratotische Ablagerungen enthielt. Es gab keine Haartaldrüsen oder normale Haarschäfte. Es waren gut entwickelte Schweißdrüsen und leichte mononukleäre, perivaskuläre Infiltrate vorhanden. Bei weiblichen Trägern kann die Eigenschaft als "nicht-penetrant" oder "mit unbedeutenden Merkmalen vorhanden" bezeichnet werden.

Die Photophobie bei dieser Erkrankung ist wahrscheinlich auf Keratitis, möglicherweise unter Beteiligung der MGD, zurückzuführen. Punktförmige Epithelerosionen, Pannus und progressive korneale Vaskularisation und Stromatrübung können zu einem schwerwiegenden Verlust der Sehfähigkeit führen [1038].

IFAP wird durch Mutationen im Gen MBTPS2 (membranebundene Transkriptionsfaktor-Peptidase, Stelle 2 (S1P)) verursacht, das sich auf dem Chromosom Xp22.1 befindet [1040], welches an der Regulierung der Lipidbiosynthese beteiligt ist. Oeffner et al. wiesen eine Genotyp/Phänotyp-Korrelation zwischen der klinischen Schwere und der Auswirkung von Mutationen auf die Peptidaseaktivität nach [1041]. Wie an anderer Stelle in diesem Bericht besprochen (Abschnitt 4.3), arbeiten die Proteasen SIP und S2P kooperativ zusammen, um die SREBP-Transkriptionsfaktoren zu aktivieren und auf eine große Bandbreite von Genen abzielen, die am Cholesterin- und Fettsäuremetabolismus beteiligt sind. Dies steht im Einklang mit dem Fehlen der Haartaldrüsenentwicklung bei dieser Erkrankung, die sich offensichtlich auch auf die Meibom-Drüsen auswirkt.

Eine verwandte Erkrankung, die ebenfalls als ein X-chromosomales Merkmal und aufgrund von Mutationen in MBTPS2 vererbt wird, ist die Keratosis follicularis spinulosa decalvans (KFSD) [1041,1042] bei der es, wie bei der IFAP, zu einer Kombination aus folliculärer Ichthyose, Alopezie und Photophobie kommt, die sich jedoch von dieser durch ein späteres Auftreten und durch eine ungleichmäßigere Verteilung der Alopezie bei der KFSD unterscheidet. Das Auftreten von Atrophie und Narbenbildung an Follikeln ist ein späteres Merkmal, und die vernarbende Alopezie steht der nicht-vernarbenden Alopezie der IFAP gegenüber. Zudem tritt die Hyperkeratose der Handflächen und Fußsohlen und der dorsalen Finger bei der KFSD, nicht aber bei der IFAP auf [1035]. Fong et al. [1035] berichteten von einem Überlappen bei den klinischen und molekularen Merkmalen der IFAP und KFSD.

### 10.3. Störungen von Lidöffnung, -kongruenz und -dynamik

Eine neu berichtete Variante von nächtlichem Lagophthalmus, einem unzureichenden Lidschluss [544], bezieht sich darauf, dass scheinbar geschlossene Lider während des Schlafens nicht in der Lage sind, Luft von der Augenoberfläche fernzuhalten. Dies kann für Symptome verantwortlich sein, die unmittelbar nach dem



Aufstehen auftreten. Die Diagnose erfolgt mit einem „Lichttest“ unter Verwendung eines Transilluminators, der auf die geschlossenen Lider gedrückt wird. In einer Studie der Evidenzklasse II wurde von einer starken Korrelation zwischen einem positiven Lichttest und Symptomen unmittelbar nach dem Aufwachen berichtet.

Wie zuvor angemerkt ist ein unvollständiger Lidschluss zu einem gewissen Grad bei gesunden Probanden während des Lidschlags nicht selten [343,409]. Bei gesunden Probanden findet eine erhöhte Verdunstung durch Exposition der Augenoberfläche beim Blick nach oben statt [288], sodass DES am Arbeitsplatz durch Aktivitäten aufgezwungen werden kann, bei denen die Aufmerksamkeit auf Gegenstände gerichtet werden muss, die auf hohen Regalen untergebracht sind; Ähnliches tritt bei extremem Aufblick der Augen ein, wenn der Kopf nach unten geneigt ist, wie dies beim Zielen beim Billardspiel der Fall ist. Erhöhungen auf der Oberfläche des Augapfels in der Nähe des Limbus können ebenfalls die Ausbreitung von Tränen behindern und lokalisiertes Austrocknen und die Bildung von Dellen verursachen [1043,1044].

Ein unvollständiger Lidschluss oder eine Lidverformung, die zu verstärkter Exposition oder zu schlechter Tränenfilmerneuerung führen, werden als Ursache für das Austrocknen der Augen nach Lähmung des VII. Hirnnervs (Lagophthalmus) oder nach einer Operation an den Lidern akzeptiert [1045]. Die Beziehung zwischen der Lähmung des VII. Hirnnervs und der Entwicklung von MGD [1046-1048] ist von besonderem Interesse, und ihre Mechanismen verdienen eine weitere Untersuchung. Wan et al. zeigten eine klare Korrelation zwischen der Dauer und der Schwere der Lähmung des VII. Hirnnervs und der Entwicklung von MGD auf [1048]. Die Zeit bis zum Aufreißen des Tränenfilms wurde bei allen Gruppen mit Lähmung des VII. Hirnnervs reduziert.

Eine Verbreiterung der Lidspalte oder ein Hervorstehen des Augapfels setzt den Tränenfilm einer stärkeren Verdunstung [1049] und dem Risiko von Augenaustrocknung und Tränenhyperosmolarität aus. Bei der endokrinen Orbitopathie (Graves' orbitopathy, GO) wird die Auswirkung der Proptosis auf die Exposition durch die Lidretraktion und die Lidverzögerung, durch unvollständigen Lidschlag oder Lidschluss und durch Einschränkung der Augenbewegungen verschlimmert, wobei jeder Aspekt für sich die Tränenausbreitung stören kann [197]. Kim et al. stellten bei der GO einen verstärkten Ausfall von Meibom-Drüsen fest, was mit einer verkürzten TBUT, dem Grad des Exophthalmus und der Höhe der Lidöffnung korreliert [1050]. Ein verstärkter Drüsenausfall wird auch bei der Verwendung von Augenprothesen angetroffen [1051], und es gibt auch eine Assoziation mit der Liderschaffung [1052], mit Merkmalen der KCS, einschließlich eines niedrigeren Schirmer-Scores, reduzierter TBUT und verstärkter kornealer Färbung [971]. Es kann eine Parallele zwischen diesen Erkrankungen gezogen werden mit der Aussage, dass Drüsenausfall die Konsequenz von Meibom-Stauung aufgrund unvollständigen oder imperfekten Blinkens sein kann. Ein beitragender Faktor kann auch die Wirkung der Tränenhyperosmolarität und von Entzündungsmediatoren am Apex der Tränenmenisken in der Nähe der terminalen Ducti der Meibom-Drüsen sein [451].

#### 10.3.1. Sonstige lidschlagbezogene Störungen

Eine reduzierte Lidschlagfrequenz ist die potentielle Basis für die KCS bei Morbus Parkinson (MP) und bei der progressiven

Ophthalmoplegie [1053], wobei zudem auch die Verteilung der Tränenflüssigkeit durch eine geänderte Lidschlagaktion und eine Reduzierung der Augenbewegungen beeinträchtigt ist. Sonstige beitragende Faktoren bei MP umfassen eine reduzierte Absonderung von Meibomöl, reduzierte Reflextränenbildung aufgrund autonomer Dysfunktion [1054] und mögliche Auswirkungen einer Androgendefizienz auf die Tränen- und Meibom-Drüsen [1055].

#### 10.4. Augenoberflächenbezogenes evaporatives trockenes Auge

##### 10.4.1. Allergische Augenerkrankung

Zu den Augenallergien gehört eine Vielzahl klinischer Erkrankungen (nämlich saisonale allergische Konjunktivitis – SAC, ganzjährige allergische Konjunktivitis – (Perennial Allergic Conjunctivitis) PAC, vernale (Frühlings-) Keratokonjunktivitis – VKC und atopische Keratokonjunktivitis – AKC), die von leichten bis schweren und die Sehkraft bedrohenden Augenerkrankungen reichen.

Obwohl die Pathophysiologie allergischer Augenerkrankungen, im Gegensatz zu der von KCS, hauptsächlich einen Th2-Lymphozyten-Mechanismus umfasst, können diese Erkrankungen einige klinische und biochemische Merkmale gemein haben.

Somit:

- a) Bei jeder Erkrankung ist die Konjunktiva hyperämisch oder entzündet, das korneale Epithel kann geschädigt und die kornealen Nerven können beeinträchtigt sein; der Tränenfilm ist reich an entzündlichen Zytokinen, Mediatoren und Neuromediatoren, die eine chronische Entzündung auslösen und aufrechterhalten können. Die Meibom-Drüsen-Dysfunktion wird als ein Merkmal allergischer Augenerkrankungen angegeben [1056] und kann eine Ursache für KCS sein. Fibrose und Narbenbildung sind häufige Ergebnisse schwerer allergischer Erkrankungen wie AKC und VKC als Ergebnis einer langfristigen Entzündung.
- b) Eine mukosale Überempfindlichkeit für nicht spezifische Umweltreize wurde sowohl bei Augenallergie als auch bei KCS beschrieben. Patienten mit VKC zeigen eine Überempfindlichkeit auf nicht-spezifische, nicht-allergene Provokationen wie Histamine, Luftverschmutzung oder sonstige Agenzien aus der Umwelt [1057-1060]. Ähnlich werden auch bei der KCS sowohl in experimentellen Modellen als auch bei Menschen Anzeichen von Schädigungen der Augenoberfläche durch oxidative Belastung [767,770,772] oder häufig auftretende Umweltfaktoren wie Klimaanlage und Staub oder Schadstoffe wie Rauch ausgelöst [772,1061].
- c) Sowohl Allergien als auch die KCS sprechen positiv auf topische entzündungshemmende Wirkstoffe wie Steroide und Cyclosporin an. Künstliche Tränen, die routinemäßig bei KCS-Patienten eingesetzt werden, können Symptome in allen klinischen Variationen der Augenallergie verbessern [1,770,1062,1063].
- d) Beide Erkrankungen haben eine negative Auswirkung auf die Lebensqualität, die mit der Weiterentwicklung steigt. Insbesondere können bei schweren Formen jeder Erkrankung verstärkte Beschwerden und eine Reduzierung

der Sehfunktion vorhanden sein, besonders bei der Durchführung visueller Aufgaben, die eine kontinuierliche Aufmerksamkeit erfordern (z. B. Autofahren, Lesen, Arbeiten am Computer und Aufmerksamkeit in der Schule).

Im Gegensatz dazu stellen Augenallergie und KCS zwei verschiedene klinische Entitäten mit Beteiligung unterschiedlicher Immunzellen an ihren pathogenen Mechanismen sowie einer unterschiedlichen Histopathologie (zum Beispiel einer Erhöhung der Becherzellenzahlen bei der Allergie [1064] und einer Verminderung der Anzahl bei der KCS) dar [434]. Die Augenallergie ist eine Erkrankung der Jugend, während die KCS häufiger im höheren Alter auftritt, wenn Anzeichen und Symptome von Allergie in der Regel verschwinden. Sie unterscheiden sich auch in der Qualität der auftretenden Symptome, wobei Allergiekranke hauptsächlich über Juckreiz und Photophobie und KCS-Patienten über sandiges Gefühl und Fremdkörpergefühl im Auge klagen.

Intensiver Juckreiz ist typisch für die VKC und ist zusammen mit der Photophobie das konstante und hauptsächliche Symptom allergischer Augenerkrankungen [1065]. Obwohl er manchmal als Symptom der KCS aufgeführt wird, sind seine Häufigkeit, Intensität und sein topographischer Bezug nicht beschrieben. Es wäre interessant zu wissen, ob es sich um ein Symptom der KCS sekundär zu einer Form der Blepharitis oder spezifisch um ein Symptom der KCS selbst handelt.

**Tabelle 13**

Hybride Subtypen der Keratokonjunktivitis sicca

Subtyp	Beispiel
Organisches ADDE aufgrund von Tränenrüsopathologie in Kombination mit einem organischen, MGD-abhängigen EDE	Beim Sjögren-Syndrom
Eine Kombination aus organischem ADDE, MGD-abhängigem EDE und einem EDE sekundär zur Augenerkrankung.	GVHD oder, in unterschiedlichen Graden, andere Formen narbenbildender Konjunktivitis. Es gibt eine Obstruktion der Tränenrüskanäle, narbige MGD und eine Augenerkrankung sekundär zur primären systemischen Erkrankung.
Organisches ADDE mit einem funktionalen EDE	Bei schwerem ADDE gibt es eine unzureichende Ausbreitung der TFLL und ein vorhergesagtes funktionales EDE.
Organisches EDE mit einem funktionalen ADDE.	Bei schwerer KCS tritt eine Abnahme der kornealen Empfindlichkeit ein. Es wird vorhergesagt, dass dies bei EDE zu einem Verlust des kompensatorischen sensorischen Reizes der Tränenrüse, und einem Zustand der funktionalen Hypovolämie führt.
ADDE, das sich zu EDE entwickelt	Wenn während des Lidschlagintervalls ein Tränenfilmaufriss eintritt, wird die Kornea an der Stelle des Aufreißen übermäßiger Verdunstung ausgesetzt. Daher wird vorhergesagt, dass ein ADDE von ausreichender Schwere in ein EDE umgewandelt wird. Tränenproteine lakrimalen Ursprungs sollten auf normalem Niveau sein.

Die korneale Beteiligung in Form einer diffusen Keratopathia superficialis punctata oder eines Schildkulus ist für die schweren Formen von Allergie typisch. Entsprechend ist die KCS mit einem anderen Fluoreszeinmuster assoziiert, das die Beteiligung der

Augenoberfläche zwischen den Lidern und der am stärksten exponierten Augenoberfläche mit einschließt [74,1066].

Einige wenige biologische Entzündungsmarker können sowohl bei der KCS als auch bei allergischen Augenerkrankungen auftreten, aber Eosinophile, Eosinophil-abgeleitete Produkte und Mastzellen sind typische Befunde bei allergischen Augenerkrankungen [543,1067,1068]. Ihre Abwesenheit bei einem Patienten mit Symptomen der Augenoberfläche steht der Diagnose einer allergischen Augenerkrankung entgegen, aber ihre Präsenz schließt die KCS nicht aus. Der Nachweis einer verkürzten Tränenfilmaufrisszeit bei Patienten mit allergischen Biomarkern würde die Präsenz beider Erkrankungen unterstützen [1069]. Es gibt einige wenige klinische Entitäten, wie zum Beispiel das Auftreten bei jungen Frauen mit polyzystischen Ovarien, die Merkmale beider Erkrankungen aufweisen [1070]. Obwohl der Mechanismus dafür nicht etabliert ist, ist es wahrscheinlich, dass Geschlechtshormone und Insulinresistenz eine Rolle spielen (siehe den Bericht des Unterausschusses für Sexus, Geschlecht und Hormone).

Allergische Augenerkrankungen und KCS sind unterschiedliche klinische Entitäten, aber einige überlappende Merkmale deuten auf eine komplexe Wechselwirkung von Mechanismen hin, die die Immun-, Hormon- und Nervensysteme umfassen.

#### 10.4.2. Vitamin-A-Mangel

Vitamin A reguliert das Epithelwachstum, die Zellproliferation und die Zelldifferenzierung [1071,1072]. Ein systemischer Vitamin-A-Mangel bleibt eine wichtige Ursache für Kindersterblichkeit und für Erblindung in vielen Ländern mit niedrigem bis mittlerem Einkommen [1073,1074]. In den Augen führt Vitamin-A-Mangel zu Xerophthalmie [1075], die Nachtblindheit [1076], konjunktivale Xerose [1077], Bitot'sche Flecken [1078–1080], korneale Xerose [1081] und Keratomalazie umfasst [1077]. Es werden zwei Formen der KCS anerkannt und sie können zusammen auftreten. Eine Form wird durch mangelnde Augenoberflächenbenetzung und die andere durch eine Tränenrüsensuffizienz verursacht [1082]. Eine schlechte Benetzung kann durch eine defekte epitheliale Glykokalyx an der Augenoberfläche, durch einen Verlust von Becherzellen und Glykokalyxmuzin und schließlich durch Augenoberflächen-Metaplasie und epitheliale Keratinisierung verursacht werden. Paradoxerweise kann heutzutage die Xerophthalmie in entwickelten Ländern nach bariatrischer Chirurgie aufgrund von Adipositas wegen der verringerten Aufnahme von Vitamin A aus dem Dünndarm angetroffen werden [659].

Vitamin-A-Mangel in einem Tiermodell kann epitheliale Keratinisierung und Plattenepithelmetaplasie (mit Bitot'scher Fleckenbildung) [1083,1084] sowie eine erhebliche Abnahme der konjunktivalen Becherzellendichte induzieren [1077,1083,1085]. Vitamin A ist an der Biosynthese von Glykokonjugaten sowie an der Muzinglykosylierung im Augenoberflächenepithel beteiligt [1086,1087]. Es gibt Evidenz für eine abnormale Muzinsynthese bei Vitamin-A-Mangel. Im Rattenmodell wurden eine membranassoziierte Muzin-rMUC4-mRNA und sekretorische Muzin-rMUC5AC-mRNA bei Tieren mit Vitamin-A-Mangel nicht festgestellt [1088]. In den menschlichen konjunktivalen Epithelzellen ist Retinsäure mit der Hochregulierung von MUC16 durch eine Wirkung auf die sekretorische Phospholipase-A2-

Gruppe IIA assoziiert [1089]. Zusätzlich stimuliert Retinsäure in einem primären menschlichen Zellkulturmodell des kornealen Limbusepithels die MUC1-, MUC4- und MUC16-Expression und die Glykokalyxbarrierefunktion wird in einer dosisabhängigen Weise verbessert [1090]. Retinsäure zerstört auch die Meibom-Drüsen. Siehe den Bericht des Unterausschusses für iatrogenes trockenes Auge.

#### 10.4.3. Trockenes Auge aufgrund kurzer Tränenfilmaufrisszeit

Der Begriff KCS aufgrund kurzer Tränenfilmaufrisszeit (short breakup time KCS, SBUDE) bezieht sich auf eine symptomatische Form der KCS mit einer Fluoreszein-Aufrisszeit von  $\leq 5$  s, die bei Präsenz normaler Tränensekretion und Tränen-Clearance, normaler Funktion der Meibom-Drüsen und ohne Assoziation mit Epithelschäden auftritt [1069]. Zu den Symptomen gehören Trockenheit, Augenmüdigkeit und verschwommenes Sehen mit einer erheblichen Auswirkung auf die Lebensqualität (quality of life, QOL).

In der Studie von Yamamoto et al. waren bei den Patienten mit einem sofortigen Aufreißen des Tränenfilms (= 0 s) Frauen häufiger als Männer betroffen (Verhältnis 3:1), wobei die Häufigkeit bei Frauen im Alter von 60 Jahren und bei Männern im Alter von 20 Jahren am größten war [1091]. SBUDE scheint in Japan eine häufig auftretende Form der KCS am Arbeitsplatz zu sein. In der Osaka-Studie mit Büroangestellten, die längere Zeit an Bildschirmen verbringen, wurde bei 244 von 303 rekrutierten Teilnehmern (80,5 %) SBUDE diagnostiziert [1092], die hoch symptomatisch [165] und mit einer verminderten funktionalen Sehschärfe [298], weniger Lebensqualität [1093,1094] und Produktivitätsverlust assoziiert war [442]. Ihre Aufklärung ist von hoher Priorität.

Der Mechanismus der SBUDE ist noch nicht geklärt, aber aktuelle Forschung deutet darauf hin, dass sie durch mangelnde Benetzung der Augenoberfläche herbeigeführt wird. In einer Studie, in der Patienten mit SBUDE oder ADDE mit nicht erkrankten Kontrollen verglichen wurden, hatten Patienten in jeder Gruppe eine Fluoreszein-Aufrisszeit von  $\leq 5$  s, und MGD wurde ausgeschlossen [425]. Weder die Ergebnisse des Schirmer-Tests noch die Scores der Vitalfärbung unterschieden sich signifikant zwischen den Teilnehmern mit SBUDE und den gesunden Kontrollen. Die Expression von mRNA für sowohl MUC1 als auch MUC16 war bei Patienten signifikant niedriger als bei Kontrollen, aber es gab keinen Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen, was anzeigt, dass ein Verlust der Benetzbarkeit wahrscheinlich in jeder Gruppe eine ähnliche Rolle gespielt hat. Interessanterweise zeigte die konjunktivale Impressionszytologie keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Becherzellendichte oder des Ausmaßes der Plattenepithelmetaplasie zwischen den 3 Gruppen. Wo dies überprüft wurde, war die Lipidschicht des Tränenfilms vor dem Aufreißen ebenfalls normal, was darauf hindeutet, dass das Aufreißen nicht durch eine Tränenlipiddefizienz ausgelöst wird. Die Ursache für Symptome bei Abwesenheit signifikanter Augenoberflächenfärbung ist ebenfalls interessant, und gegenwärtig wird angenommen, dass sie mit der Oberflächenhyperosmolarität verbunden ist, die an der Stelle des Aufreißen induziert wird.

In einer Studie mit 96 japanischen Büroangestellten, die regelmäßig an Bildschirmen arbeiten, lag die Prävalenz definitiver und wahrscheinlicher KCS bei 9 % bzw. 57 %. Die mittlere MUC5AC-Konzentration war in der Tränenflüssigkeit von

Bildschirmbenutzern mit definitiver KCS niedriger als in denen ohne KCS, und die mittlere MUC5AC-Konzentration in der Tränenflüssigkeit war in der Gruppe mit längeren Arbeitszeiten niedriger [1095]. Zudem war die MUC5AC-Konzentration bei Teilnehmern mit symptomatischer Augenbelastung niedriger als bei asymptomatischen Personen [1095]. Zusammen deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass die Umstände längerer Bildschirmnutzung zu Veränderungen der Muzinexpression führen, die die Benetzbarkeit der Augenoberfläche reduzieren und zu KCS-Symptomen in dieser Gruppe beitragen. Das Muster des Tränenfilmaufreißen bei der SBUDE entspricht der sogenannten „Flecken“- oder „Dellen“-Variante, und es werden Studien durchgeführt, in denen untersucht wird, ob diese Muster speziell mit der Oberflächenmuzindefizienz zusammenhängen [178]. Sogenannte „Linien“- und „areoläre“ Aufreißmuster sind mit ADDE assoziiert, wobei das *Linien-Aufreißmuster* bei leichtem bis mäßigem ADDE und das *areoläre Aufreißmuster* bei schwerem ADDE angetroffen wird.

Einige Erfolge bei der Behandlung der SBUDE werden für topisches Diquafosolnatrium beansprucht, einen purinerge Agonisten, der die konjunktivale Wasser- und Gelmuzinproduktion anregt [1096], und auch für Rebamipid, von dem berichtet wird, dass es die Becherzellendichte und zusätzlich die Gelmuzinproduktion erhöht [1097,1098]. Es wird behauptet, dass beide Wirkstoffe die Expression membranassoziierter Muzine erhöhen. (Weitere Einzelheiten sind im Bericht des Unterausschusses für Management und Therapie zu finden.)

#### 10.4.4. Augenoberflächenerkrankung aufgrund topischer Wirkstoffe

(Siehe den Bericht des Unterausschusses für iatrogenes trockenes Auge.)

## 11. Zusammenfassung und Empfehlungen

Der Unterausschuss hat überprüft, wie die Physiologie der Augenoberfläche durch den Beginn und die Entwicklung der KCS beeinträchtigt wird und wie sie diese beeinflusst. Es gibt gute Informationen über die Kontrolle der Tränensekretion beim Menschen, aber weniger über die der Meibom-Drüsen, Oberflächenepithel und Becherzellen. Es werden Methoden zum Messen ihrer sekretorischen Leistung *in vivo* benötigt.

Die Struktur und Funktion des präkornealen Tränenfilms wird noch intensiv untersucht. Eine aktuelle Meinung deutet darauf hin, dass die Lipidschicht des Tränenfilms allein keine wichtige Barriere gegen Wasserverlust ist und dass ihre Hauptaufgabe in der Stabilisierung des sich ausbreitenden Tränenfilms besteht. Es wird trotzdem weiterhin erwogen, dass eine Defizienz und Instabilität der Lipidschicht den Wasserverlust ausreichend verstärkt, um eine klinisch wichtige Hyperosmolarität an der Augenoberfläche zu erzeugen, und dass dies zur Augenoberflächenschädigung bei der KCS beiträgt.

Die Frage, ob es eine wässrige Subphase unmittelbar unter der TFL gibt, wie von Wolff in den Raum gestellt, wird noch debattiert. Klinische Beobachtungen deuten darauf hin, dass die vom naszenten Tränenfilm bei der Aufwärtsbewegung des Lids während des Lidschlags in die Tränenmenisken gezogene Flüssigkeit wässriger ist als der präkorneale Film selbst, und es scheint wahrscheinlich, dass eine wässrige Schicht zwischen der TFL und der darunterliegenden muko-wässrigen Schicht

beibehalten wird, deren Verhalten deutlich gelartig ist. Die mukokutane Schicht, die während des Lidschlags über die Kornea gelegt wird, stammt hauptsächlich aus der oberen tarsalen Konjunktiva und unterscheidet sich wahrscheinlich von der, die die exponierte bulbäre Konjunktiva bedeckt, die sowohl aus der bulbären als auch der tarsalen Konjunktiva stammen muss. Dies kann für die SLK relevant sein. Bei gesunden Augen können die Bereiche Tränenmeniskus-induzierter Verdünnung in verschiedenen Blickpositionen auf den präkornealen Tränenfilm übertragen werden und mit Tränenfilminstabilität assoziiert sein, was deren Integrität bedroht. Dieses Phänomen sollte bei gesunden Augen unter DES-Bedingungen sowie bei Patienten mit KCS weiter untersucht werden.

Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die physiologische Linie konjunktivaler Färbung mit der Bezeichnung Marx'sche Linie dem Bereich von Hyperosmolarität am Tränenmeniskusapex geschuldet ist. Die verstärkte Durchlässigkeit des Epithels, die ebenfalls an dieser Stelle postuliert wird, könnte entzündungsfördernden Proteinen Zugang zu den terminalen Meibomkanälen gewähren, was die Assoziation zwischen der Vorwärtsbewegung der Marx'schen Linie mit steigendem Alter und dem Auftreten von MGD erklärt. Es wäre lohnenswert, die Zusammensetzung der Glykokalyx an dieser Stelle (exprimierte Muzine und Galectin-3) und der Tight junctions der Schicht 1 bei menschlichen Proben zu untersuchen. Ihre Durchlässigkeit könnte mithilfe von fluoreszente Dextran erforscht werden.

Unvollständige Lidschläge sind sowohl bei gesunden als auch bei trockenen Augen nicht selten, treten bei KCS aber häufiger auf. Aufgrund ihrer Wirkung auf den Verdunstungsverlust ist dies ein wichtiger KCS-Mechanismus. Sie können auch das Auftreten von punktförmiger Epitheliopathie bei KCS-Erkrankungen in den unteren Teil des Augapfels lenken.

Der Tränenfilm wird durch den Lidschlag über der exponierten Augenoberfläche verteilt, aber die *Augenbewegungen* tragen ebenfalls zu der Ausbreitung über die periphere Kornea und die bulbäre Konjunktiva bei. Scherereignisse zwischen dem Augapfel und dem oberen oder unteren Lid Wiper sind wahrscheinlich unterschiedlich, wobei Reibung durch den Lidschlag mehr zum oberen Lid Wiper und durch Senkung des Blicks mehr zum unteren Lid Wiper gelenkt wird und horizontale Blickrichtungen weitere Beiträge leisten. Dies erklärt wahrscheinlich, wie sich die Lid Wiper-Epitheliopathie auf sowohl die oberen als auch die unteren Lidkanten auswirkt. Die durch den Lidschlag verursachte Reibung ist im mittleren Bereich des Oberlids am stärksten, wo die lineare Geschwindigkeit der Exkursion am größten ist.

Die physikalischen Konzepte der Grenzflächenschmierung und der hydrodynamischen Schmierung werden nutzbringend auf die Dynamik von Lid- und Augapfelbewegung angewendet. Ein neues Grenzflächenschmiermittel, Lubrizin, mit Ursprung im kornealen und konjunktivalen Epithel wurde kürzlich beschrieben und kann bei der KCS wichtig sein. Eine Defizienz wässriger Tränen und der Verlust von Augenoberflächenschmiermitteln bei unterschiedlichen Formen der KCS können wahrscheinlich das vermehrte Auftreten von punktförmiger Epitheliopathie, SLK, filamentöser Keratitis und LWE bei der KCS und die mit diesen Erkrankungen assoziierten Symptome erklären. Sie könnte auch das Gefühl von Schwere des Lids und die Schwierigkeiten beim morgentlichen Öffnen der Augen bei der KCS erklären.

Die epitheliale Glykokalyx ist ein wesentlicher Bestandteil

apikaler Membranen von Oberflächenepithelzellen. Ihre molekulare Zusammensetzung ist jetzt besser bekannt. Sie verleiht der Augenoberfläche Benetzbarkeit und erklärt ihre Schmier- und einige ihrer Barrierefunktionen. Der Beitrag von interzellulären Tight junctions zu dieser Barriere wird auch gut verstanden. Das Epithel erneuert sich kontinuierlich, und wenn alte Zellen reifen und absterben, gehen die Integrität und Barrierefunktion dieser Schicht für diese Zellen verloren. Die Reibungskräfte zwischen Augenlidern und Augapfel leisten wahrscheinlich einen Beitrag zum Abstoßungsprozess. Obwohl behauptet wird, dass die epitheliale Abstoßung bei der KCS erhöht ist, scheint die Abstoßungsrate nicht formell gemessen worden zu sein. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass der Verlust der Barrierefunktion bei Zellen vor der Abstoßung für einen geringen Grad an punktförmiger Färbung des gesunden kornealen und konjunktivalen Epithels verantwortlich ist. Etwa 17 % der gesunden Korneas zeigen einen gewissen Grad an punktförmiger Färbung nach Instillation von 0,125 % Fluoreszein, und es wird angenommen, dass alle Korneas im Lauf der Zeit eine solche Färbung aufweisen. Die temporalen Aspekte einer solchen Färbung bei einer individuellen Person sind eine weitere Untersuchung wert. Wir empfehlen, dass eine Abwesenheit von Färbung in klinischen Studien nicht als Standard für das normale gesunde Auge angesehen wird. Da die Färbbarkeit von der Konzentration des instillierten Farbstoffs und dem Zeitpunkt der Ablesung abhängt, sollten die Bewertungsmethoden standardisiert werden.

Für die Modellierungserwägungen wird vorgeschlagen, dass die Tränenosmolarität in den Tränenmenisken etwas niedriger ist als über der exponierten Augenoberfläche und dass diese Diskrepanz mit der steigenden Tränenmeniskus-Hyperosmolarität bei der KCS ebenfalls steigt. Es wird zudem vorhergesagt, dass sich bei der KCS eine Welle von Hyperosmolarität aufgrund von Verdunstungsverlust vom Epizentrum eines Tränenfilmaufreißens aus ausbreitet und an der Augenoberfläche Konzentrationen von großer pathologischer und symptomatischer Konsequenz erreicht, die durch eine Probenahme aus dem Tränenmeniskus nicht vollständig reflektiert werden. Je früher das Aufreißen des Tränenfilms im Lidschlagintervall einsetzt, desto länger ist der Zeitraum der Exposition gegenüber Hyperosmolarität. In spezialisierten Kliniken empfehlen wir die routinemäßige Messung des okulären Schutzindex bei Patienten mit KCS als eine Messgröße für dieses Risiko. Eine hohe Osmolarität in einer Tränenmeniskusprobe weist auf eine sehr viel höhere Osmolarität an der Augenoberfläche hin.

Der Unterausschuss hat immer mehr Evidenz gefunden, die die Rolle der Gewebeyperosmolarität an der Augenoberfläche als ein zentrales Element bei der KCS unterstützt, das durch Exposition gegenüber hyperosmolaren Tränen insbesondere nach einem Aufreißen des Tränenfilms erzeugt wird. Zwar betont der Unterausschuss dies, erkennt aber auch an, dass hohe Osmolaritätsstufen noch nie direkt an der kornealen Oberfläche gemessen wurden, und hat empfohlen, die Priorität auf die Entwicklung von Methoden zum Messen der Molarität auf Gewebeebene zu legen.

Ein neutrophiler Abwehrmechanismus (NETosis), der als eine Ursache für Schleimhautschädigungen bei anderen Erkrankungen wie Mukoviszidose bekannt ist, kann die Ursache für Schädigungen der Augenoberfläche bei der KCS sein, die durch vermehrte epitheliale Abstoßung, Tränenhyperosmolarität und einen Rückgang der Tränen-Nukleaseaktivität verstärkt werden. In die Tränenflüssigkeit freigesetzte DNA (eDNA) aus sich abschilfernden Epithelzellen und eindringenden Neutrophilen kann unabhängig von oder in Kombination mit anderen Komponenten neutrophilen Ursprungs eine Schädigung der Augenoberfläche verursachen. Absterbende Neutrophile können ihren zellulären Inhalt in den extrazellulären Raum freisetzen und klebrige, antimikrobielle neutrophile extrazelluläre Fallen oder „NETs“ (Neutrophil Extracellular Traps) zu bilden. Sie bilden extrazelluläre Netze mit dekondensiertem Chromatin, Histonen, neutrophiler Elastase und antimikrobiellen Peptiden, von denen jedes einzelne für Epithelzellen toxisch sein kann. Da bei geschlossenen Augen über Nacht physiologisch zahlreiche Neutrophile in die Tränenflüssigkeit eindringen, scheint es wichtig, die Beziehung zwischen der NET-Bildung und Tränenphänomenen bei geschlossenen Augen zu untersuchen. Der Unterausschuss empfiehlt die Untersuchung von Tränenflüssigkeit bei geschlossenen Augen und von Impressions-Zytologieproben der Konjunktiva bei KCS-Patienten unmittelbar nachdem die Augen eine längere Zeit geschlossen waren.

Im TFOS DEWS Report[1] wurde das Konzept eines Circulus vitiosus entzündlicher Ereignisse an der Augenoberfläche als Grundlage für die Selbsterhaltung der KCS vorgestellt. Evidenz hat darauf hingedeutet, dass Tränenhyperosmolarität eine schädigende Entzündungskaskade an der Augenoberfläche einleiten könnte, die die Benetzbarkeit verringern sowie Tränenfilminstabilität und ein Aufreißen des Tränenfilms induzieren und so die Tränenhyperosmolarität verstärken könnte. Ein wichtiger Punkt ist, dass eine bestimmte Ätiologie der KCS an jedem beliebigen Punkt in den Circulus vitiosus eintreten und sich an diesem Prozess beteiligen kann (Abb. 5). Seit dieser Zeit wurde für dieses Konzept eine umfassende Menge an Evidenz auf experimenteller und klinischer Ebene gesammelt, unter anderem auch detailliertes Wissen über die Immunzellenaktivierung und -invasion und über die beteiligten Entzündungsmediatoren und Proteasen. Weitere experimentelle Evidenz in einem Mausmodell deutet darauf hin, dass die Augenoberflächenentzündung länger anhalten kann als die DES-Exposition und möglicherweise in der Lage ist, die klinischen Merkmale der Erkrankung zu aufrecht zu erhalten. Die potentielle Dissoziation zwischen Ursache und Wirkung kann zum Teil die Diskrepanz zwischen einigen objektiven Zeichen und Patientensymptomen erklären, von der in der Literatur berichtet wird.

Bei der KCS jeglicher Ursache wird die Tränenhyperosmolarität durch einen oder beide der folgenden Mechanismen ausgelöst. Bei ADDE gibt es eine Tränensekretionsdefizienz, aber eine normale Verdunstungsrate aus einem Tränenfilm reduzierten Volumens. Bei dem EDE resultiert die Hyperosmolarität aus einer übermäßigen Verdunstung von Tränen bei normaler lakrimaler Funktion. Da alle Formen der KCS auf Wasserverlust aus dem Tränenfilm zurückzuführen sind, wird das Herbeiführen der Hyperosmolarität an der Augenoberfläche stark von Umweltbedingungen beeinflusst, einschließlich der Umgebungsluftfeuchtigkeit, des Luftstroms und der Temperatur als auch vom Lidschlagintervall, der Lidöffnung

und dem Hervorstehen des Augapfels. Ungünstige Bedingungen können entweder den Ausbruch der KCS auslösen oder ihren Schweregrad verstärken. Die Auswirkung der Umgebung wird durch die neu beschriebene Erkrankung SBUDE hervorgehoben, die bei japanischen Büroangestellten beobachtet wurde. Die ergonomischen und umweltbedingten Faktoren, die diese Form der KCS herbeiführen, müssen weiter untersucht werden.

Es ist evident, dass es viele *hybride Formen der KCS* gibt, bei denen die lakrimale Defizienz und der verstärkte Verdunstungsverlust zusammenwirken und eine erhöhte Hyperosmolarität der Augenoberfläche hervorrufen. Diese werden in **Tabelle 13** zusammengefasst. Solche hybriden Erkrankungen sollten in den Einschlusskriterien klinischer Studien und in Subgruppenanalysen von Ergebnissen berücksichtigt werden. Sobald ein trockenes Auge so schwerwiegend ist, dass es zu einem Aufreißen des Tränenfilms während des Lidschlagintervalls kommt, wird jeder beliebigen Form der KCS eine evaporative Komponente hinzugefügt, sodass alle Formen von ADDE eine evaporative Komponente erhalten und die evaporative Basis eines bereits bestehenden EDE verstärkt wird. Studien, in denen die diese Vorhersage durch Vergleichen des okulären Schutzindex mit der Verdunstungsrate und der Tränenosmolarität untersucht wird, wären von großem Wert.

Dieser Hybridzustand sollte den auslösenden Mechanismus der KCS nicht vernebeln. Es wird vorhergesagt, dass die Konzentrationen der lakrimalen Proteine, von Lysozym, Laktoferrin und Peroxidase in der Tränenflüssigkeit normal bleiben, wenn die auslösende Ursache EDE ist, dass sie aber aufgrund der lakrimalen Azinusdestruktion gesenkt werden, wenn die Ursache ADDE ist. Diese Hypothese sollte in der Praxis getestet werden. Es ist eine revidierte Ausdrucksweise erforderlich, um diese und andere Formen hybrider KCS abzudecken.

Es gibt eine Vielzahl von *Tiermodellen der KCS*, die verschiedene pathophysiologische Mechanismen behandeln, die für die KCS verantwortlich sind, dazu gehören Tränendrüseninsuffizienz, MGD, Störung der Innervation, humorale Mechanismen und Umweltbelastung. Genetische Manipulation wurde genutzt, um die Faktoren zu erforschen, die die Anfälligkeit beeinflussen. Dadurch wurden hypothesengenerierende Einsichten in die Ursachen der KCS beim Menschen gewonnen, und da Haustiere unter spontaner, autoimmuner KCS leiden können, sind die Ergebnisse von klinischem Interesse für die Veterinär- und Humanmedizin. Sie bieten auch eine Gelegenheit für toxikologische und pharmakokinetische Studien neuer Medikamente, die möglicherweise das Sehvermögen bewahren können.

Mausmodelle der DES-Exposition und des SCP ermöglichen es, die Zeit der KCS-Entwicklung von ihrem Beginn an zu messen. In diesen Modellen wurde festgestellt, dass eine Konstellation von Zytokinen und Chemokinen Schädigungen der Augenoberfläche verursachen, wobei es je nach Modell des Experiments Unterschiede bei den Ergebnissen gibt.

Modelle der Autoimmun-KCS, die das Sjögren-Syndrom simulieren, hängen von der genetischen Anfälligkeit ab. In verschiedenen Modellen wurde der Einfluss autoreaktiver T-Zellen, störender TGF- $\beta$ -Signalgebung oder des Fas-Fas-Ligandensystems, der Induktion glandulärer Apoptose, der Manipulation durch Geschlechtshormone und der Erzeugung von Autoantikörpern erforscht, die bei der menschlichen Erkrankung zu finden sind. Bei den meisten dieser Modelle entwickelten sich die Erkrankungen im

Lauf der Zeit spontan zu Erkrankungen unterschiedlicher Schwere. Im Gegensatz zu DES- und SCP-Modellen ist der spezifische Auslöser für das Einsetzen der Krankheit nicht bekannt. Daher sind solche Modelle, in denen genetisch modifizierte Tiere DES-Bedingungen ausgesetzt werden, von besonderem Interesse bei der Überbrückung der Wissenslücke zwischen Initiierung und Anfälligkeit bei verschiedenen Modellsystemen. Die Rolle der genetischen Anfälligkeit für das altersbedingte NSDE beim Menschen ist noch nicht angemessen erforscht.

Es wurden sowohl Modelle der altersbedingten als auch der chronischen KCS mit geschlechtsspezifischen Unterschieden im Schweregrad, einschließlich der kornealen Schäden (C57BL/6) und der Becherzellendichte (MRL.lpr.B6), entwickelt, die für die Erkrankung beim Menschen von großem Interesse sind. Es hat sich gezeigt, dass T-Helferzellen-Zytokine (Th1 und Th2) entgegengesetzte Auswirkungen auf die konjunktivale Becherzellenentwicklung und -erhaltung haben. Das Th2-Zytokin IL-13 leitet die Becherzellendifferenzierung und die Schleimproduktion ein, und das Th1-Zytokin IFN- $\gamma$  verursacht Becherzellenverlust in einem DES-Modell der KCS. In einigen Modellen wurde eine geschlechtsbezogene Verzerrung für die Sialadenitis im Vergleich zur Dakryoadenitis nachgewiesen.

Dieser Unterausschuss hat einige Bemühungen unternommen, um die klinischen und pathologischen Merkmale von Sjögren-Syndrom in Bezug auf seine Auswirkung auf die Tränen- und Speicheldrüsen zu vergleichen und zu gegenüberzustellen. Es kann noch mehr Arbeit auf verschiedenen Ebenen durchgeführt werden. Frisches Tränendrüsenepithel ist selten, aber es sollten Chancen wahrgenommen werden, Banken für Post-Mortem-Tränendrüsen- und -Speicheldrüsenepithel, die von Patienten mit gut charakterisiertem Sjögren-Syndrom und NSDE stammen, für Forschungszwecke aufzubauen.

Die potentielle Rolle viraler Auslöser des Sjögren-Syndroms bei genetisch prädisponierten Personen sollte weiter erforscht werden. Wenn Exposition und Infektion so weit verbreitet sind, wie das bei dem Epstein-Barr-Virus der Fall ist, kann diese Aufgabe anfänglich entmutigend erscheinen, aber gespeicherte Blutdaten sind potentiell für große Zahlen exponierter und nicht exponierter Personen vorhanden und wurden epidemiologisch für die Untersuchung der Rolle von EBV als ein Risikofaktor für Multiple Sklerose und SLE verwendet [1099–1101]. Dieser Ansatz sollte für die Untersuchung des Sjögren-Syndroms genutzt werden.

## Danksagungen

Der Unterausschuss möchte Jutta Horwath-Winter für ihre Hilfe bei der Überprüfung wichtiger Aspekte dieses Berichts, Barbara Caffery, Donald Korb und Tannin Schmidt für ihre Beiträge zu den Abschnitten zum Sjögren-Syndrom, zum Lidschlag und zu Reibungskräften und bei Maria Markoulli und Driss Zoukhri für ihre engagierte Arbeit bei der Vorbereitung des Manuskripts danken.

## Literaturangaben

- [1] Report of the international dry eye workshop (DEWS). *Ocul Surf* 2007;5: 65–204.
- [2] Dean C, Ito M, Makarenkova HP, Faber SC, Lang RA. Bmp7 regulates branching morphogenesis of the lacrimal gland by promoting mesenchymal proliferation and condensation. *Development* 2004;131:4155–65.
- [3] Makarenkova HP, Ito M, Govindarajan V, Faber SC, Sun L, McMahon G, et al. FGF10 is an inducer and Pax6 a competence factor for lacrimal gland development. *Development*

2000;127:2563–72.

- [4] Grishina I, Lattes B. A novel Cdk2 interactor is phosphorylated by Cdc7 and associates with components of the replication complexes. *Cell Cycle* 2005;4: 1120–6.
- [5] Fernandez-Valencia R, Gomez Pellico L. Functional anatomy of the human saccus lacrimalis. *Acta Anat* 1990;139:54–9.
- [6] Bron AJ. Lacrimal streams: the demonstration of human lacrimal fluid secretion and the lacrimal ductules. *Br J Ophthalmol* 1986;70:241–5.
- [7] Seifert P, Spitznas M, Koch F, Cusumano A. The architecture of human accessory lacrimal glands. *Ger J Ophthalmol* 1993;2:444–54.
- [8] Bergmanson JP, Doughty MJ, Blocker Y. The acinar and ductal organisation of the tarsal accessory lacrimal gland of Wolfring in rabbit eyelid. *Exp Eye Res* 1999;68:411–21.
- [9] Allansmith MR, Kajiyama G, Abelson MB, Simon MA. Plasma cell content of main and accessory lacrimal glands and conjunctiva. *Am J Ophthalmol* 1976;82:819–26.
- [10] Seifert P, Spitznas M. Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) innervation of the human eyelid glands. *Exp Eye Res* 1999;68:685–92.
- [11] Wieczorek R, Jakobiec FA, Sacks EH, Knowles DM. The immunoarchitecture of the normal human lacrimal gland. Relevancy for understanding pathologic conditions. *Ophthalmology* 1988;95:100–9.
- [12] Dartt DA. Regulation of tear secretion. *Adv Exp Med Biol* 1994;350:1–9.
- [13] Dartt DA. Neural regulation of lacrimal gland secretory processes: relevance in dry eye diseases. *Prog Retin Eye Res* 2009;28:155–77.
- [14] Knop E, Knop N. The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection. *J Anat* 2005;206:271–85.
- [15] Dartt DA. Signal transduction and control of lacrimal gland protein secretion: a review. *Curr Eye Res* 1989;8:619–36.
- [16] Jager K, Wu G, Sel S, Garreis F, Brauer L, Paulsen FP. MUC16 in the lacrimal apparatus. *Histochem Cell Biol* 2007;127:433–8.
- [17] Jumblatt MM, McKenzie RW, Steele PS, Emberts CG, Jumblatt JE. MUC7 expression in the human lacrimal gland and conjunctiva. *Cornea* 2003;22: 41–5.
- [18] Paulsen F, Langer G, Hoffmann W, Berry M. Human lacrimal gland mucins. *Cell Tissue Res* 2004;316:167–77.
- [19] Mircheff AK. Lacrimal gland fluid and electrolyte secretion: a review. *Curr Eye Res* 1989;8:607–17.
- [20] Mircheff AK. Water and electrolyte secretion and fluid modification. In: Albert D, Jakobiec F, editors. *Principles and Practice of Ophthalmology: Basic Sciences*. Philadelphia: WB Saunders Company; 1994. p. 466–72.
- [21] Makarenkova HP, Dartt DA. Myoepithelial cells: their origin and function in lacrimal gland morphogenesis, homeostasis, and repair. *Curr Mol Biol Rep* 2015;1:115–23.
- [22] Leeson TS, Leeson CR. Myoepithelial cells in the exorbital lacrimal and parotid glands of the rat in frozen-etched replicas. *Am J Anat* 1971;132: 133–45.
- [23] Botelho SY. Tears and the lacrimal gland. *Sci Am* 1964;211:78–86.
- [24] Sibony PA, Walcott B, McKeon C, Jakobiec FA. Vasoactive intestinal polypeptide and the innervation of the human lacrimal gland. *Arch Ophthalmol* 1988;106:1085–8.
- [25] Hodges RR, Dartt DA. Regulatory pathways in lacrimal gland epithelium. *Int Rev Cytol* 2003;231:129–96.
- [26] Gupta A, Heigle T, Pflugfelder SC. Nasolacrimal stimulation of aqueous tear production. *Cornea* 1997;16:645–8.
- [27] Berthong M. Pathologic changes secondary to radiation. *World J Surg* 1986;10:155–70.
- [28] Ackermann P, Hetz S, Dieckow J, Schicht M, Richter A, Kruse C, et al. Isolation and investigation of presumptive murine lacrimal gland stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:4350–63.
- [29] Shatos MA, Haugaard-Kedstrom L, Hodges RR, Dartt DA. Isolation and characterization of progenitor cells in uninjured, adult rat lacrimal gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:2749–59.
- [30] Zoukhri D. Mechanisms involved in injury and repair of the murine lacrimal gland: role of programmed cell death and mesenchymal stem cells. *Ocul Surf* 2010;8:60–9.
- [31] Zoukhri D, Fix A, Alroy J, Kublin CL. Mechanisms of murine lacrimal gland repair after experimentally induced inflammation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:4399–406.
- [32] Zoukhri D. Effect of inflammation on lacrimal gland function. *Exp Eye Res* 2006;82:885–98.
- [33] Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009;139:871–90.
- [34] Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008;133:704–15.
- [35] You S, Avidan O, Tariq A, Ahluwalia I, Stark PC, Kublin CL, et al. Role of epithelial-mesenchymal transition in repair of the lacrimal gland after experimentally induced injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:126–35.
- [36] Knop E, Knop N, Millar T, Obata H, Sullivan DA. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and

- pathophysiology of the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1938–78.
- [37] Foulks GN, Bron AJ. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *Ocul Surf* 2003;1:107–26.
- [38] Andersen H, Ehlers N, Matthiessen ME. Histochemistry and development of the human eyelids. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1965;43:642–68.
- [39] Jester JV, Nicolaidis N, Kiss-Palvolgyi I, Smith RE. Meibomian gland dysfunction. II. The role of keratinization in a rabbit model of MGD. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:936–45.
- [40] Knop E, Knop N, Zhivov A, Kraak R, Korb DR, Blackie C, et al. The lid wiper and mucocutaneous junction anatomy of the human eyelid margins: an in vivo confocal and histological study. *J Anat* 2011;218:449–61.
- [41] Cox SM, Nichols JJ. The neurobiology of the meibomian glands. *Ocul Surf* 2014;12:167–77.
- [42] Kam WR, Sullivan DA. Neurotransmitter influence on human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:8543–8.
- [43] Sullivan DA, Liu Y, Kam WR, Ding J, Green KM, Shaffer SA, et al. Serum-induced differentiation of human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:3866–77.
- [44] Schirra F, Suzuki T, Richards SM, Jensen RV, Liu M, Lombardi MJ, et al. Androgen control of gene expression in the mouse meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3666–75.
- [45] Ding J, Kam WR, Dieckow J, Sullivan DA. The influence of 13-cis retinoic acid on human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:4341–50.
- [46] Ding J, Liu Y, Sullivan DA. Effects of insulin and high glucose on human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56: 7814–20.
- [47] Ding J, Sullivan DA. The effects of insulin-like growth factor 1 and growth hormone on human meibomian gland epithelial cells. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:593–9.
- [48] Gidfar S, Afsharkhamseh N, Sanjari S, Djalilian AR. Notch signaling in meibomian gland epithelial cell differentiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:859–65.
- [49] Khandelwal P, Liu S, Sullivan DA. Androgen regulation of gene expression in human meibomian gland and conjunctival epithelial cells. *Mol Vis* 2012;18: 1055–67.
- [50] Liu S, Hatton MP, Khandelwal P, Sullivan DA. Culture, immortalization, and characterization of human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:3993–4005.
- [51] Liu S, Kam WR, Ding J, Hatton MP, Sullivan DA. Effect of growth factors on the proliferation and gene expression of human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:2541–50.
- [52] Liu Y, Ding J. The combined effect of azithromycin and insulin-like growth factor-1 on cultured human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:5596–601.
- [53] Liu Y, Kam WR, Ding J, Sullivan DA. Can tetracycline antibiotics duplicate the ability of azithromycin to stimulate human meibomian gland epithelial cell differentiation? *Cornea* 2015;34:342–6.
- [54] Liu Y, Kam WR, Ding J, Sullivan DA. Effect of azithromycin on lipid accumulation in immortalized human meibomian gland epithelial cells. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:226–8.
- [55] Liu Y, Kam WR, Ding J, Sullivan DA. One man's poison is another man's meat: using azithromycin-induced phospholipidosis to promote ocular surface health. *Toxicology* 2014;320:1–5.
- [56] Liu Y, Kam WR, Sullivan DA. Influence of omega 3 and 6 fatty acids on human meibomian gland epithelial cells. *Cornea* 2016;35:1122–6.
- [57] Liu Y, Knop E, Knop N, Sullivan DA, List EO, Kopchick JJ, et al. Growth hormone influence on the morphology and size of the mouse meibomian gland. *J Ophthalmol* 2016;2016:5728071.
- [58] Liu Y, Kam WR, Fernandes P, Sullivan DA. The effect of solithromycin, a cationic amphiphilic drug, on the proliferation and differentiation of human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017. ARVO abstract #4379.
- [59] Kam W, Sullivan D. Suppressing effects of 17 $\beta$ -estradiol on immortalized human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013. ARVO e-abstract #4316.
- [60] Sahin A, Kam WR, Darabad RR, Topilow K, S DA. Regulation of leukotriene B<sub>4</sub> secretion by human corneal, conjunctival, and meibomian gland epithelial cells. *Arch Ophthalmol* 2012;130:1013–8.
- [61] Zhang Y, Kam WR, Liu Y, Chen X, Sullivan DA. Influence of pilocarpine and timolol on human meibomian gland epithelial cells. *Cornea* 2017;36: 719–24.
- [62] Kam W, Sullivan DA, Sullivan BD, Venkiteshwar. Does hyperosmolarity induce an irreversible process leading to human corneal epithelial cell death? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016. ARVO Abstract #6161.
- [63] Zhang SD, He JN, Niu TT, et al. Bacteriological profile of ocular surface flora in meibomian gland dysfunction. *Ocul Surf* 2017;15:242–7.
- [64] Butovich IA. Lipidomic analysis of human meibum using HPLC-MSn. *Methods Mol Biol* 2009;579:221–46.
- [65] Brown SH, Kunnen CM, Papas EB, Lazon de la Jara P, Willcox MD, Blanksby SJ, et al. Intersubject and Interday variability in human tear and meibum lip- idomes: a pilot study. *Ocul Surf* 2016;14:43–8.
- [66] Brown SH, Kunnen CM, Duchoslav E, Dolla NK, Kelso MJ, Papas EB, et al. A comparison of patient matched meibum and tear lipidomes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:7417–24.
- [67] Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Biochemistry*. fifth ed. New York: W. H. Freeman and Co; 2002.
- [68] Schirra F, Suzuki T, Dickinson DP, Townsend DJ, Gipson IK, Sullivan DA. Identification of steroidogenic enzyme mRNAs in the human lacrimal gland, meibomian gland, cornea, and conjunctiva. *Cornea* 2006;25:438–42.
- [69] Schirra F, Richards SM, Liu M, Suzuki T, Yamagami H, Sullivan DA. Androgen regulation of lipogenic pathways in the mouse meibomian gland. *Exp Eye Res* 2006;83:291–6.
- [70] Rawson RB. The site-2 protease. *Biochim Biophys Acta* 2013;1828:2801–7.
- [71] Horton JD, Shah NA, Warrington JA, Anderson NN, Park SW, Brown MS, et al. Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:12027–32.
- [72] Swinnen JV, Heemers H, van de Sande T, de Schrijver E, Brusselmans K, Heyns W, et al. Androgens, lipogenesis and prostate cancer. *J Steroid Bio- chem Mol Biol* 2004;92:273–9.
- [73] Megarbane H, Megarbane A. Ichthyosis follicularis, alopecia, and photo- phobia (IFAP) syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:29.
- [74] Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea* 2003;22:640–50.
- [75] Knop N, Knop E. Ultrastructural anatomy of CALT follicles in the rabbit re- veals characteristics of M-cells, germinal centres and high endothelial ve- nules. *J Anat* 2005;207:409–26.
- [76] Wolff [Not Available] *Homeopath Fr* 1946;22:189.
- [77] Bron AJ. The Doyné lecture. Reflections on the tears. *Eye (Lond)* 1997;11(Pt 5):583–602.
- [78] Mantelli F, Massaro-Giordano M, Macchi I, Lambiase A, Bonini S. The cellular mechanisms of dry eye: from pathogenesis to treatment. *J Cell Physiol* 2013;228:2253–6.
- [79] Bron AJ. The definition and classification of dry eye disease. In: Chan C, ed- itor. *Dry Eye: A Practical Approach*. Springer; 2015.
- [80] Pellegrini G, Golisano O, Paterna P, Lambiase A, Bonini S, Rama P, et al. Location and clonal analysis of stem cells and their differentiated progeny in the human ocular surface. *J Cell Biol* 1999;145:769–82.
- [81] Dartt DA. Regulation of mucin and fluid secretion by conjunctival epithelial cells. *Prog Retin Eye Res* 2002;21:555–76.
- [82] Schmidt TA, Sullivan DA, Knop E, Richards SM, Knop N, Liu S, et al. Tran- scription, translation, and function of lubricin, a boundary lubricant, at the ocular surface. *JAMA Ophthalmol* 2013;131:766–76.
- [83] Argueso P, Gipson IK. Epithelial mucins of the ocular surface: structure, biosynthesis and function. *Exp Eye Res* 2001;73:281–9.
- [84] Levin MH, Verkman AS. Aquaporin-dependent water permeation at the mouse ocular surface: in vivo microfluorimetric measurements in cornea and conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4423–32.
- [85] Knop E, Knop N, Claus P. Local production of secretory IgA in the eye-asso- ciated lymphoid tissue (EALT) of the normal human ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:2322–9.
- [86] Barrandon Y. The biology of epidermal stem cells. *Ann Dermatol Venerol* 1998;125(Suppl 2):S5–6.
- [87] Lajtha LG. Stem cell concepts. *Nouv Rev Fr Hematol* 1979;21:59–65.
- [88] Dua HS, Miri A, Alomar T, Yeung AM, Said DG. The role of limbal stem cells in corneal epithelial maintenance: testing the dogma. *Ophthalmology* 2009;116:856–63.
- [89] Dziasko MA, Daniels JT. Anatomical features and cell-cell interactions in the human limbal epithelial stem cell niche. *Ocul Surf* 2016;14:322–30.
- [90] Ramos T, Scott D, Ahmad S. An update on ocular surface epithelial stem cells: cornea and conjunctiva. *Stem Cells Int* 2015;2015:601731.
- [91] Tseng SC, He H, Zhang S, Chen SY. Niche regulation of limbal epithelial stem cells: relationship between inflammation and regeneration. *Ocul Surf* 2016;14:100–12.
- [92] Wei ZG, Sun TT, Lavker RM. Rabbit conjunctival and corneal epithelial cells belong to two separate lineages. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:523–33.
- [93] Wei ZG, Wu RL, Lavker RM, Sun TT. In vitro growth and differentiation of rabbit bulbar, fornix, and palpebral conjunctival epithelia. Implications on conjunctival epithelial transdifferentiation and stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:1814–28.
- [94] Pe'er J, Zajicek G, Greifner H, Kogan M. Streaming conjunctiva. *Anat Rec* 1996;245:36–40.
- [95] Wirtschafter JD, Ketcham JM, Weinstock RJ, Tabesh T, McLoon LK. Mucocu- taneous junction as the major source of replacement palpebral conjunctival epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:3138–46.

- [96] Stewart RM, Sheridan CM, Hiscott PS, Czanner G, Kaye SB. Human conjunctival stem cells are predominantly located in the medial canthal and inferior Forniceal areas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:2021–30.
- [97] Kessing SV. Mucous gland system of the conjunctiva. A quantitative normal anatomical study. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1968;(Suppl 95):91+.
- [98] Perez-Vilar J, Hill RL. The structure and assembly of secreted mucins. *J Biol Chem* 1999;274:31751–4.
- [99] Gipson IK. Distribution of mucins at the ocular surface. *Exp Eye Res* 2004;78: 379–88.
- [100] Mantelli F, Argueso P. Functions of ocular surface mucins in health and disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008;8:477–83.
- [101] Knop N, Korb DR, Blackie CA, Knop E. The lid wiper contains goblet cells and goblet cell crypts for ocular surface lubrication during the blink. *Cornea* 2012;31:668–79.
- [102] Knop N, Knop E. The crypt system of the human conjunctiva. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:867–72.
- [103] Gordon YJ, Romanowski EG, McDermott AM. A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. *Curr Eye Res* 2005;30:505–15.
- [104] Knop E, Korb DR, Blackie CA, Knop N. The lid margin is an underestimated structure for preservation of ocular surface health and development of dry eye disease. *Dev Ophthalmol* 2010;45:108–22.
- [105] De Paiva CS, Raince JK, McClellan AJ, Shanmugam KP, Pangelinan SB, Volpe EA, et al. Homeostatic control of conjunctival mucosal goblet cells by NKT-derived IL-13. *Mucosal Immunol* 2011;4:397–408.
- [106] Diebold Y, Rios JD, Hodges RR, Rawe I, Dartt DA. Presence of nerves and their receptors in mouse and human conjunctival goblet cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2270–82.
- [107] Rios JD, Forde K, Diebold Y, Lightman J, Zieske JD, Dartt DA. Development of conjunctival goblet cells and their neuroreceptor subtype expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:2127–37.
- [108] Rios JD, Zoukhri D, Rawe IM, Hodges RR, Zieske JD, Dartt DA. Immunolocalization of muscarinic and VIP receptor subtypes and their role in stimulating goblet cell secretion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:1102–11.
- [109] Dartt DA, Kessler TL, Chung EH, Zieske JD. Vasoactive intestinal peptide-stimulated glycoconjugate secretion from conjunctival goblet cells. *Exp Eye Res* 1996;63:27–34.
- [110] Hodges RR, Bair JA, Carozza RB, Li D, Shtatos MA, Dartt DA. Signaling pathways used by EGF to stimulate conjunctival goblet cell secretion. *Exp Eye Res* 2012;103:99–113.
- [111] Fujihara T, Murakami T, Fujita H, Nakamura M, Nakata K. Improvement of corneal barrier function by the P2Y(2) agonist INS365 in a rat dry eye model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:96–100.
- [112] Jumblatt JE, Jumblatt MM. Regulation of ocular mucin secretion by P2Y2 nucleotide receptors in rabbit and human conjunctiva. *Exp Eye Res* 1998;67: 341–6.
- [113] Rios JD, Ghinelli E, Gu J, Hodges RR, Dartt DA. Role of neurotrophins and neurotrophin receptors in rat conjunctival goblet cell secretion and proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:1543–51.
- [114] Hingorani M, Metz D, Lightman SL. Characterisation of the normal conjunctival leukocyte population. *Exp Eye Res* 1997;64:905–12.
- [115] Allansmith MR, Greiner JV, Baird RS. Number of inflammatory cells in the normal conjunctiva. *Am J Ophthalmol* 1978;86:250–9.
- [116] Allansmith M, de Ramus A, Maurice D. The dynamics of IgG in the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1979;18:947–55.
- [117] Knop N, Knop E. Conjunctiva-associated lymphoid tissue in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1270–9.
- [118] Knop E, Knop N. Conjunctiva-associated lymphoid tissue (CALT) in the human eye – components and topographical distribution. *Ophthalmic Res* 1999;31(Suppl.):156.
- [119] Knop E, Knop N. A functional unit for ocular surface immune defense formed by the lacrimal gland, conjunctiva and lacrimal drainage system. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:835–44.
- [120] Dua HS, Gomes JA, Jindal VK, Appa SN, Schwarting R, Eagle Jr RC, et al. Mucosa specific lymphocytes in the human conjunctiva, corneoscleral limbus and lacrimal gland. *Curr Eye Res* 1994;13:87–93.
- [121] Wotherspoon AC, Hardman-Lea S, Isaacson PG. Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) in the human conjunctiva. *J Pathol* 1994;174:33–7.
- [122] Nichols B, Dawson CR, Togni B. Surface features of the conjunctiva and cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1983;24:570–6.
- [123] Cope C, Dilly PN, Kaura R, Tiffany JM. Wettability of the corneal surface: a reappraisal. *Curr Eye Res* 1986;5:777–85.
- [124] Gipson IK, Argueso P. Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. *Int Rev Cytol* 2003;231:1–49.
- [125] Liotet S, Van Bijsterveld OP, Kogbe O, Laroche L. A new hypothesis on tear film stability. *Ophthalmologica* 1987;195:119–24.
- [126] Cai K, Wei R. Interleukin-7 expression in tears and orbital tissues of patients with Graves' ophthalmopathy. *Endocrine* 2013;44:140–4.
- [127] Sumiyoshi M, Ricciuto J, Tisdale A, Gipson IK, Mantelli F, Argueso P. Anti-adhesive character of mucin O-glycans at the apical surface of corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:197–203.
- [128] Blalock JD, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Heimer SR, Gilmore MS, Ramesh V, et al. Functions of MUC16 in corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:4509–18.
- [129] Ricciuto J, Heimer SR, Gilmore MS, Argueso P. Cell surface O-glycans limit *Staphylococcus aureus* adherence to corneal epithelial cells. *Infect Immun* 2008;76:5215–20.
- [130] Govindarajan B, Gipson IK. Membrane-tethered mucins have multiple functions on the ocular surface. *Exp Eye Res* 2010;90:655–63.
- [131] Inatomi T, Spurr-Michaud S, Tisdale AS, Gipson IK. Human corneal and conjunctival epithelia express MUC1 mucin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:1818–27.
- [132] Inatomi T, Spurr-Michaud S, Tisdale AS, Zhan Q, Feldman ST, Gipson IK. Expression of secretory mucin genes by human conjunctival epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:1684–92.
- [133] Argueso P, Spurr-Michaud S, Russo CL, Tisdale A, Gipson IK. MUC16 mucin is expressed by the human ocular surface epithelia and carries the H185 carbohydrate epitope. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:2487–95.
- [134] Argueso P, Guzman-Aranguez A, Mantelli F, Cao Z, Ricciuto J, Panjwani N. Association of cell surface mucins with galectin-3 contributes to the ocular surface epithelial barrier. *J Biol Chem* 2009;284:23037–45.
- [135] Moniaux N, Escande F, Porchet N, Aubert JP, Batra SK. Structural organization and classification of the human mucin genes. *Front Biosci* 2001;6: D1192–206.
- [136] Yin BW, Lloyd KO. Molecular cloning of the CA125 ovarian cancer antigen: identification as a new mucin, MUC16. *J Biol Chem* 2001;276:27371–5.
- [137] Komatsu M, Yee L, Caraway KL. Overexpression of sialomucin complex, a rat homologue of MUC4, inhibits tumor killing by lymphokine-activated killer cells. *Cancer Res* 1999;59:2229–36.
- [138] Caraway KL, Hull SR. Cell surface mucin-type glycoproteins and mucin-like domains. *Glycobiology* 1991;1:131–8.
- [139] Hatstrup CL, Gendler SJ. Structure and function of the cell surface (tethered) mucins. *Annu Rev Physiol* 2008;70:431–57.
- [140] Hilken J, Vos HL, Wesseling J, Boer M, Storm J, van der Valk S, et al. Is episialin/MUC1 involved in breast cancer progression? *Cancer Lett* 1995;90: 27–33.
- [141] Wesseling J, van der Valk SW, Vos HL, Sonnenberg A, Hilken J. Episialin (MUC1) overexpression inhibits integrin-mediated cell adhesion to extracellular matrix components. *J Cell Biol* 1995;129:255–65.
- [142] Cascio S, Zhang L, Finn OJ. MUC1 protein expression in tumor cells regulates transcription of proinflammatory cytokines by forming a complex with nuclear factor-kappaB p65 and binding to cytokine promoters: importance of extracellular domain. *J Biol Chem* 2011;286:42248–56.
- [143] Roy LD, Sahraei M, Subramani DB, Besmer D, Nath S, Tinder TL, et al. MUC1 enhances invasiveness of pancreatic cancer cells by inducing epithelial to mesenchymal transition. *Oncogene* 2011;30:1449–59.
- [144] Pflugfelder SC, Liu Z, Monroy D, Li DQ, Carvajal ME, Price-Schiavi SA, et al. Detection of sialomucin complex (MUC4) in human ocular surface epithelium and tear fluid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1316–26.
- [145] O'Brien TJ, Beard JB, Underwood LJ, Dennis RA, Santin AD, York L. The CA 125 gene: an extracellular superstructure dominated by repeat sequences. *Tumour Biol* 2001;22:348–66.
- [146] O'Brien TJ, Beard JB, Underwood LJ, Shigemasa K. The CA 125 gene: a newly discovered extension of the glycosylated N-terminal domain doubles the size of this extracellular superstructure. *Tumour Biol* 2002;23:154–69.
- [147] Gipson IK, Spurr-Michaud S, Tisdale A, Menon BB. Comparison of the transmembrane mucins MUC1 and MUC16 in epithelial barrier function. *PLoS One* 2014;9: e100393.
- [148] Argueso P, Tisdale A, Spurr-Michaud S, Sumiyoshi M, Gipson IK. Mucin characteristics of human corneal-limbal epithelial cells that exclude the rose bengal anionic dye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:113–9.
- [149] Arafat SN, Suelves AM, Spurr-Michaud S, Chodosh J, Foster CS, Dohlman CH, et al. Neutrophil collagenase, gelatinase, and myeloperoxidase in tears of patients with stevens-johnson syndrome and ocular cicatricial pemphigoid. *Ophthalmology* 2014;121:79–87.
- [150] Mantelli F, Schaffer L, Dana R, Head SR, Argueso P. Glycogene expression in conjunctiva of patients with dry eye: downregulation of Notch signaling. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2666–72.
- [151] Ahmad N, Gabius HJ, Andre S, Kaltner H, Sabesan S, Roy R, et al. Galectin-3 precipitates as a pentamer with synthetic multivalent carbohydrates and forms heterogeneous cross-linked complexes. *J Biol Chem* 2004;279: 10841–7.
- [152] Barondes SH, Castronovo V, Cooper DN, Cummings RD, Drickamer K, Feizi T, et al. Galectins: a family of animal beta-galactoside-binding lectins. *Cell* 1994;76:597–8.
- [153] Rabinovich GA, Toscano MA, Jackson SS, Vasta GR. Functions of cell surface galectin-glycoprotein lattices. *Curr Opin Struct Biol* 2007;17:513–20.



- [154] Argueso P. Glycobiology of the ocular surface: mucins and lectins. *Jpn J Ophthalmol* 2013;57:150–5.
- [155] Uchino Y, Mauris J, Woodward AM, Dieckow J, Amparo F, Dana R, et al. Alteration of galectin-3 in tears of patients with dry eye disease. *Am J Ophthalmol* 2015;159:1027 e3–35 e3.
- [156] Jumblatt MM, McKenzie RW, Jumblatt JE. MUC5AC mucin is a component of the human precorneal tear film. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:43–9.
- [157] McKenzie RW, Jumblatt JE, Jumblatt MM. Quantification of MUC2 and MUC5AC transcripts in human conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:703–8.
- [158] Corrales RM, Galarreta D, Herreras JM, Saez V, Arranz I, Gonzalez MJ, et al. Conjunctival mucin mRNA expression in contact lens wear. *Optom Vis Sci* 2009;86:1051–8.
- [159] Spurr-Michaud S, Argueso P, Gipson I. Assay of mucins in human tear fluid. *Exp Eye Res* 2007;84:939–50.
- [160] Woodward AM, Argueso P. Expression analysis of the transmembrane mucin MUC20 in human corneal and conjunctival epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:6132–8.
- [161] Kinoshita S. Ocular surface reconstruction by tissue engineering. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi* 2002;106:837–68. discussion 869.
- [162] King-Smith PE, Fink BA, Fogt N, Nichols KK, Hill RM, Wilson GS. The thickness of the human precorneal tear film: evidence from reflection spectra. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3348–59.
- [163] Bron AJ, Yokoi N, Gaffney EA, Tiffany JM. A solute gradient in the tear meniscus. I. A hypothesis to explain Marx's line. *Ocul Surf* 2011;9:70–91.
- [164] McDonald JE. Surface phenomena of the tear film. *Am J Ophthalmol* 1969;67: 56–64.
- [165] Yokoi N, Uchino M, Uchino Y, Dogru M, Kawashima M, Komuro A, et al. Importance of tear film instability in dry eye disease in office workers using visual display terminals: the Osaka study. *Am J Ophthalmol* 2015;159: 748–54.
- [166] Bron AJ, Yokoi N, Yang Z, Georgiev GA. The pre-corneal fluid shell. What is the effect of drop instillation? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;2015. ARVO poster, Abstract 2496.
- [167] Doane MG. Dynamics of the human blink. *Ber Zusammenkunft Dtsch Ophthalmol Ges* 1979:13–7.
- [168] Yokoi N, Kinoshita S, Bron AJ, Tiffany JM, Sugita J, Inatomi T. Tear meniscus changes during cotton thread and Schirmer testing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3748–53.
- [169] Yokoi N, Bron AJ, Tiffany JM, Maruyama K, Komuro A, Kinoshita S. Relationship between tear volume and tear meniscus curvature. *Arch Ophthalmol* 2004;122:1265–9.
- [170] Mishima S, Gasset A, Klyce Jr SD, Baum JL. Determination of tear volume and tear flow. *Invest Ophthalmol* 1966;5:264–76.
- [171] Mainstone JC, Bruce AS, Golding TR. Tear meniscus measurement in the diagnosis of dry eye. *Curr Eye Res* 1996;15:653–61.
- [172] Shen M, Li J, Wang J, Ma H, Cai C, Tao A, et al. Upper and lower tear menisci in the diagnosis of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2722–6.
- [173] Mishima S. Some physiological aspects of the precorneal tear film. *Arch Ophthalmol* 1965;73:233–41.
- [174] Tomlinson A, Doane MG, McFadyen A. Inputs and outputs of the lacrimal system: review of production and evaporative loss. *Ocul Surf* 2009;7: 186–98.
- [175] Craig JP, Tomlinson A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optom Vis Sci* 1997;74:8–13.
- [176] Gaffney EA, Tiffany JM, Yokoi N, Bron AJ. A mass and solute balance model for tear volume and osmolarity in the normal and the dry eye. *Prog Retin Eye Res* 2010;29:59–78.
- [177] Nichols JJ, Mitchell GL, King-Smith PE. Thinning rate of the precorneal and pretear films. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2353–61.
- [178] Yokoi N, Kato H, Sakai R, Georgiev GA, Kinoshita S. Investigation of the difference in clinical manifestations in different patterns of tear film breakup. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:1978.
- [179] King-Smith PE, Hinel EA, Nichols JJ. Application of a novel interferometric method to investigate the relation between lipid layer thickness and tear film thinning. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:2418–23.
- [180] Bron AJ, Tiffany JM. The contribution of meibomian disease to dry eye. *Ocul Surf* 2004;2:149–65.
- [181] Tiffany JM. The lipid secretion of the meibomian glands. *Adv Lipid Res* 1987;22:1–62.
- [182] Georgiev GA, Yokoi N, Ivanova S, Tonchev V, Nencheva Y, Krastev R. Surface relaxations as a tool to distinguish the dynamic interfacial properties of films formed by normal and diseased meibomian lipids. *Soft Matter* 2014;10: 5579–88.
- [183] Butovich IA, Lu H, McMahon A, Ketelson H, Senchyna M, Meadows D, et al. Biophysical and morphological evaluation of human normal and dry eye meibum using hot stage polarized light microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:87–101.
- [184] Blackie CA, Korb DR, Knop E, Bedi R, Knop N, Holland EJ. Nonobvious obstructive meibomian gland dysfunction. *Cornea* 2010;29:1333–45.
- [185] Chew CK, Hykin PG, Jansweijer C, Dikstein S, Tiffany JM, Bron AJ. The casual level of meibomian lipids in humans. *Curr Eye Res* 1993;12:255–9.
- [186] Chew CK, Jansweijer C, Tiffany JM, Dikstein S, Bron AJ. An instrument for quantifying meibomian lipid on the lid margin: the Meibometer. *Curr Eye Res* 1993;12:247–54.
- [187] Holly FJ, Lemp MA. Tear physiology and dry eyes. *Surv Ophthalmol* 1977;22: 69–87.
- [188] McCulley JP, Shine W. A compositional based model for the tear film lipid layer. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1997;95:79–88. discussion 88–93.
- [189] Butovich IA. On the lipid composition of human meibum and tears: comparative analysis of nonpolar lipids. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49: 3779–89.
- [190] Green-Church KB, Butovich I, Willcox M, Borchman D, Paulsen F, Barabino S, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on tear film lipids and lipid-protein interactions in health and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1979–93.
- [191] Millar TJ. Elucidate the contribution of proteins to tears. A challenge for researchers. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2006;81:187–90.
- [192] Bron AJ, Tomlinson A, Foulks GN, Pepose JS, Baudouin C, Geerling G, et al. Rethinking dry eye disease: a perspective on clinical implications. *Ocul Surf* 2014;12:51–31.
- [193] King-Smith PE, Fink BA, Hill RM, Koelling KW, Tiffany JM. The thickness of the tear film. *Curr Eye Res* 2004;29:357–68.
- [194] Yokoi N, Yamada H, Mizukusa Y, Bron AJ, Tiffany JM, Kato T, et al. Rheology of tear film lipid layer spread in normal and aqueous tear-deficient dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:5319–24.
- [195] Goto E, Tseng SC. Kinetic analysis of tear interference images in aqueous tear deficiency dry eye before and after punctal occlusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:1897–905.
- [196] Sullivan DA, Tsubota K, Dartt DA, Stern ME, Sullivan RM, Bromberg BB, editors. *Lacrimal Gland, Tear Film and Dry Eye Syndromes 3. Basic Science and Clinical Relevance*. New York: Kluwer Academic/Plenum Press; 2002.
- [197] Yokoi N, Bron AJ, Georgiev GA. The precorneal tear film as a fluid shell: the effect of blinking and saccades on tear film distribution and dynamics. *Ocul Surf* 2014;12:252–66.
- [198] Yan~ez-Soto B, Mannis MJ, Schwab IR, Li JY, Leonard BC, Abbott NL, et al. Interfacial phenomena and the ocular surface. *Ocul Surf* 2014;12:178–201.
- [199] Rolando M, Valente C, Barabino S. New test to quantify lipid layer behavior in healthy subjects and patients with keratoconjunctivitis sicca. *Cornea* 2008;27:866–70.
- [200] Cher I. A new look at lubrication of the ocular surface: fluid mechanics behind the blinking eyelids. *Ocul Surf* 2008;6:79–86.
- [201] Holly FJ, Lemp MA. Wettability and wetting of corneal epithelium. *Exp Eye Res* 1971;11:239–50.
- [202] Norn MS. Vital staining of the canaliculus lacrimalis and the palpebral border (Marx' line). *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1966;44:948–59.
- [203] Norn MS. Dead, degenerate, and living cells in conjunctival fluid and mucous thread. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1969;47:1102–15.
- [204] Garreis F, Gottschalt M, Paulsen FP. Antimicrobial peptides as a major part of the innate immune defense at the ocular surface. *Dev Ophthalmol* 2010;45: 16–22.
- [205] Van Haeringen NJ. Clinical biochemistry of tears. *Surv Ophthalmol* 1981;26: 84–96.
- [206] Paulsen F. Cell and molecular biology of human lacrimal gland and nasolacrimal duct mucins. *Int Rev Cytol* 2006;249:229–79.
- [207] Bron AJ, Yokoi N, Gafney E, Tiffany JM. Predicted phenotypes of dry eye: proposed consequences of its natural history. *Ocul Surf* 2009;7:78–92.
- [208] Mackie IA, Seal DV. The questionably dry eye. *Br J Ophthalmol* 1981;65:2–9.
- [209] Sack RA, Tan KO, Tan A. Diurnal tear cycle: evidence for a nocturnal inflammatory constitutive tear fluid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33: 626–40.
- [210] Fullard RJ, Carney LG. Diurnal variation in human tear enzymes. *Exp Eye Res* 1984;38:15–26.
- [211] Fullard RJ, Carney LG. Human tear enzyme changes as indicators of the corneal response to anterior hypoxia. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1985;63: 678–83.
- [212] Carney LG, Hill RM. Human tear pH. Diurnal variations. *Arch Ophthalmol* 1976;94:821–4.
- [213] Terry JE, Hill RM. Human tear osmotic pressure: diurnal variations and the closed eye. *Arch Ophthalmol* 1978;96:120–2.
- [214] Bonanno JA, Polse KA. Measurement of in vivo human corneal stromal pH: open and closed eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1987;28:522–30.
- [215] McNamara NA, Chan JS, Han SC, Polse KA, McKenney CD. Effects of hypoxia on corneal epithelial permeability. *Am J Ophthalmol* 1999;127:153–7.
- [216] Daum KM, Hill RM. Human tears: glucose instabilities. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1984;62:530–6.
- [217] Jordan A, Baum J. Basic tear flow. Does it exist? *Ophthalmology* 1980;87: 920–30.
- [218] Sack RA, Beaton A, Sathe S, Morris C, Willcox M, Bogart B. Towards a closed eye model of the pre-ocular tear layer. *Prog Retin Eye Res* 2000;19:649–68.
- [219] Fullard RJ, Tucker DL. Changes in human tear protein levels with progressively

- increasing stimulus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:2290–301.
- [220] Sack RA, Underwood PA, Tan KO, Sutherland H, Morris CA. Vitronectin: possible contribution to the closed-eye external host-defense mechanism. *Ocul Immunol Inflamm* 1993;1:327–36.
- [221] Sathe S, Sakata M, Beaton AR, Sack RA. Identification, origins and the diurnal role of the principal serine protease inhibitors in human tear fluid. *Curr Eye Res* 1998;17:348–62.
- [222] Lan JX, Willcox MD, Jackson GD, Thakur A. Effect of tear secretory IgA on chemotaxis of polymorphonuclear leucocytes. *Aust N Z J Ophthalmol* 1998;26(Suppl 1):S36–9.
- [223] Connors MS, Stoltz RA, Davis KL, Dunn MW, Abraham NG, Levere RD, et al. A closed eye contact lens model of corneal inflammation. Part 2: inhibition of cytochrome P450 arachidonic acid metabolism alleviates inflammatory sequelae. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:841–50.
- [224] Willcox MD, Morris CA, Thakur A, Sack RA, Wickson J, Boey W. Complement and complement regulatory proteins in human tears. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:1–8.
- [225] Sonawane S, Khanolkar V, Namavari A, Chaudhary S, Gandhi S, Tibrewal S, et al. Ocular surface extracellular DNA and nuclease activity imbalance: a new paradigm for inflammation in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:8253–63.
- [226] Lande R, Gregorio J, Facchinetti V, Chatterjee B, Wang YH, Homey B, et al. Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. *Nature* 2007;449:564–9.
- [227] Pisetsky DS. The origin and properties of extracellular DNA: from PAMP to DAMP. *Clin Immunol* 2012;144:32–40.
- [228] Schnare M, Holt AC, Takeda K, Akira S, Medzhitov R. Recognition of CpG DNA is mediated by signaling pathways dependent on the adaptor protein MyD88. *Curr Biol* 2000;10:1139–42.
- [229] Hayashi F, Means TK, Luster AD. Toll-like receptors stimulate human neutrophil function. *Blood* 2003;102:2660–9.
- [230] Nance SC, Yi AK, Re FC, Fitzpatrick EA. MyD88 is necessary for neutrophil recruitment in hypersensitivity pneumonitis. *J Leukoc Biol* 2008;83: 1207–17.
- [231] Krysko DV, Agostinis P, Krysko O, Garg AD, Bachert C, Lambrecht BN, et al. Emerging role of damage-associated molecular patterns derived from mitochondria in inflammation. *Trends Immunol* 2011;32:157–64.
- [232] Chinery HR, McLenachan S, Binz N, Sun Y, Forrester JV, Degli-Esposti MA, et al. TLR9 ligand CpG-ODN applied to the injured mouse cornea elicits retinal inflammation. *Am J Pathol* 2012;180:209–20.
- [233] Gottenberg JE, Cagnard N, Lucchesi C, Letourneur F, Mistou S, Lazure T, et al. Activation of IFN pathways and plasmacytoid dendritic cell recruitment in target organs of primary Sjogren's syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:2770–5.
- [234] Barabino S, Chen Y, Chauhan S, Dana R. Ocular surface immunity: homeostatic mechanisms and their disruption in dry eye disease. *Prog Retin Eye Res* 2012;31:271–85.
- [235] Corrales RM, Villarreal A, Farley W, Stern ME, Li DQ, Pflugfelder SC. Strain-related cytokine profiles on the murine ocular surface in response to desiccating stress. *Cornea* 2007;26:579–84.
- [236] Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2007;176:231–41.
- [237] Saffarzadeh M, Juenemann C, Queisser MA, Lochnit G, Barreto G, Galuska SP, et al. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones. *PLoS One* 2012;7. e32366.
- [238] Xu J, Zhang X, Pelayo R, Monestier M, Ammolto CT, Semeraro F, et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med* 2009;15:1318–21.
- [239] Reinholz M, Ruzicka T, Schaubert J. Cathelicidin LL-37: an antimicrobial peptide with a role in inflammatory skin disease. *Ann Dermatol* 2012;24: 126–35.
- [240] Song JS, Kang CM, Rhee CK, et al. Effects of elastase inhibitor on the epithelial cell apoptosis in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Exp Lung Res* 2009;35:817–29.
- [241] Blalock TD, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Gipson IK. Release of membrane-associated mucins from ocular surface epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:1864–71.
- [242] Akin ML, Berry M, Dick AD, Khan-Lim D. Normal but not altered mucins activate neutrophils. *Cell Tissue Res* 2004;318:545–51.
- [243] Medina E. Neutrophil extracellular traps: a strategic tactic to defeat pathogens with potential consequences for the host. *J Innate Immun* 2009;1: 176–80.
- [244] Tibrewal S, Ivanir Y, Sarkar J, Nayeb-Hashemi N, Bouchard CS, Kim E, et al. Hyperosmolar stress induces neutrophil extracellular trap formation: implications for dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:7961–9.
- [245] Tibrewal S, Sarkar J, Jassim SH, Gandhi S, Sonawane S, Chaudhary S, et al. Tear fluid extracellular DNA: diagnostic and therapeutic implications in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:8051–61.
- [246] Sullivan BD, Crews LA, Sonmez B, de la Paz MF, Comert E, Charoenrook V, et al. Clinical utility of objective tests for dry eye disease: variability over time and implications for clinical trials and disease management. *Cornea* 2012;31:1000–8.
- [247] Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004;78:409–16.
- [248] Paulsen F. The human nasolacrimal ducts. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 2003;170(III-XI):1–106.
- [249] Rozsa AJ, Beuerman RW. Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit. *Pain* 1982;14:105–20.
- [250] McGowan DP, Lawrenson JG, Ruskell GL. Touch sensitivity of the eyelid margin and palpebral conjunctiva. *Acta Ophthalmol* 1994;72:57–60.
- [251] Ruskell GL. Distribution of pterygopalatine ganglion efferents to the lacrimal gland in man. *Exp Eye Res* 2004;78:329–35.
- [252] Willshire C, Buckley RJ, Bron AJ. Central connections of the lacrimal functional unit. *Cornea* 2017. in press.
- [253] Schargus M, Geerling G. The “wet” dry eye. *Ophthalmologie* 2009;106:235–8. 40–41.
- [254] Cross DA, Krupin T. Implications of the effects of general anesthesia on basal tear production. *Anesth Analg* 1977;56:35–7.
- [255] Heigle TJ, Pflugfelder SC. Aqueous tear production in patients with neurotrophic keratitis. *Cornea* 1996;15:135–8.
- [256] Murube J, Murube L, Murube A. Origin and types of emotional tearing. *Eur J Ophthalmol* 1999;9:77–84.
- [257] Standring S. *Grays Anatomy 40th Edition. Anatomical Basis Of Clinical Practice*. 40. London: Churchill Livingstone; 2008. p. 415.
- [258] Collins M, Seeto R, Campbell L, Ross M. Blinking and corneal sensitivity. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1989;67:525–31.
- [259] Toda I, Asano-Kato N, Komai-Hori Y, Tsubota K. Dry eye after laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* 2001;132:1–7.
- [260] Collins MJ, Kloevekorn-Norgall K, Buehren T, Voetz SC, Lingelbach B. Regression of lid-induced corneal topography changes after reading. *Optom Vis Sci* 2005;82:843–9.
- [261] Tsubota K. Tear dynamics and dry eye. *Prog Retin Eye Res* 1998;17:565–96.
- [262] Tsubota K, Fujishima H, Toda I, Katagiri S, Kawashima Y, Saito I. Increased levels of Epstein-Barr virus DNA in lacrimal glands of Sjogren's syndrome patients. *Acta Ophthalmol Scand* 1995;73:425–30.
- [263] Tsubota K, Satake Y, Shimazaki J. Treatment of severe dry eye. *Lancet* 1996;348:123.
- [264] Alex A, Edwards A, Hays JD, Kerkstra M, Shih A, de Paiva CS, et al. Factors predicting the ocular surface response to desiccating environmental stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:3325–32.
- [265] Moore QL, De Paiva CS, Pflugfelder SC. Effects of dry eye therapies on environmentally induced ocular surface disease. *Am J Ophthalmol* 2015;160:135 e1–42 e1.
- [266] Montes-Mico R, Alio JL, Charman WN. Dynamic changes in the tear film in dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:1615–9.
- [267] Pflugfelder SC. Tear dysfunction and the cornea: LXVIII Edward Jackson memorial lecture. *Am J Ophthalmol* 2011;152:900 e1–9 e1.
- [268] Baudouin C, Aragona P, Messmer EM, Tomlinson A, Calonge M, Boboridis KG, et al. Role of hyperosmolarity in the pathogenesis and management of dry eye disease: proceedings of the OCEAN group meeting. *Ocul Surf* 2013;11: 246–58.
- [269] Lemp MA, Bron AJ, Baudouin C, Benitez Del Castillo JM, Geffen D, Tauber J, et al. Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *Am J Ophthalmol* 2011;151:792 e1–8 e1.
- [270] Tomlinson A, Khanal S, Ramaesh K, Diaper C, McFadyen A. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:4309–15.
- [271] Sullivan BD, Pepose JS, Foulks GN. Progressively increased variation in tear osmolarity mirrors dry eye severity. *JAMA Ophthalmol* 2015;133:1481–2.
- [272] Bron AJ, Tiffany JM, Yokoi N, Gouveia SM. Using osmolarity to diagnose dry eye: a compartmental hypothesis and review of our assumptions. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:1087–95.
- [273] Begley CG, Himebaugh N, Renner D, Liu H, Chalmers R, Simpson T, et al. Tear breakup dynamics: a technique for quantifying tear film instability. *Optom Vis Sci* 2006;83:15–21.
- [274] Liu H, Begley CG, Chalmers R, Wilson G, Srinivas SP, Wilkinson JA. Temporal progression and spatial repeatability of tear breakup. *Optom Vis Sci* 2006;83: 723–30.
- [275] Harrison WW, Begley CG, Liu H, Chen M, Garcia M, Smith JA. Menisci and fullness of the blink in dry eye. *Optom Vis Sci* 2008;85:706–14.
- [276] Liu H, Begley C, Chen M, Bradley A, Bonanno J, McNamara NA, et al. A link between tear instability and hyperosmolarity in dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:3671–9.
- [277] Braun RJ, Gewecke NR, Begley CG, King-Smith PE, Siddique JI. A model for tear film thinning with osmolarity and fluorescein. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:1133–42.
- [278] Braun RJ, King-Smith PE, Begley CG, Li L, Gewecke NR. Dynamics and function of the tear film in relation to the blink cycle. *Prog Retin Eye Res* 2015;45: 132–64.
- [279] Peng CC, Cerretani C, Braun RJ, Radke CJ. Evaporation-driven instability of the

- precorneal tear film. *Adv Colloid Interface Sci* 2014;206:250–64.
- [280] Nichols JJ, King-Smith PE, Hinel EA, Thangavelu M, Nichols KK. The use of fluorescent quenching in studying the contribution of evaporation to tear thinning. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:5426–32.
- [281] Sullivan BD, Whitmer D, Nichols KK, Tomlinson A, Foulks GN, Geerling G, et al. An objective approach to dry eye disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:6125–30.
- [282] Szalai E, Berta A, Szekanez Z, Szucs G, Modis Jr L. Evaluation of tear osmolarity in non-Sjogren and Sjogren syndrome dry eye patients with the TearLab system. *Cornea* 2012;31:867–71.
- [283] Fortes MB, Diment BC, Di Felice U, Gunn AE, Kendall JL, Esmaelpour M, et al. Tear fluid osmolarity as a potential marker of hydration status. *Med Sci Sports Exerc* 2011;43:1590–7.
- [284] Walsh NP, Fortes MB, Esmaelpour M. Influence of modest changes in whole-body hydration on tear fluid osmolarity: important considerations for dry eye disease detection. *Cornea* 2011;30:1517. author reply 1517–1518.
- [285] Walsh NP, Fortes MB, Raymond-Barker P, Bishop C, Owen J, Tye E, et al. Is whole-body hydration an important consideration in dry eye? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:6622–7.
- [286] Craig JP, Tomlinson A. Effect of age on tear osmolality. *Optom Vis Sci* 1995;72:713–7.
- [287] Arciniega JC, Wojtowicz JC, Mohamed EM, McCulley JP. Changes in the evaporation rate of tear film after digital expression of meibomian glands in patients with and without dry eye. *Cornea* 2011;30:843–7.
- [288] Tsubota K, Nakamori K. Effects of ocular surface area and blink rate on tear dynamics. *Arch Ophthalmol* 1995;113:155–8.
- [289] Ousler 3rd GW, Rodriguez JD, Smith LM, Lane KJ, Heckley C, Angjeli E, et al. Optimizing reading tests for dry eye disease. *Cornea* 2015;34:917–21.
- [290] Jansen ME, Begley CG, Himebaugh NH, Port NL. Effect of contact lens wear and a near task on tear film break-up. *Optom Vis Sci* 2010;87:350–7.
- [291] Tsubota K, Shimmura S, Shinozaki N, Holland EJ, Shimazaki J. Clinical application of living-related conjunctival-limbal allograft. *Am J Ophthalmol* 2002;133:134–5.
- [292] Rieger G. The importance of the precorneal tear film for the quality of optical imaging. *Br J Ophthalmol* 1992;76:157–8.
- [293] Tutt R, Bradley A, Begley C, Thibos LN. Optical and visual impact of tear break-up in human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:4117–23.
- [294] Puell MC, Benitez-del-Castillo JM, Martinez-de-la-Casa J, Sanchez-Ramos C, Vico E, Perez-Carrasco MJ, et al. Contrast sensitivity and disability glare in patients with dry eye. *Acta Ophthalmol Scand* 2006;84:527–31.
- [295] Diaz-Valle D, Arriola-Villalobos P, Garcia-Vidal SE, Sanchez-Pulgarin M, Borrego Sanz L, Gegundez-Fernandez JA, et al. Effect of lubricating eyedrops on ocular light scattering as a measure of vision quality in patients with dry eye. *J Cataract Refract Surg* 2012;38:1192–7.
- [296] Ridder 3rd WH, Tomlinson A, Huang JF, Li J. Impaired visual performance in patients with dry eye. *Ocul Surf* 2011;9:42–55.
- [297] Kaido M, Dogru M, Ishida R, Tsubota K. Concept of functional visual acuity and its applications. *Cornea* 2007;26:529–35.
- [298] Kaido M, Uchino MN, Uchino Y, Dogru M, Kawashima M, et al. Dry-eye screening by using a functional visual acuity measurement system: the Osaka Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:3275–81.
- [299] Lemp MA. Tear substitutes in the treatment of dry eyes. *Int Ophthalmol Clin* 1973;13:145–53.
- [300] Ousler 3rd GW, Hagberg KW, Schindelar M, Welch D, Abelson MB. The Ocular Protection Index. *Cornea* 2008;27:509–13.
- [301] Ruiz-Ederra J, Levin MH, Verkman AS. In situ fluorescence measurement of tear film [Na<sup>+</sup>], [K<sup>+</sup>], [Cl<sup>-</sup>], and pH in mice shows marked hypertonicity in aquaporin-5 deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2132–8.
- [302] Ogasawara K, Mitsubayashi K, Tsuru T, Karube I. Electrical conductivity of tear fluid in healthy persons and keratoconjunctivitis sicca patients measured by a flexible conductimetric sensor. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996;234:542–6.
- [303] Gupta Y, Gupta M, Rizvi SA, Gupta M. 'Xerosis meter': a new concept in dry eye evaluation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244:9–13.
- [304] Tsubota K, Yamada M. Tear evaporation from the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:2942–50.
- [305] Uchiyama E, Aronowicz JD, Butovich IA, McCulley JP. Increased evaporative rates in laboratory testing conditions simulating airplane cabin relative humidity: an important factor for dry eye syndrome. *Eye Contact Lens* 2007;33: 174–6.
- [306] Enriquez-de-Salamanca A, Castellanos E, Stern ME, Fernandez I, Carreno E, Garcia-Vazquez C, et al. Tear cytokine and chemokine analysis and clinical correlations in evaporative-type dry eye disease. *Mol Vis* 2010;16:862–73.
- [307] Beardsley RM, De Paiva CS, Power DF, Pflugfelder SC. Desiccating stress decreases apical corneal epithelial cell size-modulation by the metalloproteinase inhibitor doxycycline. *Cornea* 2008;27:935–40.
- [308] Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2006;24: 99–146.
- [309] Luo L, Li DQ, Doshi A, Farley W, Corrales RM, Pflugfelder SC. Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4293–301.
- [310] Li DQ, Chen Z, Song XJ, Farley W, Pflugfelder SC. Hyperosmolarity Stimulates Production of MMP-9, IL-1 $\alpha$  and TNF- $\alpha$  by Human Corneal Epithelial Cells Via a c-Jun NH 2-terminal kinase pathway. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43. EAbstract 1981.
- [311] Li DQ, Chen Z, Song XJ, Luo L, Pflugfelder SC. Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4302–11.
- [312] Li DQ, Lokeshwar BL, Solomon A, Monroy D, Ji Z, Pflugfelder SC. Regulation of MMP-9 production by human corneal epithelial cells. *Exp Eye Res* 2001;73: 449–59.
- [313] Kim HS, Luo L, Pflugfelder SC, Li DQ. Doxycycline inhibits TGF-beta1-induced MMP-9 via Smad and MAPK pathways in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:840–8.
- [314] Huet E, Vallee B, Delbe J, Mourah S, Pruliere-Escabasse V, Tremouilleres M, et al. EMMPRIN modulates epithelial barrier function through a MMP-mediated occludin cleavage: implications in dry eye disease. *Am J Pathol* 2011;179: 1278–86.
- [315] Pflugfelder SC, de Paiva CS, Tong L, Luo L, Stern ME, Li DQ. Stress-activated protein kinase signaling pathways in dry eye and ocular surface disease. *Ocul Surf* 2005;3:S154–7.
- [316] Choitkavanch S, de Paiva CS, D-Q L, Chen JJ, Bian F, Farley WJ, et al. Production and activity of matrix Metalloproteinase-9 on the ocular surface increase in dysfunctional tear syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50: 3203–9.
- [317] Schargus M, Ivanova S, Kakkassery V, Dick HB, Joachim S. Correlation of Tear Film Osmolarity and 2 Different MMP-9 Tests With Common Dry Eye Tests in a Cohort of Non-Dry Eye Patients. *Cornea* 2015;34:739–44.
- [318] VanDerMeid KR, Su SP, Ward KW, Zhang JZ. Correlation of tear inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases with four dry eye diagnostic tests. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:1512–8.
- [319] Gabison EE, Huet E, Baudouin C, Menashi S. Direct epithelial-stromal interaction in corneal wound healing: Role of EMMPRIN/CD147 in MMPs inhibition and beyond. *Prog Retin Eye Res* 2009;28:19–33.
- [320] Labbe A, Gabison E, Brignole-Baudouin F, Riancho L, Menashi S, Baudouin C. Increased extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) expression in the conjunctival epithelium exposed to antiglaucoma treatments. *Curr Eye Res* 2015;40:40–7.
- [321] Mauris J, Mantelli F, Woodward AM, Cao Z, Bertozzi CR, Panjwani N, et al. Modulation of ocular surface glycocalyx barrier function by a galectin-3 N-terminal deletion mutant and membrane-anchored synthetic glycopolymers. *PLoS One* 2013;8: e72304.
- [322] Pult H, Korb DR, Murphy PJ, Riede-Pult BH, Blackie C. A new model of central lid margin apposition and tear film mixing in spontaneous blinking. *Cont Lens Anterior Eye* 2015;38:173–80.
- [323] Ehlers N. The Precorneal Film. *Biomicroscopical, Histological and Chemical Investigations*. *Acta Ophthalmol Suppl* 1965;(Suppl 81):81–134.
- [324] Korb DR, Herman JP, Blackie CA, Scaffidi RC, Greiner JV, Exford JM, et al. Prevalence of lid wiper epitheliopathy in subjects with dry eye signs and symptoms. *Cornea* 2010;29:377–83.
- [325] Pult H, Tosatti SG, Spencer ND, Asfour JM, Ebenhoch M, Murphy PJ. Spontaneous Blinking from a Tribological Viewpoint. *Ocul Surf* 2015;13:236–49.
- [326] Jones MB, Fulford GR, Please CP, McElwain DL, Collins MJ. Elastohydrodynamics of the eyelid wiper. *Bull Math Biol* 2008;70:323–43.
- [327] Bielecki P, Komor U, Bielecka A, Musken M, Puchalka J, Pletz MW, et al. Ex vivo transcriptional profiling reveals a common set of genes important for the adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to chronically infected host sites. *Environ Microbiol* 2013;15:570–87.
- [328] Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM. Platelet-rich plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): surgical adjuvants, preparations for in situ regenerative medicine and tools for tissue engineering. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13: 1121–30.
- [329] Swann DA, Slayter HS, Silver FH. The molecular structure of lubricating glycoprotein-I, the boundary lubricant for articular cartilage. *J Biol Chem* 1981;256:5921–5.
- [330] Cheriyan T, Schmid TM, Spector M. Presence and distribution of the lubricating protein, lubricin, in the meibomian gland in rabbits. *Mol Vis* 2011;17: 3055–61.
- [331] Morrison S, Sullivan DA, Sullivan BD, Sheardown H, Schmidt TA. Dose-dependent and synergistic effects of proteoglycan 4 on boundary lubrication at a human corneal polydimethylsiloxane biointerface. *Eye Contact Lens* 2012;38:27–35.
- [332] Samsom ML, Morrison S, Masala N, Sullivan B, Sullivan DA, Sheardown H, et al. Characterization of full-length recombinant human Proteoglycan 4 as an ocular surface boundary lubricant. *Exp Eye Res* 2014;127:14–9.

- [333] Lambiasi A, Sullivan BD, Schmidt TA, Sullivan DA, Jay G, Truitt ERI, et al. A two-week, randomized, double-masked study to evaluate safety and efficacy of lubricin (150 µg/ml) eye drops versus sodium hyaluronate (HA) 0.18% eye drops (Vismed®) in patients with moderate dry eye disease. *Ocul Surf* 2017;15:77–87.
- [334] Doane MG. Interactions of eyelids and tears in corneal wetting and the dynamics of the normal human eyeblink. *Am J Ophthalmol* 1980;89:507–16.
- [335] Cher I. Another way to think of tears: blood, sweat, and... "dacruon". *Ocul Surf* 2007;5:251–4.
- [336] Cher I. Fluids of the ocular surface: concepts, functions and physics. *Clin Exp Ophthalmol* 2012;40:634–43.
- [337] Dunn AC, Sawyer WG, Angelini TE. Gemini Interfaces in Aqueous Lubrication with Hydrogels. *Tribol Lett* 2014;54:59–66.
- [338] Pandit JC, Nagyova B, Bron AJ, Tiffany JM. Physical properties of stimulated and unstimulated tears. *Exp Eye Res* 1999;68:247–53.
- [339] Tiffany JM. The viscosity of human tears. *Int Ophthalmol* 1991;15:371–6.
- [340] Tiffany JM, Bron AJ, Mossa F, Dikstein S. Delivery of meibomian oil using the Clinical Meibometer. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:333–8.
- [341] Donald C, Hamilton L, Doughty M. A quantitative assessment of the location and width of Marx's line along the marginal zone of the human eyelid. *Optom Vis Sci* 2003;80:564–72.
- [342] Korb DR, Herman JP, Greiner JV, Scaffidi RC, Finnemore VM, Exford JM, et al. Lid wiper epitheliopathy and dry eye symptoms. *Eye Contact Lens* 2005;31: 2–8.
- [343] Pult H, Riede-Pult BH, Murphy PJ. The relation between blinking and conjunctival folds and dry eye symptoms. *Optom Vis Sci* 2013;90:1034–9.
- [344] Korb DR, Greiner JV, Herman JP, Hebert E, Finnemore VM, Exford JM, et al. Lid-wiper epitheliopathy and dry-eye symptoms in contact lens wearers. *CLAO J* 2002;28:211–6.
- [345] Parsons JT, Bova FJ, Fitzgerald CR, Mendenhall WM, Million RR. Severe dry-eye syndrome following external beam irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994;30:775–80.
- [346] Shiraiishi A, Yamaguchi M, Ohashi Y. Prevalence of upper- and lower-lid-wiper epitheliopathy in contact lens wearers and non-wearers. *Eye Contact Lens* 2014;40:220–4.
- [347] Shaw AJ, Collins MJ, Davis BA, Carney LG. Eyelid pressure and contact with the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:1911–7.
- [348] Bron AJ, Argueso P, Irkec M, Bright FV. Clinical staining of the ocular surface: mechanisms and interpretations. *Prog Retin Eye Res* 2015;44:36–61.
- [349] Tseng SC. Concept and application of limbal stem cells. *Eye (Lond)* 1989;3(Pt 2):141–57.
- [350] Bandamwar KL, Pappas EB, Garrett Q. Fluorescein staining and physiological state of corneal epithelial cells. *Cont Lens Anterior Eye* 2014;37:213–23.
- [351] Dundas M, Walker A, Woods RL. Clinical grading of corneal staining of non-contact lens wearers. *Ophthalmic Physiol Opt* 2001;21:30–5.
- [352] Norn MS. Vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1962;40:389–401.
- [353] Korb DR, Korb JM. Corneal staining prior to contact lens wearing. *J Am Optom Assoc* 1970;41:228–32.
- [354] Korb DR, Herman JP. Corneal staining subsequent to sequential fluorescein instillations. *J Am Optom Assoc* 1979;50:361–7.
- [355] Josephson JE, Caffery BE. Corneal staining after instillation of topical anesthetic (SSII). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988;29:1096–9.
- [356] Caffery BE, Josephson JE. Corneal staining after sequential instillations of fluorescein over 30 days. *Optom Vis Sci* 1991;68:467–9.
- [357] Brautaset RL, Nilsson M, Leach N, Miller WL, Gire A, Quintero S, et al. Corneal and conjunctival epithelial staining in hydrogel contact lens wearers. *Eye Contact Lens* 2008;34:312–6.
- [358] Efron N. Response to re: putting vital stains in context. *Clin Exp Optom* 2013;96:511–2.
- [359] Lakkis C, Brennan NA. Bulbar conjunctival fluorescein staining in hydrogel contact lens wearers. *CLAO J* 1996;22:189–94.
- [360] Norn MS. Desiccation of the precorneal film. I. Corneal wetting-time. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1969;47:865–80.
- [361] Soni PS, Horner DG, Ross J. Ocular response to lens care systems in adolescent soft contact lens wearers. *Optom Vis Sci* 1996;73:70–85.
- [362] Schwallie JD, Long Jr WD, McKenney CD. Day to day variations in ocular surface staining of the bulbar conjunctiva. *Optom Vis Sci* 1998;75:55–61.
- [363] Mokhtarzadeh M, Casey R, Glasgow BJ. Fluorescein punctate staining traced to superficial corneal epithelial cells by impression cytology and confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:2127–35.
- [364] Morgan PB, Maldonado-Codina C. Corneal staining: do we really understand what we are seeing? *Cont Lens Anterior Eye* 2009;32:48–54.
- [365] Ward KW. Superficial punctate fluorescein staining of the ocular surface. *Optom Vis Sci* 2008;85:8–16.
- [366] Luensmann D, Moezzi A, Peterson RC, Woods C, Fonn D. Corneal staining and cell shedding during the development of solution-induced corneal staining. *Optom Vis Sci* 2012;89:868–74.
- [367] Zhou J, Begley CG, Wright A, Wilson G, Tokarski T. Characterization of cells collected from the normal human ocular surface by contact lens cytology. *Cornea* 2000;19:824–32.
- [368] Ren H, Wilson G. Apoptosis in the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:1017–25.
- [369] Estil S, Primo EJ, Wilson G. Apoptosis in shed human corneal cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3360–4.
- [370] Feenstra RP, Tseng SC. What is actually stained by rose bengal? *Arch Ophthalmol* 1992;110:984–93.
- [371] Feenstra RP, Tseng SC. Comparison of fluorescein and rose bengal staining. *Ophthalmology* 1992;99:605–17.
- [372] Wilson G, Ren H, Laurent J. Corneal epithelial fluorescein staining. *J Am Optom Assoc* 1995;66:435–41.
- [373] Kikkawa Y. Normal corneal staining with fluorescein. *Exp Eye Res* 1972;14: 13–20.
- [374] Bandamwar KL, Garrett Q, Pappas EB. Mechanisms of superficial micro-punctate corneal staining with sodium fluorescein: the contribution of pooling. *Cont Lens Anterior Eye* 2012;35:81–4.
- [375] Shimazaki J, Goto E, Ono M, Shimmura S, Tsubota K. Meibomian gland dysfunction in patients with Sjogren syndrome. *Ophthalmology* 1998;105: 1485–8.
- [376] Shimazaki J, Sakata M, Tsubota K. Ocular surface changes and discomfort in patients with meibomian gland dysfunction. *Arch Ophthalmol* 1995;113: 1266–70.
- [377] Baudouin C. A new approach for better comprehension of diseases of the ocular surface. *J Fr Ophthalmol* 2007;30:239–46.
- [378] De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, Farley WJ, Li DQ, Stern ME, et al. Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Exp Eye Res* 2006;83:526–35.
- [379] Baudouin C. The pathology of dry eye. *Surv Ophthalmol* 2001;45(Suppl 2): S211–20.
- [380] Yeh S, Song XJ, Farley W, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC. Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:124–9.
- [381] Brignole F, Pisella PJ, Goldschild M, De Saint Jean M, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1356–63.
- [382] Kunert KS, Tisdale AS, Gipson IK. Goblet cell numbers and epithelial proliferation in the conjunctiva of patients with dry eye syndrome treated with cyclosporine. *Arch Ophthalmol* 2002;120:330–7.
- [383] Argueso P, Balaran M, Spurr-Michaud S, Keutmann HT, Dana MR, Gipson IK. Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjogren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:1004–11.
- [384] Zhao H, Jumbblatt JE, Wood TO, Jumbblatt MM. Quantification of MUC5AC protein in human tears. *Cornea* 2001;20:873–7.
- [385] Baudouin C, Messmer EM, Aragona P, Geerling G, Akova YA, Benitez-Del-Castillo J, et al. Revisiting the vicious circle of dry eye disease: a focus on the pathophysiology of meibomian gland dysfunction. *Br J Ophthalmol* 2016;100:300–6.
- [386] Abreau K, Callan C, Kottaiyan R, Zhang A, Yoon G, Aquavella JV, et al. Temperatures of the Ocular Surface, Lid, and Periorbital Regions of Sjogren's, Evaporative, and Aqueous-Deficient Dry Eyes Relative to Normals. *Ocul Surf* 2016;14:64–73.
- [387] De Paiva CS, Pflugfelder SC. Corneal epitheliopathy of dry eye induces hyperesthesia to mechanical air jet stimulation. *Am J Ophthalmol* 2004;137: 109–15.
- [388] Xu KP, Yagi Y, Toda I, Tsubota K. Tear function index. A new measure of dry eye. *Arch Ophthalmol* 1995;113:84–8.
- [389] Bourcier T, Acosta MC, Borderie V, Borrás F, Gallar J, Bury T, et al. Decreased corneal sensitivity in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2341–5.
- [390] Villani E, Magnani F, Viola F, Santaniello A, Scorza R, Nucci P, et al. In vivo confocal evaluation of the ocular surface morpho-functional unit in dry eye. *Optom Vis Sci* 2013;90:576–86.
- [391] Begley C, Simpson T, Liu H, Salvo E, Wu Z, Bradley A, et al. Quantitative analysis of tear film fluorescence and discomfort during tear film instability and thinning. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:2645–53.
- [392] Vehof J, Sillevius Smitt-Kamminga N, Kozareva D, Nibourg SA, Hammond CJ. Clinical Characteristics of Dry Eye Patients With Chronic Pain Syndromes. *Am J Ophthalmol* 2016;162:59 e2–65 e2.
- [393] Pflugfelder SC, Maskin SL, Anderson B, Chodosh J, Holland EJ, De Paiva CS, et al. A randomized, double-masked, placebo-controlled, multicenter comparison of loteprednol etabonate ophthalmic suspension, 0.5%, and placebo for treatment of keratoconjunctivitis sicca in patients with delayed tear clearance. *Am J Ophthalmol* 2004;138:444–57.
- [394] Hirata H, Rosenblatt MI. Hyperosmolar tears enhance cooling sensitivity of the corneal nerves in rats: possible neural basis for cold-induced dry eye pain. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:5821–33.

- [395] Madrid R, de la Pena E, Donovan-Rodriguez T, Belmonte C, Viana F. Variable threshold of trigeminal cold-thermosensitive neurons is determined by a balance between TRPM8 and Kv1 potassium channels. *J Neurosci* 2009;29: 3120–31.
- [396] Chen L, Li J, Guo T, Ghosh S, Koh SK, Tian D, et al. Global Metabonomic and Proteomic Analysis of Human Conjunctival Epithelial Cells (IOBA-NHC) in Response to Hyperosmotic Stress. *J Proteom Res* 2015;14:3982–95.
- [397] Tabery HM. Dual appearance of fluorescein staining in vivo of diseased human corneal epithelium. A non-contact photomicrographic study. *Br J Ophthalmol* 1992;76:43–4.
- [398] Tabery HM. Micropunctate fluorescein staining of the human corneal surface: microerosions or cystic spaces? A non-contact photomicrographic in vivo study. *Acta Ophthalmol Scand* 1997;75:134–6.
- [399] Watanabe H, Fabricant M, Tisdale AS, Spurr-Michaud SJ, Lindberg K, Gipson IK. Human corneal and conjunctival epithelia produce a mucin-like glycoprotein for the apical surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36: 337–44.
- [400] Danjo Y, Watanabe H, Tisdale AS, George M, Tsumura T, Abelson MB, et al. Alteration of mucin in human conjunctival epithelia in dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:2602–9.
- [401] Pflugfelder SC, Tseng SC, Yoshino K, Monroy D, Felix C, Reis BL. Correlation of goblet cell density and mucosal epithelial membrane mucin expression with rose bengal staining in patients with ocular irritation. *Ophthalmology* 1997;104:223–35.
- [402] Glasgow BJ, Gasymov OK, Casey RC. Exfoliative epitheliopathy of bullous keratopathy with breaches in the MUC16 Glycocalyx. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:4060–4.
- [403] Komuro A, Yokoi N, Fukuoka H, Kinoshita S. Evaluation of Galectin-3 expression in rose bengal-stained conjunctival epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:3994.
- [404] Williams KK, Watsky MA. Bicarbonate promotes dye coupling in the epithelium and endothelium of the rabbit cornea. *Curr Eye Res* 2004;28: 109–20.
- [405] McMonnies CW. An examination of the relationship between ocular surface tear osmolarity compartments and epitheliopathy. *Ocul Surf* 2015;13: 110–7.
- [406] Abelson MB, Holly FJ. A tentative mechanism for inferior punctate keratopathy. *Am J Ophthalmol* 1977;83:866–9.
- [407] Collin SP, Collin HB. The corneal epithelial surface in the eyes of vertebrates: environmental and evolutionary influences on structure and function. *J Morphol* 2006;267:273–91.
- [408] Cruz AA, Garcia DM, Pinto CT, Cechetti SP. Spontaneous eyeblink activity. *Ocul Surf* 2011;9:29–41.
- [409] Himebaugh NL, Begley CG, Bradley A, Wilkinson JA. Blinking and tear break-up during four visual tasks. *Optom Vis Sci* 2009;86:E106–14.
- [410] Ousler 3rd GW, Abelson MB, Johnston PR, Rodriguez J, Lane K, Smith LM. Blink patterns and lid-contact times in dry-eye and normal subjects. *Clin Ophthalmol* 2014;8:869–74.
- [411] Zubkov VS, Breward CJ, Gaffney EA. Meniscal tear film fluid dynamics near Marx's line. *Bull Math Biol* 2013;75:1524–43.
- [412] Chen AL, Riley DE, King SA, Joshi AC, Serra A, Liao K, et al. The disturbance of gaze in progressive supranuclear palsy: implications for pathogenesis. *Front Neurol* 2010;1:147.
- [413] Richardson C, Smith T, Schaefer A, Turnbull D, Griffiths P. Ocular motility findings in chronic progressive external ophthalmoplegia. *Eye (Lond)* 2005;19:258–63.
- [414] Fells P. Management of dysthyroid eye disease. *Br J Ophthalmol* 1991;75: 245–6.
- [415] Tanioka H, Yokoi N, Komuro A, Shimamoto T, Kawasaki S, Matsuda A, et al. Investigation of the corneal filament in filamentary keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:3696–702.
- [416] Hamilton W, Wood TO. Filamentary keratitis. *Am J Ophthalmol* 1982;93: 466–9.
- [417] Theodore FH. Superior limbic keratoconjunctivitis. *Eye Ear Nose Throat Mon* 1963;42:25–8.
- [418] Nelson JD. Superior limbic keratoconjunctivitis (SLK). *Eye (Lond)* 1989;3(Pt 2):180–9.
- [419] Tenzel RR. Comments on superior limbic filamentous keratitis: II. *Arch Ophthalmol* 1968;79:508.
- [420] Yokoi N. Tear dynamics and dry eye. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2004;108: 275–6.
- [421] Yokoi N, Inatomi T, Kinoshita S. Surgery of the conjunctiva. *Dev Ophthalmol* 2008;41:138–58.
- [422] Yokoi N, Komuro A, Maruyama K, Tsuzuki M, Miyajima S, Kinoshita S. New surgical treatment for superior limbic keratoconjunctivitis and its association with conjunctivochalasis. *Am J Ophthalmol* 2003;135:303–8.
- [423] Stephens DN, McNamara NA. Altered Mucin and Glycoprotein Expression in Dry Eye Disease. *Optom Vis Sci* 2015;92:931–8.
- [424] Watanabe H, Maeda N, Kiritoshi A, Hamano T, Shimomura Y, Tano Y. Expression of a mucin-like glycoprotein produced by ocular surface epithelium in normal and keratinized cells. *Am J Ophthalmol* 1997;124: 751–7.
- [425] Shimazaki-Den S, Dogru M, Higa K, Shimazaki J. Symptoms, visual function, and mucin expression of eyes with tear film instability. *Cornea* 2013;32: 1211–8.
- [426] Jones DT, Monroy D, Ji Z, Pflugfelder SC. Alterations of ocular surface gene expression in Sjogren's syndrome. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:533–6.
- [427] Corrales RM, de Paiva CS, Li DQ, Farley WJ, Henriksson JT, Bergmann JP, et al. Entrapment of conjunctival goblet cells by desiccation-induced cornification. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:3492–9.
- [428] Hayashi Y, Kao WW, Kohno N, Nishihara-Hayashi M, Shiraishi A, Uno T, et al. Expression patterns of sialylated epitope recognized by KL-6 monoclonal antibody in ocular surface epithelium of normals and dry eye patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:2212–7.
- [429] Caffery B, Joyce E, Heynen ML, Jones L, Ritter 3rd R, Gamache DA, et al. MUC16 expression in Sjogren's syndrome, KCS, and control subjects. *Mol Vis* 2008;14:2547–55.
- [430] Gipson IK, Spurr-Michaud SJ, Senchyna M, Ritter 3rd R, Schaumberg D. Comparison of mucin levels at the ocular surface of postmenopausal women with and without a history of dry eye. *Cornea* 2011;30:1346–52.
- [431] Srinivasan S, Heynen ML, Martell E, Ritter 3rd R, Jones L, Senchyna M. Quantification of MUCIN 1, cell surface associated and MUCIN16, cell surface associated proteins in tears and conjunctival epithelial cells collected from postmenopausal women. *Mol Vis* 2013;19:970–9.
- [432] Garcher C, Bron A, Baudouin C, Bildstein L, Bara JCA. 19-9 ELISA test: a new method for studying mucus changes in tears. *Br J Ophthalmol* 1998;82: 88–90.
- [433] Argueso P, Tisdale A, Mandel U, Letko E, Foster CS, Gipson IK. The cell-layer-and cell-type-specific distribution of GalNAc-transferases in the ocular surface epithelia is altered during keratinization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:86–92.
- [434] Ralph RA. Conjunctival goblet cell density in normal subjects and in dry eye syndromes. *Invest Ophthalmol* 1975;14:299–302.
- [435] Kinoshita S, Kiorpes TC, Friend J, Thoft RA. Goblet cell density in ocular surface disease. A better indicator than tear mucin. *Arch Ophthalmol* 1983;101:1284–7.
- [436] Nelson JD, Wright JC. Conjunctival goblet cell densities in ocular surface disease. *Arch Ophthalmol* 1984;102:1049–51.
- [437] Blodi BA, Byrne KA, Tabbara KF. Goblet cell population among patients with inactive trachoma. *Int Ophthalmol* 1988;12:41–5.
- [438] Albietz J, Sanfilippo P, Troutbeck R, Lenton LM. Management of filamentary keratitis associated with aqueous-deficient dry eye. *Optom Vis Sci* 2003;80: 420–30.
- [439] Murube J, Rivas L. Impression cytology on conjunctiva and cornea in dry eye patients establishes a correlation between squamous metaplasia and dry eye clinical severity. *Eur J Ophthalmol* 2003;13:115–27.
- [440] Zhang BG, Du T, Zang MD, Chang Q, Fan ZY, Li JF, et al. Androgen receptor promotes gastric cancer cell migration and invasion via AKT-phosphorylation dependent upregulation of matrix metalloproteinase 9. *Oncotarget* 2014;5:10584–95.
- [441] Pflugfelder SC, Stern ME. Mucosal environmental sensors in the pathogenesis of dry eye. *Expert Rev Clin Immunol* 2014;10:1137–40.
- [442] Uchino M, Uchino Y, Dogru M, Kawashima M, Yokoi N, Komuro A, et al. Dry eye disease and work productivity loss in visual display users: the Osaka study. *Am J Ophthalmol* 2014;157:294–300.
- [443] Versura P, Maltarello MC, Cellini M, Caramazza R, Laschi R. Detection of mucus glycoconjugates in human conjunctiva by using the lectin-colloidal gold technique in TEM. II. A quantitative study in dry-eye patients. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1986;64:451–5.
- [444] Tapaszto B, Veres A, Kosina-Hagyo K, Somfai GM, Nemeth J. OCT Imaging of lid-parallel conjunctival folds in soft contact lens wearers. *Optom Vis Sci* 2011;88:1206–13.
- [445] Nemeth J, Fodor E, Lang Z, Kosina-Hagyo K, Berta A, Komar T, et al. Lid-parallel conjunctival folds (LIPCOF) and dry eye: a multicentre study. *Br J Ophthalmol* 2012;96:1380–5.
- [446] Meller D, Tseng SC. Conjunctivochalasis: literature review and possible pathophysiology. *Surv Ophthalmol* 1998;43:225–32.
- [447] Watanabe A, Yokoi N, Kinoshita S, Hino Y, Tsuchihashi Y. Clinicopathologic study of conjunctivochalasis. *Cornea* 2004;23:294–8.
- [448] Murube J. Characteristics and etiology of conjunctivochalasis: historical perspective. *Ocul Surf* 2005;3:7–14.
- [449] Pult H, Riede-Pult BH. Impact of conjunctival folds on central tear meniscus height. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:1459–66.
- [450] Norm M. Meibomian orifices and Marx's line. Studied by triple vital staining. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1985;63:698–700.
- [451] Bron AJ, Yokoi N, Gaffney EA, Tiffany JM. A solute gradient in the tear meniscus. II. Implications for lid margin disease, including meibomian gland dysfunction. *Ocul Surf* 2011;9:92–7.
- [452] Korb DR, Blackie CA. Debridement-scaling: a new procedure that increases Meibomian gland function and reduces dry eye symptoms. *Cornea* 2013;32: 1554–7.

- [453] Li S, Gallup M, Chen YT, McNamara NA. Molecular mechanism of proinflammatory cytokine-mediated squamous metaplasia in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:2466–75.
- [454] Yamaguchi M, Kutsuna M, Uno T, Zheng X, Kodama T, Ohashi Y. Marx line: fluorescein staining line on the inner lid as indicator of meibomian gland function. *Am J Ophthalmol* 2006;141:669–75.
- [455] Rottach KG, Das VE, Wohlgemuth W, Zivotofsky AZ, Leigh RJ. Properties of horizontal saccades accompanied by blinks. *J Neurophysiol* 1998;79: 2895–902.
- [456] de Paiva CS, Chotikavanich S, Pangelinan SB, Pitcher III JD, Fang B, Zheng X, et al. IL-17 disrupts corneal barrier following desiccating stress. *Mucosal Immunol* 2009;2:243–53.
- [457] Streilein JW. Ocular immune privilege: the eye takes a dim but practical view of immunity and inflammation. *J Leukoc Biol* 2003;74:179–85.
- [458] Lam H, Bleiden L, de Paiva CS, Farley W, Stern ME, Pflugfelder SC. Tear cytokine profiles in dysfunctional tear syndrome. *Am J Ophthalmol* 2009;147:198–205. e191.
- [459] Jensen OL, Gluud BS, Birgens HS. The concentration of lactoferrin in tears of normals and of diabetics. *Acta Ophthalmol(Copenh)* 1986;64:83–7.
- [460] Vinding T, Eriksen JS, Nielsen NV. The concentration of lysozyme and secretory IgA in tears from healthy persons with and without contact lens use. *Acta Ophthalmol(Copenh)* 1987;65:23–6.
- [461] Zhou L, Huang LQ, Beuerman RW, Grigg ME, Li SF, Chew FT, et al. Proteomic analysis of human tears: defensin expression after ocular surface surgery. *J Proteom Res* 2004;3:410–6.
- [462] Ueta M. Innate immunity of the ocular surface and ocular surface inflammatory disorders. *Cornea* 2008;27(Suppl 1):S31–40.
- [463] Simmons KT, Xiao Y, Pflugfelder SC, de Paiva CS. Inflammatory Response to Lipopolysaccharide on the Ocular Surface in a Murine Dry Eye Model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:2443–51.
- [464] Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990;346: 425–34.
- [465] Narayanan S, Corrales RM, Farley W, McDermott AM, Pflugfelder SC. Interleukin-1 receptor-1-deficient mice show attenuated production of ocular surface inflammatory cytokines in experimental dry eye. *Cornea* 2008;27: 811–7.
- [466] Yoon KC, Jeong IY, Park YG, Yang SY. Interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$  levels in tears of patients with dry eye syndrome. *Cornea* 2007;26: 431–7.
- [467] Yoon KC, Park CS, You IC, Choi HJ, Lee KH, Im SK, et al. Expression of CXCL9, -10, -11, and CXCR3 in the tear film and ocular surface of patients with dry eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:643–50.
- [468] Choi W, Li Z, Oh HJ, Im SK, Lee SH, Park SH, et al. Expression of CCR5 and its ligands CCL3, -4, and -5 in the tear film and ocular surface of patients with dry eye disease. *Curr Eye Res* 2012;37:12–7.
- [469] Carreno E, Enriquez-de-Salamanca A, Teson M, Garcia-Vazquez C, Stern ME, Whitcup SM, et al. Cytokine and chemokine levels in tears from healthy subjects. *Acta Ophthalmol* 2010;88:e250–258.
- [470] Zlotnick A, Mitchell RS, Brenner SL. recA protein filaments bind two molecules of single-stranded DNA with off rates regulated by nucleotide cofactor. *J Biol Chem* 1990;265:17050–4.
- [471] Pisella PJ, Brignole F, Debbasch C, Lozato PA, Creuzot-Garcher C, Bara J, et al. Flow cytometric analysis of conjunctival epithelium in ocular rosacea and keratoconjunctivitis sicca. *Ophthalmology* 2000;107:1841–9.
- [472] Perez VL, Pflugfelder SC, Zhang S, Shojaei A, Haque R. Lifitegrast, a novel integrin antagonist for treatment of dry eye disease. *Ocul Surf* 2016;14: 207–15.
- [473] <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm510720.htm>.
- [474] Gao Y, Min K, Zhang Y, Su J, Greenwood M, Gronert K. Female-specific downregulation of tissue polymorphonuclear neutrophils drives impaired regulatory T cell and amplified effector T cell responses in autoimmune dry eye disease. *J Immunol* 2015;195:3086–99.
- [475] Coursey TG, Bohat R, Barbosa FL, Pflugfelder SC, de Paiva CS. Desiccating stress-induced chemokine expression in the epithelium is dependent on upregulation of NKG2D/RAE-1 and release of IFN- $\gamma$  in experimental dry eye. *J Immunol* 2014;193:5264–72.
- [476] Zhang X, Volpe EA, Gandhi NB, Schaumburg CS, Siemasko KF, Pangelinan SB, et al. NK cells promote Th-17 mediated corneal barrier disruption in dry eye. *PLoS One* 2012;7: e36822.
- [477] Chen Q, Zhang X, Cui L, Huang Q, Chen W, Ma H, et al. Upper and lower tear menisci in Sjogren's syndrome dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52: 9373–8.
- [478] De Paiva CS, Villarreal AL, Corrales RM, Rahman HT, Chang VY, Farley WJ, et al. Dry eye-induced conjunctival epithelial squamous metaplasia is modulated by interferon- $\gamma$ . *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48: 2553–60.
- [479] Schaumburg CS, Siemasko KF, De Paiva CS, Wheeler LA, Niederhorn JY, Pflugfelder SC, et al. Ocular surface APCs are necessary for autoreactive T cell-mediated experimental autoimmune lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol* 2011;187:3653–62.
- [480] You IC, Coursey TG, Bian F, Barbosa FL, de Paiva CS, Pflugfelder SC. Macrophage phenotype in the ocular surface of experimental murine dry eye disease. *Arch Immunol Ther Exp Warsz* 2015;63:299–304.
- [481] Bialasiewicz AA, Schaudig U, Ma JX, Vieth S, Richard G. Alpha/beta- and gamma/delta-T-cell-receptor-positive lymphocytes in healthy and inflamed human conjunctiva. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996;234:467–71.
- [482] Stern ME, Schaumburg CS, Siemasko KF, Gao J, Wheeler LA, Grupe DA, et al. Autoantibodies contribute to the immunopathogenesis of experimental dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:2062–75.
- [483] Kunert KS, Tisdale AS, Stern ME, Smith JA, Gipson IK. Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Arch Ophthalmol* 2000;118:1489–96.
- [484] Bacman S, Berra A, Sterin-Borda L, Borda E. Muscarinic acetylcholine receptor antibodies as a new marker of dry eye Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:321–7.
- [485] Takada K, Takiguchi M, Konno A, Inaba M. Autoimmunity against a tissue kallikrein in IQ1/Jic Mice: a model for Sjogren's syndrome. *J Biol Chem* 2005;280:3982–8.
- [486] Jiang G, Ke Y, Sun D, Li H, Ihnen M, Jumblatt MM, et al. A new model of experimental autoimmune keratoconjunctivitis sicca (KCS) induced in Lewis rat by the autoantigen K1k1b22. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50: 2245–54.
- [487] Niederhorn JY, Stern ME, Pflugfelder SC, De Paiva CS, Corrales RM, Gao J, et al. Desiccating stress induces T cell-mediated Sjogren's Syndrome-like lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol* 2006;176:3950–7.
- [488] Stern ME, Gao J, Schwalb TA, Ngo M, Tieu DD, Chan CC, et al. Conjunctival T-cell subpopulations in Sjogren's and non-Sjogren's patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:2609–14.
- [489] Herretes S, Ross DB, Duffort S, Barreras H, Tan Y, Murillo JC, et al. Recruitment of Donor T Cells to the Eyes during Ocular GVHD in Recipients of MHC-Matched Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplants. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 56, 2015, 2348–2357.
- [490] Siebelmann S, Gehlsen U, Huttmann G, Koop N, Bolke T, Gebert A, et al. Development, alteration and real time dynamics of conjunctiva-associated lymphoid tissue. *PLoS One* 2013;8: e82355.
- [491] Knop E, Knop N. Influence of the eye-associated lymphoid tissue (EALT) on inflammatory ocular surface disease. *Ocul Surf* 2005;3:S180–6.
- [492] Steven P, Rupp J, Huttmann G, Koop N, Lensing C, Laqua H, et al. Experimental induction and three-dimensional two-photon imaging of conjunctiva-associated lymphoid tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:1512–7.
- [493] Steven P, Gebert A. Conjunctiva-associated lymphoid tissue - current knowledge, animal models and experimental prospects. *Ophthalmic Res* 2009;42:2–8.
- [494] Gutgesell VJ, Stern GA, Hood CI. Histopathology of meibomian gland dysfunction. *Am J Ophthalmol* 1982;94:383–7.
- [495] Obata H, Horiuchi H, Miyata K, Tsuru T, Machinami R. Histopathological study of the meibomian glands in 72 autopsy cases. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1994;98:765–71.
- [496] Sahin A, Kam WR, Rahimi Darabad R, Liu Y, Sullivan DA. Influence of lipopolysaccharide on proinflammatory gene expression in human corneal, conjunctival and meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017. ARVO abstract #3946.
- [497] Meyaard L. The inhibitory collagen receptor LAIR-1 (CD305). *J Leukoc Biol* 2008;83:799–803.
- [498] Omiya R, Tsushima F, Narazaki H, Sakoda Y, Kuramasu A, Kim Y, et al. Leucocyte-associated immunoglobulin-like receptor-1 is an inhibitory regulator of contact hypersensitivity. *Immunology* 2009;128:543–55.
- [499] Qu XD, Lehrer RI. Secretory phospholipase A2 is the principal bactericide for staphylococci and other gram-positive bacteria in human tears. *Infect Immun* 1998;66:2791–7.
- [500] Hieshima K, Ohtani H, Shibano M, Izawa D, Nakayama T, Kawasaki Y, et al. CCL28 has dual roles in mucosal immunity as a chemokine with broad-spectrum antimicrobial activity. *J Immunol* 2003;170:1452–61.
- [501] Davis RSK, Sullivan DA, Liu Y. Inhibitory effect of human meibomian gland epithelial cells on the growth rate of *Pseudomonas aeruginosa*. (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016. ARVO Abstract #5705.
- [502] Perera C, McNeil HP, Geczy CL. S100 Calgranulins in inflammatory arthritis. *Immunol Cell Biol* 2010;88:41–9.
- [503] Hsu K, Champaiboon C, Guenther BD, Sorenson BS, Khammanivong A, Ross KF, et al. Anti-infective protective properties of S100 calgranulins. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem* 2009;8:290–305.
- [504] Champaiboon C, Sappington KJ, Guenther BD, Ross KF, Herzberg MC. Calprotectin S100A9 calcium-binding loops I and II are essential for keratinocyte resistance to bacterial invasion. *J Biol Chem* 2009;284:7078–90.

- [505] Liu S, Richards SM, Lo K, Hatton M, Fay A, Sullivan DA. Changes in gene expression in human meibomian gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:2727–40.
- [506] Nelson JD, Shimazaki J, Benitez-del-Castillo JM, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the definition and classification subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1930–7.
- [507] Schrader S, Mircheff AK, Geerling G. Animal models of dry eye. In: Geerling G, Brewitt H, editors. *Surgery for the Dry eye*. Freiburg: Karger; 2008. p. 298–312.
- [508] Dursun D, Wang M, Monroy D, Li DQ, Lokeshwar BL, Stern ME, et al. A mouse model of keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43: 632–8.
- [509] Barabino S, Shen L, Chen L, Rashid S, Rolando M, Dana MR. The controlled-environment chamber: a new mouse model of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2766–71.
- [510] Chen W, Zhang X, Zhang J, Chen J, Wang S, Wang Q, et al. A murine model of dry eye induced by an intelligently controlled environmental system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:1386–91.
- [511] Lee HS, Chauhan SK, Okanobo A, Nallasamy N, Dana R. Therapeutic efficacy of topical epigallocatechin gallate in murine dry eye. *Cornea* 2011;30:1465–72.
- [512] Goyal S, Chauhan SK, Dana R. Blockade of prolymphangiogenic vascular endothelial growth factor C in dry eye disease. *Arch Ophthalmol* 2012;130: 84–9.
- [513] Sadrai Z, Stevenson W, Okanobo A, Chen Y, Dohlman TH, Hua J, et al. PDE4 inhibition suppresses IL-17-associated immunity in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:3584–91.
- [514] de Paiva CS, Schwartz CE, Gjørstrup P, Pflugfelder SC. Resolvin E1 (RX-10001) reduces corneal epithelial barrier disruption and protects against goblet cell loss in a murine model of dry eye. *Cornea* 2012;31:1299–303.
- [515] Krauss AH, Corrales RM, Pelegrino FS, Tukler-Henriksson J, Pflugfelder SC, de Paiva CS. Improvement of Outcome Measures of Dry Eye by a Novel Integrin Antagonist in the Murine Desiccating Stress Model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:5888–95.
- [516] De Paiva CS, Yoon KC, Pangelinan SB, Pham S, Puthenparambil LM, Chuang EY, et al. Cleavage of functional IL-2 receptor alpha chain (CD25) from murine corneal and conjunctival epithelia by MMP-9. *J Inflamm (Lond)* 2009;6:31.
- [517] Corrales RM, Stern ME, De Paiva CS, Welch J, Li DQ, Pflugfelder SC. Desiccating stress stimulates expression of matrix metalloproteinases by the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3293–302.
- [518] Coursey TG, Tukler Henriksson J, Chen M, de Paiva CS, Pflugfelder SC. IFN- $\gamma$  induced unfolded Protein Response in Conjunctival Goblet Cells as Cause of Mucin Deficiency in Sjögren's Syndrome. *Am J Pathol* 2016;186:1547–58.
- [519] Pflugfelder SC, Farley W, Luo L, Chen LZ, de Paiva CS, Olmos LC, et al. Matrix metalloproteinase-9 knockout confers resistance to corneal epithelial barrier disruption in experimental dry eye. *Am J Pathol* 2005;166:61–71.
- [520] de Paiva CS, Pangelinan SB, Chang E, Yoon KC, Farley WJ, Li DQ, et al. Essential role for c-Jun N-terminal kinase 2 in corneal epithelial response to desiccating stress. *Arch Ophthalmol* 2009;127:1625–31.
- [521] Stevenson W, Chauhan SK, Dana R. Dry eye disease: an immune-mediated ocular surface disorder. *Arch Ophthalmol* 2012;130:90–100.
- [522] Chen Y, Chauhan SK, Saban DR, Sadrai Z, Okanobo A, Dana R. Interferon- $\gamma$ -secreted NK cells promote induction of dry eye disease. *J Leukoc Biol* 2011;89:965–72.
- [523] Chauhan SK, Jin Y, Goyal S, Lee HS, Fuchsluger TA, Lee HK, et al. A novel prolymphangiogenic function for Th17/IL-17. *Blood* 2011;118:4630–4.
- [524] Goyal S, Chauhan SK, El Annan J, Nallasamy N, Zhang Q, Dana R. Evidence of corneal lymphangiogenesis in dry eye disease: a potential link to adaptive immunity? *Arch Ophthalmol* 2010;128:819–24.
- [525] El Annan J, Chauhan SK, Ecoiffier T, Zhang Q, Saban DR, Dana R. Characterization of effector T cells in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:3802–7.
- [526] Chauhan SK, Dana R. Role of Th17 cells in the immunopathogenesis of dry eye disease. *Mucosal Immunol* 2009;2:375–6.
- [527] Coursey TG, Gandhi NB, Volpe EA, Pflugfelder SC, de Paiva CS. Chemokine receptors CCR6 and CXCR3 are necessary for CD4(+) T cell mediated ocular surface disease in experimental dry eye disease. *PLoS One* 2013;8. e78508.
- [528] Dohlman TH, Chauhan SK, Kodati S, Hua J, Chen Y, Omoto M, et al. The CCR6/ CCL20 axis mediates Th17 cell migration to the ocular surface in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:4081–91.
- [529] Chauhan SK, El AJ, Ecoiffier T, Goyal S, Zhang Q, Saban DR, et al. Autoimmunity in dry eye is due to resistance of Th17 to Treg suppression. *J Immunol* 2009;182:1247–52.
- [530] Zhang X, Chen W, De Paiva CS, Corrales RM, Volpe EA, McClellan AJ, et al. Interferon- $\gamma$  exacerbates dry eye-induced apoptosis in conjunctiva through dual apoptotic pathways. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52: 6279–85.
- [531] Yoon KC, De Paiva CS, Qi H, Chen Z, Farley WJ, Li DQ, et al. Expression of Th-1 chemokines and chemokine receptors on the ocular surface of C57BL/6 mice: effects of desiccating stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:2561–9.
- [532] Pflugfelder SC, De Paiva CS, Moore QL, Volpe EA, Li DQ, Gumus K, et al. Aqueous tear deficiency increases conjunctival interferon- $\gamma$  expression and goblet cell loss. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56: 7545–50.
- [533] Niederkorn JY, Stevens C, Mellon J, Mayhew E. CD4+ T-cell-independent rejection of corneal allografts. *Transplantation* 2006;81:1171–8.
- [534] Rodriguez-Pinto D, Moreno J. B cells can prime naive CD4+ T cells in vivo in the absence of other professional antigen-presenting cells in a CD154-CD40- dependent manner. *Eur J Immunol* 2005;35:1097–105.
- [535] Dursun D, Wang M, Monroy D, Li DQ, Lokeshwar BL, Stern M, et al. Experimentally induced dry eye produces ocular surface inflammation and epithelial disease. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:647–55.
- [536] Pelegrino FS, Volpe EA, Gandhi NB, Li DQ, Pflugfelder SC, de Paiva CS. Deletion of interferon- $\gamma$  delays onset and severity of dacryoadenitis in CD25KO mice. *Arthritis Res Ther* 2012;14. R234.
- [537] Chen Y, Chauhan SK, Lee HS, Stevenson W, Schaumburg CS, Sadrai Z, et al. Effect of desiccating environmental stress versus systemic muscarinic AChR blockade on dry eye immunopathogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:2457–64.
- [538] Gallowitsch-Puerta M, Pavlov VA. Neuro-immune interactions via the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Life Sci* 2007;80:2325–9.
- [539] Mitchelson F. Muscarinic receptor agonists and antagonists: effects on ocular function. *Handb Exp Pharmacol* 2012:263–98.
- [540] Toshida H, Beuerman RW. Effects of preganglionic parasympathetic denervation on the rabbit lacrimation. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt A):225–9.
- [541] Chen Y, Zhang X, Yang L, Li M, Li B, Wang W, et al. Decreased PPAR- $\gamma$  expression in the conjunctiva and increased expression of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in the conjunctiva and tear fluid of dry eye mice. *Mol Med Rep* 2014;9: 2015–23.
- [542] Chen Y, Chauhan SK, Lee HS, Saban DR, Dana R. Chronic dry eye disease is principally mediated by effector memory Th17 cells. *Mucosal Immunol* 2014;7:38–45.
- [543] Choi W, Lian C, Ying L, Kim GE, You IC, Park SH, et al. Expression of Lipid Peroxidation Markers in the Tear Film and Ocular Surface of Patients with Non-Sjogren Syndrome: Potential Biomarkers for Dry Eye Disease. *Curr Eye Res* 2016:1–7.
- [544] Blackie CA, Korb DR. A novel lid seal evaluation: the Korb-Blackie light test. *Eye Contact Lens* 2015;41:98–100.
- [545] McClellan AJ, Volpe EA, Zhang X, Darlington GJ, Li DQ, Pflugfelder SC, et al. Ocular surface disease and dacryoadenitis in aging C57BL/6 mice. *Am J Pathol* 2014;184:631–43.
- [546] Seok J, Warren HS, Cuenca AG, Mindrinos MN, Baker HV, Xu W, et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:3507–12.
- [547] Shoda LK, Young DL, Ramanujan S, Whiting CC, Atkinson MA, Bluestone JA, et al. A comprehensive review of interventions in the NOD mouse and implications for translation. *Immunity* 2005;23:115–26.
- [548] Takao K, Miyakawa T. Genomic responses in mouse models greatly mimic human inflammatory diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112:1167–72.
- [549] Chao W, Belmonte C, Benitez Del Castillo JM, Bron AJ, Dua HS, Nichols KK, et al. Report of the Inaugural Meeting of the TFOS  $\beta$  = initiating innovation Series: Targeting the Unmet Need for Dry Eye Treatment. *Ocul Surf* 2016;14: 264–316.
- [550] Sosne G, Kim C, Kleinman HK. Thymosin beta4 significantly reduces the signs of dryness in a murine controlled adverse environment model of experimental dry eye. *Expert Opin Biol Ther* 2015;15(Suppl 1):S155–61.
- [551] Lekhanont K, Park CY, Smith JA, Combs JC, Preechawat P, Suwan-Apichon O, et al. Effects of topical anti-inflammatory agents in a botulinum toxin B- induced mouse model of keratoconjunctivitis sicca. *J Ocul Pharmacol Ther* 2007 Feb;23(1):27–34.
- [552] Shay T, Lederer JA, Benoist C. Genomic responses to inflammation in mouse models mimic humans: we concur, apples to oranges comparisons won't do. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112. E346.
- [553] Ariga H, Edwards J, Sullivan DA. Androgen control of autoimmune expression in lacrimal glands of MRL/Mp-lpr/lpr mice. *Clin Immunol Immunopathol* 1989;53:499–508.
- [554] Vendramini AC, Soo C, Sullivan DA. Testosterone-induced suppression of autoimmune disease in lacrimal tissue of a mouse model (NZB/NZW F1) of Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:3002–6.
- [555] Toda I, Wickham LA, Sullivan DA. Gender and androgen treatment influence the expression of proto-oncogenes and apoptotic factors in lacrimal and salivary tissues of MRL/lpr mice. *Clin Immunol Immunopathol* 1998;86: 59–71.
- [556] Toda I, Sullivan BD, Rocha EM, Da Silveira LA, Wickham LA, Sullivan DA. Impact of gender on exocrine gland inflammation in mouse models of Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res* 1999;69:355–66.
- [557] Schaumburg DA, Dana R, Buring JE, Sullivan DA. Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the Physicians' Health Studies. *Arch Ophthalmol* 2009;127:763–8.

- [558] Galor A, Feuer W, Lee DJ, Florez H, Carter D, Pouyeh B, et al. Prevalence and risk factors of dry eye syndrome in a United States veterans affairs population. *Am J Ophthalmol* 2011;152:377 e2–84 e2.
- [559] Guillon M, Maissa C. Tear film evaporation-effect of age and gender. *Cont Lens Anterior Eye* 2010;33:171–5.
- [560] Guo B, Lu P, Chen X, Zhang W, Chen R. Prevalence of dry eye disease in Mongolians at high altitude in China: the Henan eye study. *Ophthalmic Epidemiol* 2010;17:234–41.
- [561] Gupta N, Prasad I, Jain R, D'Souza P. Estimating the prevalence of dry eye among Indian patients attending a tertiary ophthalmology clinic. *Ann Trop Med Parasitol* 2010;104:247–55.
- [562] Bian F, Barbosa FL, Corrales RM, Pelegrino FS, Volpe EA, Pflugfelder SC, et al. Altered balance of interleukin-13/interferon-gamma contributes to lacrimal gland destruction and secretory dysfunction in CD25 knockout model of Sjogren's syndrome. *Arthritis Res Ther* 2015;17:53.
- [563] Turpie B, Yoshimura T, Gulati A, Rios JD, Dartt DA, Masli S. Sjogren's syndrome-like ocular surface disease in thrombospondin-1 deficient mice. *Am J Pathol* 2009;175:1136–47.
- [564] Coursey TG, Bian F, Pflugfelder SC, De Paiva CS. Spontaneous lacrimal keratoconjunctivitis in aged NOD.B10.H2b mice is accompanied by dysfunctional T regulatory cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:334.
- [565] Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, Baer A, Challacombe S, Lanfranchi H, et al. American College of Rheumatology classification criteria for Sjogren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjogren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. *Arthritis Care Res Hob* 2012;64:475–87.
- [566] Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol* 2003;136:318–26.
- [567] Uchino M, Dogru M, Uchino Y, Fukagawa K, Shimamura S, Takebayashi T, et al. Japan Ministry of Health study on prevalence of dry eye disease among Japanese high school students. *Am J Ophthalmol* 2008;146:925 e2–9 e2.
- [568] Hunger RE, Carnaud C, Vogt I, Mueller C. Male gonadal environment paradoxically promotes dacryoadenitis in nonobese diabetic mice. *J Clin Invest* 1998;101:1300–9.
- [569] Toda I, Sullivan BD, Wickham LA, Sullivan DA. Gender- and androgen-related influence on the expression of proto-oncogene and apoptotic factor mRNAs in lacrimal glands of autoimmune and non-autoimmune mice. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999;71:49–61.
- [570] Darabad RR, Richards SM, Sullivan DA. Sex and androgen effects on gene expression in autoimmune lacrimal glands. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010. ARVO abstract #4177.
- [571] Brito-Zeron P, Theander E, Baldini C, Seror R, Retamozo S, Quartuccio L, et al. Early diagnosis of primary Sjogren's syndrome: EULAR-SS task force clinical recommendations. *Expert Rev Clin Immunol* 2016;12:137–56.
- [572] Jabs DA, Lee B, Whittum-Hudson JA, Prendergast RA. Th1 versus Th2 immune responses in autoimmune lacrimal gland disease in MRL/Mp mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:826–31.
- [573] Van Blokland SC, Versnel MA. Pathogenesis of Sjogren's syndrome: characteristics of different mouse models for autoimmune exocrinopathy. *Clin Immunol* 2002;103:111–24.
- [574] Jabs DA, Prendergast RA. Autoimmune ocular disease in MRL/Mp-lpr/lpr mice is suppressed by anti-CD4 antibody. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32: 2718–22.
- [575] Jie G, Jiang Q, Rui Z, Yifei Y. Expression of interleukin-17 in autoimmune dacryoadenitis in MRL/lpr mice. *Curr Eye Res* 2010;35:865–71.
- [576] Diebold Y, Chen LL, Tepavcevic V, Ferdman D, Hodges RR, Dartt DA. Lymphocytic infiltration and goblet cell marker alteration in the conjunctiva of the MRL/MpJ-Fas(lpr) mouse model of Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res* 2007;84:500–12.
- [577] Sun B, Rizzo LV, Sun SH, Chan CC, Wiggert B, Wilder RL, et al. Genetic susceptibility to experimental autoimmune uveitis involves more than a predisposition to generate a T helper-1-like or a T helper-2-like response. *J Immunol* 1997;159:1004–11.
- [578] Rios JD, Horikawa Y, Chen LL, Kublin CL, Hodges RR, Dartt DA, et al. Age-dependent alterations in mouse exorbital lacrimal gland structure, innervation and secretory response. *Exp Eye Res* 2005;80:477–91.
- [579] de Paiva CS, Rocha EM. Sjogren syndrome: what and where are we looking for? *Curr Opin Ophthalmol* 2015;26:517–25.
- [580] Zhou D, Chen YT, Chen F, Gallup M, Vijmasi T, Bahrami AF, et al. Critical involvement of macrophage infiltration in the development of Sjogren's syndrome-associated dry eye. *Am J Pathol* 2012;181:753–60.
- [581] de Paiva CS, Hwang CS, Pitcher III JD, Pangelinan SB, Rahimy E, Chen W, et al. Age-related T-cell cytokine profile parallels corneal disease severity in Sjogren's syndrome-like keratoconjunctivitis sicca in CD25KO mice. *Rheumatology* 2010;49:246–58.
- [582] Rahimy E, Pitcher 3rd JD, Pangelinan SB, Chen W, Farley WJ, Niederkorn JY, et al. Spontaneous autoimmune dacryoadenitis in aged CD25KO mice. *Am J Pathol* 2010;177:744–53.
- [583] Chistiakov DA, Voronova NV, Chistiakov PA. The crucial role of IL-2/IL-2RA-mediated immune regulation in the pathogenesis of type 1 diabetes, an evidence coming from genetic and animal model studies. *Immunol Lett* 2008;118:1–5.
- [584] Willerford DMCJ, Ferry JA, Davidson L, Ma A, Alt FW. Interleukin-2 receptor alpha chain regulates the size and content of the peripheral lymphoid compartment. *Immunity* 1995;3:521–30.
- [585] Waldmann TA. The biology of interleukin-2 and interleukin-15: implications for cancer therapy and vaccine design. *Nat Rev Immunol* 2006;6:595–601.
- [586] Sharma R, Bagavant H, Jarjour WN, Sung SS, Ju ST. The role of Fas in the immune system biology of IL-2R alpha knockout mice: interplay among regulatory T cells, inflammation, hemopoiesis, and apoptosis. *J Immunol* 2005;175:1965–73.
- [587] Refaelli Y, Van PL, London CA, Tschopp J, Abbas AK. Biochemical mechanisms of IL-2-regulated Fas-mediated T cell apoptosis. *Immunity* 1998;8:615–23.
- [588] Vijmasi T, Chen FY, Chen YT, Gallup M, McNamara N. Topical administration of interleukin-1 receptor antagonist as a therapy for aqueous-deficient dry eye in autoimmune disease. *Mol Vis* 2013;19:1957–65.
- [589] Chen YT, Nikulina K, Lazarev S, Bahrami AF, Noble LB, Gallup M, et al. Interleukin-1 as a phenotypic immunomodulator in keratinizing squamous metaplasia of the ocular surface in Sjogren's syndrome. *Am J Pathol* 2010;177:1333–43.
- [590] Yeh S, de Paiva CS, Hwang CS, Trinca K, Lingappan A, Rafati JK, et al. Spontaneous T cell mediated keratoconjunctivitis in Aire-deficient mice. *Br J Ophthalmol* 2009;93:1260–4.
- [591] Nguyen CQ, Yin H, Lee BH, Chiorini JA, Peck AB. IL17: potential therapeutic target in Sjogren's syndrome using adenovirus-mediated gene transfer. *Lab Invest* 2011;91:54–62.
- [592] Caspi RR, Chan CC, Grubbs BG, Silver PB, Wiggert B, Parsa CF, et al. Endogenous systemic IFN-gamma has a protective role against ocular autoimmunity in mice. *J Immunol* 1994;152:890–9.
- [593] Cha S, Brayer J, Gao J, Brown V, Killeddar S, Yasunari U, et al. A dual role for interferon-gamma in the pathogenesis of Sjogren's syndrome-like autoimmune exocrinopathy in the nonobese diabetic mouse. *Scand J Immunol* 2004;60:552–65.
- [594] Wan YY, Flavell RA. Regulatory T cells, transforming growth factor-beta, and immune suppression. *Proc Am Thorac Soc* 2007;4:271–6.
- [595] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441:235–8.
- [596] McCartney-Francis NL, Mizel DE, Frazier-Jessen M, Kulkarni AB, McCarthy JB, Wahl SM. Lacrimal gland inflammation is responsible for ocular pathology in TGF-beta 1 null mice. *Am J Pathol* 1997;151:1281–8.
- [597] McCartney-Francis NL, Mizel DE, Redman RS, Frazier-Jessen M, Panek RB, Kulkarni AB, et al. Autoimmune Sjogren's-like lesions in salivary glands of TGF-beta1-deficient mice are inhibited by adhesion-blocking peptides. *J Immunol* 1996;157:1306–12.
- [598] Shull MM, Doetschman T. Transforming growth factor- $\beta$ 1 in reproduction and development. *Mol Reprod Dev* 1994;39:239–46.
- [599] Contreras-Ruiz L, Regenfuss B, Mir FA, Kearns J, Masli S. Conjunctival Inflammation in Thrombospondin-1 Deficient Mouse Model of Sjogren's Syndrome. *PLoS One* 2013;8. e75937.
- [600] Gandhi NB, Su Z, Zhang X, Volpe EA, Pelegrino FS, Rahman SA, et al. Dendritic cell-derived thrombospondin-1 is critical for the generation of the ocular surface Th17 response to desiccating stress. *J Leukoc Biol* 2013;94: 1293–301.
- [601] Contreras-Ruiz L, Ryan DS, Sia RK, Bower KS, Dartt DA, Masli S. Polymorphism in THBS1 gene is associated with post-refractive surgery chronic ocular surface inflammation. *Ophthalmology* 2014;121:1389–97.
- [602] Okuma A, Hoshino K, Ohba T, Fukushi S, Aiba S, Akira S, et al. Enhanced apoptosis by disruption of the STAT3-IkappaB-zeta signaling pathway in epithelial cells induces Sjogren's syndrome-like autoimmune disease. *Immunity* 2013;38:450–60.
- [603] Wu AJ, Chen ZJ, Tsokos M, O'Connell BC, Ambudkar IS, Baum BJ. Interferon-gamma induced cell death in a cultured human salivary gland cell line. *J Cell Physiol* 1996;167:297–304.
- [604] Kamachi M, Kawakami A, Yamasaki S, Hida A, Nakashima T, Nakamura H, et al. Regulation of apoptotic cell death by cytokines in a human salivary gland cell line: distinct and synergistic mechanisms in apoptosis induced by tumor necrosis factor alpha and interferon gamma. *J Lab Clin Med* 2002;139: 13–9.
- [605] Coursey TG, Tukler Henriksson J, Barbosa FL, de Paiva CS, Pflugfelder SC. Interferon-gamma-Induced Unfolded Protein Response in Conjunctival Goblet Cells as a Cause of Mucin Deficiency in Sjogren Syndrome. *Am J Pathol* 2016;186:1547–58.
- [606] Garcia-Posadas L, Hodges RR, Li D, Shatos MA, Storr-Paulsen T, Diebold Y, et al. Interaction of IFN-gamma with cholinergic agonists to modulate rat and human goblet cell function. *Mucosal Immunol* 2016;9:206–17.
- [607] Zulman J, Jaffe R, Talal N. Evidence that the malignant lymphoma of Sjogren's



- syndrome is a monoclonal B-cell neoplasm. *N Engl J Med* 1978;299:1215–20.
- [608] Voulgarelis M, Ziakas PD, Papageorgiou A, Baimpa E, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Prognosis and outcome of non-Hodgkin lymphoma in primary Sjogren syndrome. *Med Baltim* 2012;91:1–9.
- [609] Kassan SS, Thomas TL, Moutsopoulos HM, Hoover R, Kimberly RP, Budman DR, et al. Increased risk of lymphoma in sicca syndrome. *Ann Intern Med* 1978;89:888–92.
- [610] Whitcher JP, Shiboski CH, Shiboski SC, Heidenreich AM, Kitagawa K, Zhang S, et al. A simplified quantitative method for assessing keratoconjunctivitis sicca from the Sjogren's Syndrome International Registry. *Am J Ophthalmol* 2010;149:405–15.
- [611] Groom J, Kalled SL, Cutler AH, Olson C, Woodcock SA, Schneider P, et al. Association of BAFF/BLyS overexpression and altered B cell differentiation with Sjogren's syndrome. *J Clin Invest* 2002;109:59–68.
- [612] Qian Y, Giltiay N, Xiao J, Wang Y, Tian J, Han S, et al. Deficiency of Act1, a critical modulator of B cell function, leads to development of Sjogren's syndrome. *Eur J Immunol* 2008;38:2219–28.
- [613] Brayer JB, Cha S, Nagashima H, Yasunari U, Lindberg A, Diggs S, et al. IL-4-dependent effector phase in autoimmune exocrinopathy as defined by the NOD.IL-4-gene knockout mouse model of Sjogren's syndrome. *Scand J Immunol* 2001;54:133–40.
- [614] Nguyen CQ, Gao JH, Kim H, Saban DR, Cornelius JG, Peck AB. IL-4-STAT6 signal transduction-dependent induction of the clinical phase of Sjogren's syndrome-like disease of the nonobese diabetic mouse. *J Immunol* 2007;179:382–90.
- [615] Iizuka M, Wakamatsu E, Tsuboi H, Nakamura Y, Hayashi T, Matsui M, et al. Pathogenic role of immune response to M3 muscarinic acetylcholine receptor in Sjogren's syndrome-like sialadenitis. *J Autoimmun* 2010;35:383–9.
- [616] Iizuka M, Tsuboi H, Matsuo N, Kondo Y, Asashima H, Matsui M, et al. The crucial roles of IFN-gamma in the development of M3 muscarinic acetylcholine receptor induced Sjogren's syndrome-like sialadenitis. *Mod Rheumatol* 2013;23:614–6.
- [617] Iizuka M, Tsuboi H, Asashima H, Hirota T, Kondo Y, Matsui M, et al. M3 muscarinic acetylcholine receptor reactive IL-17 producing T cells promotes development of Sjogren's syndrome like sialadenitis. *Mod Rheumatol* 2015;25:158–60.
- [618] Yoon KC, de Paiva CS, Qi H, Chen Z, Farley WJ, Li DQ, et al. Desiccating environmental stress exacerbates autoimmune lacrimal keratoconjunctivitis in non-obese diabetic mice. *J Autoimmun* 2008;30:212–21.
- [619] Yoon KC, Ahn KY, Choi W, Li Z, Choi JS, Lee SH, et al. Tear production and ocular surface changes in experimental dry eye after elimination of desiccating stress. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:7267–73.
- [620] Knop E, Knop N. Meibomian glands : part IV. Functional interactions in the pathogenesis of meibomian gland dysfunction (MGD). *Ophthalmologie* 2009;106:980–7.
- [621] Knop E, Knop N, Brewitt H, Pleyer U, Rieck P, Seitz B, et al. Meibomian glands : part III. Dysfunction - argument for a discrete disease entity and as an important cause of dry eye. *Ophthalmologie* 2009;106:966–79.
- [622] Krenzer KL, Dana MR, Ullman MD, Cermak JM, Tolls DB, Evans JE, et al. Effect of androgen deficiency on the human meibomian gland and ocular surface. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4874–82.
- [623] Cermak JM, Krenzer KL, Sullivan RM, Dana MR, Sullivan DA. Is complete androgen insensitivity syndrome associated with alterations in the meibomian gland and ocular surface? *Cornea* 2003;22:516–21.
- [624] Obata H. Anatomy and histopathology of human meibomian gland. *Cornea* 2002;21:S70–4.
- [625] Jester JV, Nicolaidis N, Smith RE. Meibomian gland studies: histologic and ultrastructural investigations. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1981;20:537–47.
- [626] Mathers WD, Lane JA. Meibomian gland lipids, evaporation, and tear film stability. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:349–60.
- [627] Sullivan BD, Evans JE, Dana MR, Sullivan DA. Influence of aging on the polar and neutral lipid profiles in human meibomian gland secretions. *Arch Ophthalmol* 2006;124:1286–92.
- [628] Sullivan DA, Yamagami H, Liu M, Steagall RJ, Schirra F, Suzuki T, et al. Sex steroids, the meibomian gland and evaporative dry eye. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:389–99.
- [629] Driver PJ, Lemp MA. Meibomian gland dysfunction. *Surv Ophthalmol* 1996;40:343–67.
- [630] Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J* 1995;21:221–32.
- [631] Julio G, Merindano MD, Canals M, Caum C, Rallo M. Indicators of progressive corneal exposure to dry eye conditions. *Optom Vis Sci* 2012;89:1042–9.
- [632] Tseng SC. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology* 1985;92:728–33.
- [633] Ohnishi Y, Kohno T. Polychlorinated biphenyls poisoning in monkey eye. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1979;18:981–4.
- [634] Lambert R, Smith RE. Hyperkeratinization in a rabbit model of meibomian gland dysfunction. *Am J Ophthalmol* 1988;105:703–5.
- [635] Jester JV, Rife L, Nii D, Luttruff JK, Wilson L, Smith RE. In vivo biomicroscopy and photography of meibomian glands in a rabbit model of meibomian gland dysfunction. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1982;22:660–7.
- [636] Nicolaidis N, Santos EC, Smith RE, Jester JV. Meibomian gland dysfunction. III. Meibomian gland lipids. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:946–51.
- [637] Miyake H, Oda T, Katsuta O, Seno M, Nakamura M. Meibomian Gland Dysfunction Model in Hairless Mice Fed a Special Diet With Limited Lipid Content. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:3268–75.
- [638] Liu Y, Ding J. The combined effect of azithromycin and insulin-like growth factor-1 on cultured human meibomian gland epithelial cells. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:5596–601.
- [639] Liu Y, Kam WR, Ding J, Sullivan DA. Effect of azithromycin on lipid accumulation in immortalized human meibomian gland epithelial cells. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:226–8.
- [640] Liu Y, Kam WR, Ding J, Sullivan DA. One man's poison is another man's meat: using azithromycin-induced phospholipidosis to promote ocular surface health. *Toxicology* 2014;320:1–5.
- [641] Lemp MA, Nichols KK. Blepharitis in the United States 2009: A Survey-based Perspective on Prevalence and Treatment. *Ocul Surf* 2009;7:51–14.
- [642] Ibrahim MAA, Elwan WM. Role of topical dehydroepiandrosterone in ameliorating isotretinoin-induced Meibomian gland dysfunction in adult male albino rat. *Ann Anat* 2017;211:78–87.
- [643] Perry MD, McEvoy GK. Isotretinoin: new therapy for severe acne. *Clin Pharm* 1983;2:12–9.
- [644] Fraunfelder FT, LaBraico JM, Meyer SM. Adverse ocular reactions possibly associated with isotretinoin. *Am J Ophthalmol* 1985;100:534–7.
- [645] Fraunfelder FT, Fraunfelder FW, Edwards R. Ocular side effects possibly associated with isotretinoin usage. *Am J Ophthalmol* 2001;132:299–305.
- [646] Caffery BE, Josephson JE. Ocular side effects of isotretinoin therapy. *J Am Optom Assoc* 1988;59:221–4.
- [647] Denis P, Nordmann JP, Saïag P, Liotet S, Laroche L, Saraux H. Chronic blepharokeratoconjunctivitis during a treatment with acitretin (Soriatane). *J Fr Ophthalmol* 1993;16:191–4.
- [648] Mathers WD, Shields WJ, Sachdev MS, Petroll WM, Jester JV. Meibomian gland morphology and tear osmolarity: changes with Accutane therapy. *Cornea* 1991;10:286–90.
- [649] Bozkurt B, Irke M, Atakan N, Orhan M, Geyik P. Lacrimal function and ocular complications in patients treated with systemic isotretinoin. *Eur J Ophthalmol* 2002;12:173–6.
- [650] Gross EG, Helfgott MA. Retinoids and the eye. *Dermatol Clin* 1992;10:521–31.
- [651] Jaanus SD. Ocular side effects of selected systemic drugs. *Optom Clin* 1992;2:73–96.
- [652] Egger SF, Huber-Spitzy V, Bohler K, Raff M, Scholda C, Barisani T, et al. Ocular side effects associated with 13-cis-retinoic acid therapy for acne vulgaris: clinical features, alterations of tearfilm and conjunctival flora. *Acta Ophthalmol Scand* 1995;73:355–7.
- [653] Schiffman RM, Bradford R, Bunnell B, Lai F, Bernstein P, Whitcup SW. A multi-center, double-masked, randomized, vehicle-controlled, parallel group study to evaluate the safety and efficacy of testosterone ophthalmic solution in patients with meibomian gland dysfunction (abstract) *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2006. ARVO e-abstract 5608.
- [654] Jester JV, Parfitt GJ, Brown DJ. Meibomian gland dysfunction: hyper-keratinization or atrophy? *BMC Ophthalmol* 2015;15(Suppl 1):156.
- [655] Nien CJ, Paugh JR, Massei S, Wahlert AJ, Kao WW, Jester JV. Age-related changes in the meibomian gland. *Exp Eye Res* 2009;89:1021–7.
- [656] Suhaimi JL, Parfitt GJ, Xie Y, De Paiva CS, Pflugfelder SC, Shah TN, et al. Effect of desiccating stress on mouse meibomian gland function. *Ocul Surf* 2014;12:59–68.
- [657] Obata H, Oka T, Yoshitomi F. Impression cytology of meibomian gland secretion. (abstract). *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2002. ARVO poster E-60.
- [658] Iwata S, Lemp MA, Holly FJ, Dohlman CH. Evaporation rate of water from the precorneal tear film and cornea in the rabbit. *Investig Ophthalmol* 1969;8:613–9.
- [659] Lee WB, Hamilton SM, Harris JP, Schwab IR. Ocular complications of hypovitaminosis a after bariatric surgery. *Ophthalmology* 2005;112:1031–4.
- [660] Yagyu H, Kitamine T, Osuga J, Tozawa R, Chen Z, Kaji Y, et al. Absence of ACAT-1 attenuates atherosclerosis but causes dry eye and cutaneous xanthomatosis in mice with congenital hyperlipidemia. *J Biol Chem* 2000;275:21324–30.
- [661] Nolan J. Evaluation of conjunctival and nasal bacterial cultures before intra-ocular operations. *Br J Ophthalmol* 1967;51:483–5.
- [662] Schabereiter-Gurtner C, Maca S, Rolke S, Nigl K, Lukas J, Hirschl A, et al. 16S rDNA-based identification of bacteria from conjunctival swabs by PCR and DGGE

- fingerprinting. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:1164–71.
- [663] Haynes RJ, Tighe PJ, Dua HS. Antimicrobial defensin peptides of the human ocular surface. *Br J Ophthalmol* 1999;83:737–41.
- [664] Dong Q, Brulic JM, Iovieno A, Bates B, Garoutte A, Miller D, et al. Diversity of bacteria at healthy human conjunctiva. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:5408–13.
- [665] Huang Y, Yang B, Li W. Defining the normal “core microbiome” of conjunctival microbial communities. *Clin Microbiol Infect* 2016; 64:3e7–643e12.
- [666] Moeller CT, Branco BC, Yu MC, Farah ME, Santos MA, Hofling-Lima AL. Evaluation of normal ocular bacterial flora with two different culture media. *Can J Ophthalmol* 2005;40:448–53.
- [667] Willcox MDP. Characterization of the normal microbiota of the ocular surface. *Exp Eye Res* 2013;117:99–105.
- [668] de Paiva CS, Jones DB, Stern ME, Bian F, Moore QL, Corbiere S, et al. Altered Mucosal Microbiome Diversity and Disease Severity in Sjogren Syndrome. *Sci Rep* 2016;6:23561.
- [669] Graham JE, Moore JE, Jiru X, Moore JE, Goodall EA, Dooley JSG, et al. Ocular Pathogen or Commensal: A PCR-Based Study of Surface Bacterial Flora in Normal and Dry Eyes. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:5616–23.
- [670] Albietz JM, Lenton LM. Effect of Antibacterial Honey on the Ocular Flora in Tear Deficiency and Meibomian Gland Disease. *Cornea* 2006;25:1012–9.
- [671] Terzulli M, Ruiz LC, Kugadas A, Masli S, Gadjeva M. TSP-1 Deficiency Alters Ocular Microbiota: Implications for Sjogren’s Syndrome Pathogenesis. *J Ocul Pharmacol Ther* 2015;31:413–8.
- [672] Wang CZM, Bian F, Britton RA, Pflugfelder SC, De Paiva CS. Sjogren-like Lacrimal Keratoconjunctivitis in Germ-Free Mice. *ARVO Meeting*. 2016.
- [673] Spoelker F, Frentz M, Schrage NF. Towards a new in vitro model of dry eye: the Ex Vivo Eye Irritation Test. *Dev Ophthalmol* 2010;45:93–107.
- [674] Meloni M, De Servi B, Marasco D, Del Prete S. Molecular mechanism of ocular surface damage: application to an in vitro dry eye model on human corneal epithelium. *Mol Vis* 2011;17:113–26.
- [675] Barabino S, De Servi B, Aragona S, Manenti D, Meloni M. Efficacy of a New Ocular Surface Modulator in Restoring Epithelial Changes in an In Vitro Model of Dry Eye Syndrome. *Curr Eye Res* 2017;42:358–63.
- [676] Thompson N, Isenberg DA, Jury EC, Ciurtin C. Exploring BAFF: its expression, receptors and contribution to the immunopathogenesis of Sjogren’s syndrome. *Rheumatol Oxf* 2016;55:1548–55.
- [677] Helmick CG, Felson DT, Lawrence RC, Gabriel S, Hirsch R, Kwoh CK, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part I. *Arthritis Rheum* 2008;58:15–25.
- [678] Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, Graham NM. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *Clin Immunol Immunopathol* 1997;84:223–43.
- [679] Maciel G, Crowson CS, Matteson EL, Corne C. Incidence and Mortality of Physician-Diagnosed Primary Sjogren Syndrome: Time Trends Over a 40-Year Period in a Population-Based US Cohort. *Mayo Clin Proc* 2017; 92, 734–743.
- [680] Maciel G, Crowson CS, Matteson EL, Corne C. Prevalence of Primary Sjogren’s Syndrome in a Population-Based Cohort in the United States. *Arthritis Care Res Hob* 2016 [Epub ahead of print].
- [681] Yen JC, Hsu CA, Li YC, Hsu MH. The Prevalence of Dry Eye Syndrome’s and the Likelihood to Develop Sjogren’s Syndrome in Taiwan: A Population-Based Study. *Int J Environ Res Public Health* 2015;12:7647–55.
- [682] Voulgarelis M, Tzioufas AG. Pathogenetic mechanisms in the initiation and perpetuation of Sjogren’s syndrome. *Nat Rev Rheumatol* 2010;6:529–37.
- [683] Nocturne G, Mariette X. Advances in understanding the pathogenesis of primary Sjogren’s syndrome. *Nat Rev Rheumatol* 2013;9:544–56.
- [684] Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjogren’s syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002;61:554–8.
- [685] Aguilar AJ, Fonseca L, Croxatto JO. Sjogren’s syndrome: a comparative study of impression cytology of the conjunctiva and buccal mucosa, and salivary gland biopsy. *Cornea* 1991;10:203–6.
- [686] Raphael M, Bellefghq S, Piette JC, Le Hoang P, Debre P, Chomette G. Conjunctival biopsy in Sjogren’s syndrome: correlations between histological and immunohistochemical features. *Histopathology* 1988;13:191–202.
- [687] Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, Afonso A, Monroy D. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjogren’s syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 1999;19:201–11.
- [688] Roberts DK. Keratoconjunctivitis sicca. *J Am Optom Assoc* 1991;62:187–99.
- [689] Uchino M, Nishiwaki Y, Michikawa T, Shirakawa K, Kuwahara E, Yamada M, et al. Prevalence and Risk Factors of Dry Eye Disease in Japan: Koumi Study. *Ophthalmology* 2011;118:2361–7.
- [690] Sullivan DA. Tearful relationships? Sex, hormones, the lacrimal gland, and aqueous-deficient dry eye. *Ocul Surf* 2004;2:92–123.
- [691] Darabad RR, Suzuki T, Richards SM, Jensen RV, Jakobiec FA, Zakka FR, et al. Influence of aromatase absence on the gene expression and histology of the mouse meibomian gland. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:987–98.
- [692] Rahimi Darabad R, Suzuki T, Richards SM, Jakobiec FA, Zakka FR, Barabino S, et al. Does estrogen deficiency cause lacrimal gland inflammation and aqueous-deficient dry eye in mice? *Exp Eye Res* 2014;127:153–60.
- [693] Li L, Kang Q, Wang S, Zheng X. Effects of androgen on ultrastructure of corneal epithelium and function of the tear film in BALB/c mice. *Cornea* 2015;34:334–41.
- [694] Lessard CJ, Li H, Adrianto I, Ice JA, Rasmussen A, Grundahl KM, et al. Variants at multiple loci implicated in both innate and adaptive immune responses are associated with Sjogren’s syndrome. *Nat Genet* 2013;45:1284–92.
- [695] Burbelo PD, Ambatipudi K, Alevizos I. Genome-wide association studies in Sjogren’s syndrome: What do the genes tell us about disease pathogenesis? *Autoimmun Rev* 2014;13:756–61.
- [696] Carragher DM, Rangel-Moreno J, Randall TD. Ectopic lymphoid tissues and local immunity. *Semin Immunol* 2008;20:26–42.
- [697] Moutsopoulos HM. Sjogren’s syndrome: a forty-year scientific journey. *J Autoimmun* 2014;51:1–9.
- [698] Christodoulou MI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Characteristics of the minor salivary gland infiltrates in Sjogren’s syndrome. *J Autoimmun* 2010;34:400–7.
- [699] Kapsogeorgou EK, Christodoulou MI, Panagiotakos DB, Paikos S, Tassidou A, Tzioufas AG, et al. Minor salivary gland inflammatory lesions in Sjogren syndrome: do they evolve? *J Rheumatol* 2013;40:1566–71.
- [700] Bombardieri M, Barone F, Humby F, Kelly S, McGurk M, Morgan P, et al. Activation-induced cytidine deaminase expression in follicular dendritic cell networks and interfollicular large B cells supports functionality of ectopic lymphoid neogenesis in autoimmune sialoadenitis and MALT lymphoma in Sjogren’s syndrome. *J Immunol* 2007;179:4929–38.
- [701] Theander E, Vasaitis L, Baecklund E, Nordmark G, Warfvinge G, Liedholm R, et al. Lymphoid organisation in labial salivary gland biopsies is a possible predictor for the development of malignant lymphoma in primary Sjogren’s syndrome. *Ann Rheum Dis* 2011;70:1363–8.
- [702] Boehm N, Riechardt AI, Wiegand M, Pfeiffer N, Grus FH. Proinflammatory cytokine profiling of tears from dry eye patients by means of antibody microarrays. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:7725–30.
- [703] Kang EH, Lee YJ, Hyon JY, Yun PY, Song YW. Salivary cytokine profiles in primary Sjogren’s syndrome differ from those in non-Sjogren sicca in terms of TNF-alpha levels and Th-1/Th-2 ratios. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29: 970–6.
- [704] Lin X, Rui K, Deng J, Tian J, Wang X, Wang S, et al. Th17 cells play a critical role in the development of experimental Sjogren’s syndrome. *Ann Rheum Dis* 2015;74:1302–10.
- [705] Oh JY, Kim MK, Choi HJ, Ko JH, Kang EJ, Lee HJ, et al. Investigating the relationship between serum interleukin-17 levels and systemic immune-mediated disease in patients with dry eye syndrome. *Korean J Ophthalmol* 2011;25:73–6.
- [706] Katsifis GE, Rekkas S, Moutsopoulos NM, Pillemer S, Wahl SM. Systemic and local interleukin-17 and linked cytokines associated with Sjogren’s syndrome immunopathogenesis. *Am J Pathol* 2009;175:1167–77.
- [707] Nguyen CQ, Hu MH, Li Y, Stewart C, Peck AB. Salivary gland tissue expression of interleukin-23 and interleukin-17 in Sjogren’s syndrome: findings in humans and mice. *Arthritis Rheum* 2008;58:734–43.
- [708] Nguyen CQ, Yin H, Lee BH, Carcamo WC, Chiorini JA, Peck AB. Pathogenic effect of interleukin-17A in induction of Sjogren’s syndrome-like disease using adenovirus-mediated gene transfer. *Arthritis Res Ther* 2010;12: R220.
- [709] Triantafyllopoulou A, Moutsopoulos HM. Autoimmunity and coxsackievirus infection in primary Sjogren’s syndrome. *Ann N. Y Acad Sci* 2005;1050: 389–96.
- [710] Kapsogeorgou EK, Abu-Helu RF, Moutsopoulos HM, Manoussakis MN. Salivary gland epithelial cell exosomes: A source of autoantigenic ribonucleoproteins. *Arthritis Rheum* 2005;52:1517–21.
- [711] Casciola-Rosen L, Andrade F, Ulanet D, Wong WB, Rosen A. Cleavage by granzyme B is strongly predictive of autoantigen status: implications for initiation of autoimmunity. *J Exp Med* 1999;190:815–26.
- [712] Mitsias DI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. The role of epithelial cells in the initiation and perpetuation of autoimmune lesions: lessons from Sjogren’s syndrome (autoimmune epithelitis). *Lupus* 2006;15:255–61.
- [713] Corne C, Devauchelle-Pensec V, Tobon GJ, Pers JO, Jousse-Joulin S, Saraux A. B cells in Sjogren’s syndrome: from pathophysiology to diagnosis and treatment. *J Autoimmun* 2012;39:161–7.
- [714] Ishimaru N, Arakaki R, Watanabe M, Kobayashi M, Miyazaki K, Hayashi Y. Development of autoimmune exocrinopathy resembling Sjogren’s syndrome in estrogen-deficient mice of healthy background. *Am J Pathol* 2003;163: 1481–90.
- [715] Baudouin C, Brignole F, Pisella PJ, De Jean MS, Goguel A. Flow cytometric analysis of the inflammatory marker HLA DR in dry eye syndrome: results from 12 months of

- randomized treatment with topical cyclosporin A. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:761–9.
- [716] Brignole F, Pisella PJ, De Saint Jean M, Goldschild M, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in KCS: 6-month treatment with topical cyclosporin A. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:90–5.
- [717] Tsubota K, Fukagawa KT, Shimamura S, Saito I, Saito K, et al. Regulation of human leukocyte antigen expression in human conjunctival epithelium. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:28–34.
- [718] Youinou P, Pers JO. Primary Sjögren's syndrome at a glance today. *Jt Bone Spine* 2015;82:75–6.
- [719] Gordon TP, Bolstad AI, Rischmueller M, Jonsson R, Waterman SA. Autoantibodies in primary Sjögren's syndrome: new insights into mechanisms of autoantibody diversification and disease pathogenesis. *Autoimmunity* 2001;34:123–32.
- [720] Dawson L, Tobin A, Smith P, Gordon T. Antimuscarinic antibodies in Sjögren's syndrome: where are we, and where are we going? *Arthritis Rheum* 2005;52:2984–95.
- [721] Bacman SR, Berra A, Sterin-Borda L, Borda ES. Human primary Sjögren's syndrome autoantibodies as mediators of nitric oxide release coupled to lacrimal gland muscarinic acetylcholine receptors. *Curr Eye Res* 1998;17: 1135–42.
- [722] Bacman S, Perez Leiros C, Sterin-Borda L, Hubscher O, Arana R, Borda E. Autoantibodies against lacrimal gland M3 muscarinic acetylcholine receptors in patients with primary Sjögren's syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:151–6.
- [723] Nguyen KH, Brayer J, Cha S, Diggs S, Yasunari U, Hilal G, et al. Evidence for antimuscarinic acetylcholine receptor antibody-mediated secretory dysfunction in NOD mice. *Arthritis Rheum* 2000;43:2297–306.
- [724] Cavilli D, Waterman SA, Gordon TP. Antibodies raised against the second extracellular loop of the human muscarinic M3 receptor mimic functional autoantibodies in Sjögren's syndrome. *Scand J Immunol* 2004;59:261–6.
- [725] Sullivan DA. Possible mechanisms involved in the reduced tear secretion in Sjögren's syndrome. In: Homma M, Sugai S, Tojo T, Miyasaka N, Akizuki M, editors. *Sjögren's Syndrome State of the Art*. Amsterdam: Kugler Press; 1994. p. 3–19.
- [726] Xu KP, Katagiri S, Takeuchi T, Tsubota K. Biopsy of labial salivary glands and lacrimal glands in the diagnosis of Sjögren's syndrome. *J Rheumatol* 1996;23:76–82.
- [727] Alpert S, Kang HI, Weissman I, Fox RI. Expression of granzyme A in salivary gland biopsies from patients with primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1994;37:1046–54.
- [728] Tsubota K, Saito I, Miyasaka N. Granzyme A and perforin expressed in the lacrimal glands of patients with Sjögren's syndrome. *Am J Ophthalmol* 1994;117:120–1.
- [729] Tsubota K, Xu KP, Fujihara T, Katagiri S, Takeuchi T. Decreased reflex tearing is associated with lymphocytic infiltration in lacrimal glands. *J Rheumatol* 1996;23:313–20.
- [730] Knop E, Knop N. [Eye-associated lymphoid tissue (EALT) is continuously spread throughout the ocular surface from the lacrimal gland to the lacrimal drainage system]. *Ophthalmologie* 2003;100:929–42.
- [731] Gao J, Schwalb TA, Addeo JV, Ghosn CR, Stern ME. The role of apoptosis in the pathogenesis of canine keratoconjunctivitis sicca: the effect of topical Cyclosporin A therapy. *Cornea* 1998;17:654–63.
- [732] Croft M, Dubey C. Accessory molecule and costimulation requirements for CD4 T cell response. *Crit Rev Immunol* 1997;17:89–118.
- [733] Villani E, Beretta S, De Capitani M, Galimberti D, Viola F, Ratiglia R. In vivo confocal microscopy of meibomian glands in Sjögren's syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:933–9.
- [734] Solomon A, Dursun D, Liu Z, Xie Y, Macri A, Pflugfelder SC. Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42: 2283–92.
- [735] Caffery BE, Joyce E, Heynen ML, Ritter 3rd R, Jones LA, Senchyna M. Quantification of conjunctival TNF-alpha in aqueous-deficient dry eye. *Optom Vis Sci* 2014;91:156–62.
- [736] Takahashi H, Asano K, Nakamura S, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Interferon-gamma-dependent stimulation of human involucrin gene expression: STAT1 (signal transduction and activators of transcription 1) protein activates involucrin promoter activity. *Biochem J* 1999;344(Pt 3):797–802.
- [737] Li S, Nikulina K, DeVoss J, Wu AJ, Strauss EC, Anderson MS, et al. Small proline-rich protein 1B (SPRR1B) is a biomarker for squamous metaplasia in dry eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:34–41.
- [738] Kawasaki S, Kawamoto S, Yokoi N, Connon C, Minesaki Y, Kinoshita S, et al. Up-regulated gene expression in the conjunctival epithelium of patients with Sjögren's syndrome. *Exp Eye Res* 2003;77:17–26.
- [739] Hirai N, Kawasaki S, Tanioka H, Connon CJ, Yamasaki K, Yokoi N, et al. Pathological keratinisation in the conjunctival epithelium of Sjögren's syndrome. *Exp Eye Res* 2006;82:371–8.
- [740] Tong L, Corrales RM, Chen Z, Villarreal AL, De Paiva CS, Beuerman R, et al. Expression and regulation of cornified envelope proteins in human corneal epithelium. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:1938–46.
- [741] Vijmasi T, Chen FY, Balasubbu S, Gallup M, McKown RL, Laurie GW, et al. Topical administration of lacritin is a novel therapy for aqueous-deficient dry eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:5401–9.
- [742] The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop. *Ocul Surf* 2007;2007(5):75–92.
- [743] Scherz W, Dohlman CH. Is the lacrimal gland dispensable? Keratoconjunctivitis sicca after lacrimal gland removal. *Arch Ophthalmol* 1975;93:281–3.
- [744] Hegab SM, Sheriff SM, el-Aasar ES, Lashin EA, Phillips CI. Congenital alacrima without associated manifestations (AD). An affected father and son. *Ophthalmic Paediatr Genet* 1991;12:161–3.
- [745] Kim SH, Hwang S, Kweon S, Kim TK, Oh J. Two cases of lacrimal gland agenesis in the same family-clinoradiologic findings and management. *Can J Ophthalmol* 2005;40:502–5.
- [746] Athappilly GK, Braverman RS. Congenital alacrima in a patient with blepharophimosis syndrome. *Ophthalmic Genet* 2009;30:37–9.
- [747] Arya SK, Chaudhuri Z, Jain R, Nahar R, Sood S. Congenital alacrima in Pierre Robin sequence. *Cornea* 2004;23:632–4.
- [748] Brooks BP, Kleta R, Stuart C, Tuchman M, Jeong A, Stergiopoulos SG, et al. Genotypic heterogeneity and clinical phenotype in triple A syndrome: a review of the NIH experience 2000–2005. *Clin Genet* 2005;68:215–21.
- [749] Sarathi V, Shah NS. Triple-A syndrome. *Adv Exp Med Biol* 2010;685:1–8.
- [750] Krumbholz M, Koehler K, Huebner A. Cellular localization of 17 natural mutant variants of ALADIN protein in triple A syndrome - shedding light on an unexpected splice mutation. *Biochem Cell Biol* 2006;84:243–9.
- [751] Rocha EM, Alves M, Rios JD, Dartt DA. The Aging Lacrimal Gland: Changes in Structure and Function. *Ocul Surf* 2008;6:162–74.
- [752] Na KS, Mok JW, Kim JY, Joo CK. Proinflammatory gene polymorphisms are potentially associated with Korean non-Sjögren dry eye patients. *Mol Vis* 2011;17:2818–23.
- [753] Ren G, Shao T, Zhuang Y, Hu H, Zhang X, Huang J, et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor and human leukocyte antigen-C genotype with dry eye disease in a Chinese Han population. *Genet Test Mol Biomark* 2012;16:910–4.
- [754] Van Haeringen NJ. Aging and the lacrimal system. *Br J Ophthalmol* 1997;81: 824–6.
- [755] McGill JJ, Liakos GM, Goulding N, Seal DV. Normal tear protein profiles and age-related changes. *Br J Ophthalmol* 1984;68:316–20.
- [756] Seal DV. The effect of ageing and disease on tear constituents. *Trans Ophthalmol Soc U. K* 1985;104(Pt 4):355–62.
- [757] Hamano T, Mitsunaga S, Kotani S, Hamano T, Hamano K, Hamano H, et al. Tear volume in relation to contact lens wear and age. *CLAO J* 1990;16:57–61.
- [758] Boberg-Ans J. On the corneal sensitivity. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1956;34: 149–62.
- [759] Millodot M. The influence of age on the sensitivity of the cornea. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1977;16:240–2.
- [760] Acosta MC, Alfaro ML, Borrás F, Belmonte C, Gallar J. Influence of age, gender and iris color on mechanical and chemical sensitivity of the cornea and conjunctiva. *Exp Eye Res* 2006;83:932–8.
- [761] Pietsch RL, Pearlman ME. Human tear lysozyme variables. *Arch Ophthalmol* 1973;90:94–6.
- [762] Bonavida B, Sapse AT. Human tear lysozyme. II. Quantitative determination with standard Schirmer strips. *Am J Ophthalmol* 1968;66:70–6.
- [763] Mathers WD, Lane JA, Zimmerman MB. Tear film changes associated with normal aging. *Cornea* 1996;15:229–34.
- [764] Nasu M, Matsubara O, Yamamoto H. Post-mortem prevalence of lymphocytic infiltration of the lacrimal gland: a comparative study in autoimmune and non-autoimmune diseases. *J Pathol* 1984;143:11–5.
- [765] Damato BE, Allan D, Murray SB, Lee WR. Senile atrophy of the human lacrimal gland: the contribution of chronic inflammatory disease. *Br J Ophthalmol* 1984;68:674–80.
- [766] Obata H, Yamamoto S, Horiuchi H, Machinami R. Histopathologic study of human lacrimal gland. Statistical analysis with special reference to aging. *Ophthalmology* 1995;102:678–86.
- [767] Kojima T, Wakamatsu TH, Dogru M, Ogawa Y, Igarashi A, Ibrahim OM, et al. Age-related dysfunction of the lacrimal gland and oxidative stress: evidence from the Cu,Zn-superoxide dismutase-1 (Sod1) knockout mice. *Am J Pathol* 2012;180:1879–96.
- [768] Zoukhri D, Kublin CL. Impaired neurotransmitter release from lacrimal and salivary gland nerves of a murine model of Sjögren's syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:925–32.
- [769] Zoukhri D, Macari E, Kublin CL. A single injection of interleukin-1 induces reversible

- aqueous-tear deficiency, lacrimal gland inflammation, and acinar and ductal cell proliferation. *Exp Eye Res* 2007;84:894–904.
- [770] Uchino Y, Kawakita T, Miyazawa M, Ishii T, Onouchi H, Yasuda K, et al. Oxidative stress induced inflammation initiates functional decline of tear production. *PLoS One* 2012;7. e45805.
- [771] Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984;219:1–14.
- [772] Wakamatsu TH, Dogru M, Tsubota K. Tearful relations: oxidative stress, inflammation and eye diseases. *Arq Bras Oftalmol* 2008;71:72–9.
- [773] Augustin AJ, Spitznas M, Kaviani N, Meller D, Koch FH, Grus F, et al. Oxidative reactions in the tear fluid of patients suffering from dry eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995;233:694–8.
- [774] Giebel J, Woenckhaus C, Fabian M, Tost F. Age-related differential expression of apoptosis-related genes in conjunctival epithelial cells. *Acta Ophthalmol Scand* 2005;83:471–6.
- [775] Zhu W, Hong J, Zheng T, Le Q, Xu J, Sun X. Age-related changes of human conjunctiva on in vivo confocal microscopy. *Br J Ophthalmol* 2010;94: 1448–53.
- [776] Labbe A, Dupas B, Hamard P, Baudouin C. In vivo confocal microscopy study of blebs after filtering surgery. *Ophthalmology* 2005;112:1979.
- [777] Abdel-Khalek LM, Williamson J, Lee WR. Morphological changes in the human conjunctival epithelium. II. In keratoconjunctivitis sicca. *Br J Ophthalmol* 1978;62:800–6.
- [778] Massingale ML, Li X, Vallabhajosyula M, Chen D, Wei Y, Asbell PA. Analysis of inflammatory cytokines in the tears of dry eye patients. *Cornea* 2009;28: 1023–7.
- [779] Bresnitz EA, Strom BL. Epidemiology of sarcoidosis. *Epidemiol Rev* 1983;5: 124–56.
- [780] Baughman RP, Lower EE, du Bois RM. Sarcoidosis *Lancet* 2003;361:1111–8.
- [781] Jones NP. Sarcoidosis. *Curr Opin Ophthalmol* 2002;13:393–6.
- [782] Pasadhika S, Rosenbaum JT. Ocular Sarcoidosis. *Clin Chest Med* 2015;36: 669–83.
- [783] Jones BR, Stevenson CJ. Keratoconjunctivitis sicca due to sarcoidosis. *Br J Ophthalmol* 1957;41:153–60.
- [784] Drosos AA, Constantopoulos SH, Psychos D, Stefanou D, Papadimitriou CS, Moutsopoulos HM. The forgotten cause of sicca complex; sarcoidosis. *J Rheumatol* 1989;16:1548–51.
- [785] Drosos AA, Voulgari PV, Psychos DN, Tsigetaki N, Bai M. Sicca syndrome in patients with sarcoidosis. *Rheumatol Int* 1999;18:177–80.
- [786] Agostini C, Meneghin A, Semenzato G. T-lymphocytes and cytokines in sarcoidosis. *Curr Opin Pulm Med* 2002;8:435–40.
- [787] Barnard J, Newman LS. Sarcoidosis: immunology, rheumatic involvement, and therapeutics. *Curr Opin Rheumatol* 2001;13:84–91.
- [788] Heath P. Ocular lymphomas. *Am J Ophthalmol* 1949;32:1213–23.
- [789] Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, Cohen P, Loury I, Loustaud-Ratti V, et al. Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection. A prospective multicenter study of 321 patients. The GERMIVIC. Groupe d'Etude et de Recherche en Medecine Interne et Maladies Infectieuses sur le Virus de l'Hepatitis C. *Med Baltim* 2000;79:47–56.
- [790] Ramos-Casals M, Munoz S, Zeron PB. Hepatitis C virus and Sjogren's syndrome: trigger or mimic? *Rheum Dis Clin North Am* 2008;34:869–84. vii.
- [791] Ramos-Casals M, Munoz S, Medina F, Jara LJ, Rosas J, Calvo-Alen J, et al. Systemic autoimmune diseases in patients with hepatitis C virus infection: characterization of 1020 cases (The HISPAMEC Registry). *J Rheumatol* 2009;36:1442–8.
- [792] DeCarlo DK, Penner SL, Schamerloh RJ, Fullard RJ. Dry eye among males infected with the human immunodeficiency virus. *J Am Optom Assoc* 1995;66:533–8.
- [793] Chronister CL. Review of external ocular disease associated with aids and HIV infection. *Optom Vis Sci* 1996;73:225–30.
- [794] Itescu S, Brancato LJ, Buxbaum J, Gregersen PK, Rizk CC, Crosson TS, et al. A diffuse infiltrative CD8 lymphocytosis syndrome in human immunodeficiency virus (HIV) infection: a host immune response associated with HLA-DR5. *Ann Intern Med* 1990;112:3–10.
- [795] Durkin SR, Roos D, Higgs B, Casson RJ, Selva D. Ophthalmic and adnexal complications of radiotherapy. *Acta Ophthalmol Scand* 2007;85:240–50.
- [796] Bhandare N, Moiseenko V, Song WY, Morris CG, Bhatti MT, Mendenhall WM. Severe dry eye syndrome after radiotherapy for head-and-neck tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012;82:1501–8.
- [797] Bessell EM, Henk JM, Whitelocke RA, Wright JE. Ocular morbidity after radiotherapy of orbital and conjunctival lymphoma. *Eye (Lond)* 1987;1(Pt 1): 90–6.
- [798] Stafford SL, Kozelsky TF, Garrity JA, Kurtin PJ, Leavitt JA, Martenson JA, et al. Orbital lymphoma: radiotherapy outcome and complications. *Radiother Oncol* 2001;59:139–44.
- [799] Gamus D, Weschler Z, Greenberg S, Romano A. Decreased tear secretion in Chernobyl children: external eye disorders in children subjected to long-term low-dose radiation. *Adv Exp Med Biol* 1994;350:513–6.
- [800] Gazda MJ, Schultheiss TE, Stephens LC, Ang KK, Peters LJ. The relationship between apoptosis and atrophy in the irradiated lacrimal gland. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992;24:693–7.
- [801] Hakim SG, Schroder C, Geerling G, Lauer J, Wedel T, Kosmehl H, et al. Early and late immunohistochemical and ultrastructural changes associated with functional impairment of the lacrimal gland following external beam radiation. *Int J Exp Pathol* 2006;87:65–71.
- [802] Stephens L, Schultheiss TE, Peters LJ, Ang K, Gray KN. Acute radiation injury of ocular adnexa. *Arch Ophthalmol* 1988;106:389–91.
- [803] Stephens LC, Schultheiss TE, Price RE, Ang KK, Peters LJ. Radiation apoptosis of serous acinar cells of salivary and lacrimal glands. *Cancer* 1991;67: 1539–43.
- [804] Radford CF, Rauz S, Williams GP, Saw VP, Dart JK. Incidence, presenting features, and diagnosis of cicatrizing conjunctivitis in the United Kingdom. *Eye (Lond)* 2012;26:1199–208.
- [805] Saboo US, Amparo F, Abud TB, Schaumberg DA, Dana R. Vision-Related Quality of Life in Patients with Ocular Graft-versus-Host Disease. *Ophthalmology* 2015;122:1669–74.
- [806] Shikari H, Antin JH, Dana R. Ocular graft-versus-host disease: a review. *Surv Ophthalmol* 2013;58:233–51.
- [807] Nassar A, Tabbara KF, Aljurf M. Ocular manifestations of graft-versus-host disease. *Saudi J Ophthalmol* 2013;27:215–22.
- [808] Kim SK. Ocular graft vs. host disease. *Ocul Surf* 2005;3:S177–9.
- [809] Mencucci R, Rossi Ferrini C, Bosi A, Volpe R, Guidi S, Salvi G. Ophthalmological aspects in allogeneic bone marrow transplantation: Sjogren-like syndrome in graft-versus-host disease. *Eur J Ophthalmol* 1997;7:13–8.
- [810] Jack MK, Hicks JD. Ocular complications in high-dose chemoradiotherapy and marrow transplantation. *Ann Ophthalmol* 1981;13:709–11.
- [811] Vanathi M, Kashyap S, Khan R, Seth T, Mishra P, Mahapatra M, et al. Ocular surface evaluation in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients. *Eur J Ophthalmol* 2014;24:655–66.
- [812] Alves M, Reinach PS, Paula JS, Vellasco e Cruz AA, Bachellet L, Faustino J, et al. Comparison of diagnostic tests in distinct well-defined conditions related to dry eye disease. *PLoS One* 2014;9. e97921.
- [813] Espana EM, Shah S, Santhiago MR, Singh AD. Graft versus host disease: clinical evaluation, diagnosis and management. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013;251:1257–66.
- [814] Ogawa Y, Okamoto S, Wakui M, Watanabe R, Yamada M, Yoshino M, et al. Dry eye after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Ophthalmol* 1999;83:1125–30.
- [815] Ogawa Y, Morikawa S, Okano H, Mabuchi Y, Suzuki S, Yaguchi T, et al. MHC-compatible bone marrow stromal/stem cells trigger fibrosis by activating host T cells in a scleroderma mouse model. *eLife* 2016;4. e09394.
- [816] Uchino M, Ogawa Y, Uchino Y, Mori T, Okamoto S, Tsubota K. Comparison of stem cell sources in the severity of dry eye after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Ophthalmol* 2012;96:34–7.
- [817] Kamoi M, Ogawa Y, Uchino M, Tatematsu Y, Mori T, Okamoto S, et al. Donor-recipient gender difference affects severity of dry eye after hematopoietic stem cell transplantation. *Eye (Lond)* 2011;25:860–5.
- [818] Jacobs R, Tran U, Chen H, Kassim A, Engelhardt BG, Greer JP, et al. Prevalence and risk factors associated with development of ocular GVHD defined by NIH consensus criteria. *Bone Marrow Transpl* 2012;47:1470–3.
- [819] Na KS, Yoo YS, Mok JW, Lee JW, Joo CK. Incidence and risk factors for ocular GVHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transpl* 2015;50:1459–64.
- [820] Yaguchi S, Ogawa Y, Kawakita T, Shimmura S, Tsubota K. Tissue Renin-Angiotensin System in Lacrimal Gland Fibrosis in a Murine Model of Chronic Graft-Versus-Host Disease. *Cornea* 2015;34(Suppl 11):S142–52.
- [821] Ogawa Y, Shimmura S, Kawakita T, Yoshida S, Kawakami Y, Tsubota K. Epithelial mesenchymal transition in human ocular chronic graft-versus-host disease. *Am J Pathol* 2009;175:2372–81.
- [822] Ogawa Y, Kodama H, Kameyama K, Yamazaki K, Yasuoka H, Okamoto S, et al. Donor fibroblast chimerism in the pathogenic fibrotic lesion of human chronic graft-versus-host disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2005;46: 4519–27.
- [823] Ogawa Y, Yamazaki K, Kuwana M, Mashima Y, Nakamura Y, Ishida S, et al. A significant role of stromal fibroblasts in rapidly progressive dry eye in patients with

- chronic GVHD. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:111–9.
- [824] Jabs DA, Hirst LW, Green WR, Tutschka PJ, Santos GW, Beschoner WE. The eye in bone marrow transplantation. II. Histopathology. *Arch Ophthalmol* 1983;101:585–90.
- [825] Ban Y, Ogawa Y, Ibrahim OM, Tatematsu Y, Kamoi M, Uchino M, et al. Morphologic evaluation of meibomian glands in chronic graft-versus-host disease using in vivo laser confocal microscopy. *Mol Vis* 2011;17:2533–43.
- [826] Tatematsu Y, Ogawa Y, Shimmura S, Dogru M, Yaguchi S, Nagai T, et al. Mucosal microvilli in dry eye patients with chronic GVHD. *Bone Marrow Transpl* 2012;47:416–25.
- [827] Li P, Sun Y, Hariri S, Zhou Z, Inamoto Y, Lee SJ, et al. Anterior segment optical coherence tomography evaluation of ocular graft-versus-host disease: a case study. *Quant Imaging Med Surg* 2015;5:163–70.
- [828] Ogawa Y, Kuwana MK, Mashima Y, Yamada M, Mori T, et al. Periductal area as the primary site for T-cell activation in lacrimal gland chronic graft-versus-host disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:1888–96.
- [829] Yaguchi S, Ogawa Y, Shimmura S, Kawakita T, Hatou S, Satofuka S, et al. Angiotensin II type 1 receptor antagonist attenuates lacrimal gland, lung, and liver fibrosis in a murine model of chronic graft-versus-host disease. *PLoS One* 2013;8. e64724.
- [830] Engel LA, Wittig S, Bock F, Sauerbier L, Scheid C, Holtick U, et al. Meibography and meibomian gland measurements in ocular graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transpl* 2015;50:961–7.
- [831] Rojas B, Cuhna R, Zafirakis P, Ramirez JM, Lizan-garcia M, Zhao T, et al. Cell populations and adhesion molecules expression in conjunctiva before and after bone marrow transplantation. *Exp Eye Res* 2005;81:313–25.
- [832] Robinson MR, Lee SS, Rubin BI, Wayne AS, Pavletic SZ, Bishop MR, et al. Topical corticosteroid therapy for cicatricial conjunctivitis associated with chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transpl* 2004;33:1031–5.
- [833] Westekemper H, Meller S, Citak S, Schulte C, Steuhl KP, Homey B, et al. Differential chemokine expression in chronic GVHD of the conjunctiva. *Bone Marrow Transpl* 2010;45:1340–6.
- [834] Suzuki M, Usui T, Kinoshita N, Yamagami S, Amano S. A case of sterile corneal perforation after bone marrow transplantation. *Eye (Lond)* 2007;21:114–6.
- [835] Inagaki E, Ogawa Y, Matsumoto Y, Kawakita T, Shimmura S, Tsubota K. Four cases of corneal perforation in patients with chronic graft-versus-host disease. *Mol Vis* 2011;17:598–606.
- [836] Ban Y, Ogawa Y, Goto E, Uchino M, Terauchi N, Seki M, et al. Tear function and lipid layer alterations in dry eye patients with chronic graft-vs-host disease. *Eye (Lond)* 2009;23:202–8.
- [837] Berchicci L, Iuliano L, Miserocchi E, Bandello F, Modorati G. Tear osmolarity in ocular graft-versus-host disease. *Cornea* 2014;33:1252–6.
- [838] Riemens A, Stoyanova E, Rothova A, Kuiper J. Cytokines in tear fluid of patients with ocular graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Mol Vis* 2012;18:797–802.
- [839] Jung JW, Han SJ, Song MK, Kim TI, Kim EK, Min YH, et al. Tear Cytokines as Biomarkers for Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transpl* 2015;21:2079–85.
- [840] Sakimoto T, Ohnishi T, Ishimori A. Significance of ectodomain shedding of TNF receptor 1 in ocular surface. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2014;55: 2419–23.
- [841] Hassan AS, Clouthier SG, Ferrara JL, Stepan A, Mian SI, Ahmad AZ, et al. Lacrimal gland involvement in graft-versus-host disease: a murine model. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2692–7.
- [842] Cocho L, Fernandez I, Calonge M, Martinez V, Gonzalez-Garcia MJ, Caballero D, et al. Gene Expression-Based Predictive Models of Graft Versus Host Disease-Associated Dry Eye. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2015;56: 4570–81.
- [843] Sotozono C, Ueta M, Nakatani E, Kitami A, Watanabe H, Sueki H, et al. Predictive Factors Associated With Acute Ocular Involvement in Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis. *Am J Ophthalmol* 2015;160:228–37.
- [844] Saeed H, Mantagos IS, Chodosh J. Complications of Stevens-Johnson syndrome beyond the eye and skin. *Burns* 2016;42:20–7.
- [845] Roujeau JC. The spectrum of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a clinical classification. *J Invest Dermatol* 1994;102:285–305.
- [846] Kohanim S, Palioura S, Saeed HN, Akpek EK, Amescua G, Basu S, et al. Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis—A Comprehensive Review and Guide to Therapy. I. Systemic Disease. *Ocul Surf* 2016;14:2–19.
- [847] Hutchinson JK, Gurwood AS. Iatrogenically induced Stevens-Johnson syndrome after a car accident. *Optometry* 2011;82:9–14.
- [848] Jensen S. A case of Stevens-Johnson's syndrome following antiepileptic medication. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1967;45:576–81.
- [849] Chhipa SA, Masood S, Salarzai Y, Khan QA, Ahmad K, Sajid S. Ocular manifestations, complications and aetiological factors in Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. *J Pak Med Assoc* 2015;65:62–4.
- [850] Ueta M, Sawai H, Sotozono C, Hitomi Y, Kaniwa N, Kim MK, et al. IKZF1, a new susceptibility gene for cold medicine-related Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis with severe mucosal involvement. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:1538–45. e1517.
- [851] Goldberg D, Panigrahi D, Barazi M, Abelson M, Butrus S. A case of rofecoxib-associated Stevens-Johnson syndrome with corneal and conjunctival changes. *Cornea* 2004;23:736–7.
- [852] Lau B, Mutyala D, Dhaliwal D. A case report of doxycycline-induced Stevens-Johnson syndrome. *Cornea* 2011;30:595–7.
- [853] Kumar RS, Tan DT, Yong-Ming P, Francis OT, Sek-Tien H, Anand P, et al. Stevens-Johnson Syndrome and Acetazolamide. *J Glaucoma* 2011 [Epub ahead of print].
- [854] Schulze Schwering M, Kayange P, van Oosterhout JJ, Spitzer MS. Severe eye complications from Stevens-Johnson syndrome in a human immunodeficiency virus-infected patient in Malawi. *Am J Trop Med Hyg* 2013;89:162–4.
- [855] Saka B, Barro-Traore F, Atadokpede FA, Kobangue L, Niamba PA, Adegbi H, et al. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in sub-Saharan Africa: a multicentric study in four countries. *Int J Dermatol* 2013;52:575–9.
- [856] Chung WH, Hung SI, Hong HS, Hsieh MS, Yang LC, Ho HC, et al. Medical genetics: a marker for Stevens-Johnson syndrome. *Nature* 2004;428:486.
- [857] Ueta M, Tokunaga K, Sotozono C, Sawai H, Tamiya G, Inatomi T, et al. HLA-A\*0206 with TLR3 polymorphisms exerts more than additive effects in Stevens-Johnson syndrome with severe ocular surface complications. *PLoS One* 2012;7. e43650.
- [858] Sotozono C, Inagaki K, Fujita A, Koizumi N, Sano Y, Inatomi T, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* infections in the cornea. *Cornea* 2002;21:S94–101.
- [859] Ueta M, Tamiya G, Tokunaga K, Sotozono C, Ueki M, Sawai H, et al. Epistatic interaction between Toll-like receptor 3 (TLR3) and prostaglandin E receptor 3 (PTGER3) genes. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:1413 e11–6 e11.
- [860] Correia O, Delgado L, Ramos JP, Resende C, Torrinha JA. Cutaneous T-cell recruitment in toxic epidermal necrolysis. Further evidence of CD8+ lymphocyte involvement. *Arch Dermatol* 1993;129:466–8.
- [861] Wolkenstein P, Chosidow O, Flechet ML, Robbiola O, Paul M, Dume L, et al. Patch testing in severe cutaneous adverse drug reactions, including Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Contact Dermat* 1996;35: 234–6.
- [862] Bolitho P, Voskoboinik I, Trapani JA, Smyth MJ. Apoptosis induced by the lymphocyte effector molecule perforin. *Curr Opin Immunol* 2007;19: 339–47.
- [863] Tsubota K, Satake Y, Kaido M, Shinozaki N, Shimmura S, Bissen-Miyajima H, et al. Treatment of severe ocular-surface disorders with corneal epithelial stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 1999;340:1697–703.
- [864] Kaido M, Dogru M, Yamada M, Sotozono C, Kinoshita S, Shimazaki J, et al. Functional visual acuity in Stevens-Johnson syndrome. *Am J Ophthalmol* 2006;142:917–22.
- [865] Kang MH, Kim MK, Lee HJ, Lee HI, Wee WR, Lee JH. Interleukin-17 in various ocular surface inflammatory diseases. *J Korean Med Sci* 2011;26:938–44.
- [866] Ohashi Y, Ishida R, Kojima T, Goto E, Matsumoto Y, Watanabe K, et al. Abnormal protein profiles in tears with dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2003;136:291–9.
- [867] Lopez-Garcia JS, Rivas Jara L, Garcia-Lozano CI, Conesa E, de Juan IE, Murube del Castillo J. Ocular features and histopathologic changes during follow-up of toxic epidermal necrolysis. *Ophthalmology* 2011;118:265–71.
- [868] Tanioka H, Kawasaki S, Sotozono C, Nakamura T, Inatomi T, Kinoshita S. The relationship between preoperative clinical scores and immunohistological evaluation of surgically resected tissues in chronic severe ocular surface diseases. *Jpn J Ophthalmol* 2010;54:66–73.
- [869] Nakamura T, Nishida K, Dota A, Matsuki M, Yamanishi K, Kinoshita S. Elevated expression of transglutaminase 1 and keratinization-related proteins in conjunctiva in severe ocular surface disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:549–56.
- [870] Nishida K, Yamanishi K, Yamada K, Dota A, Kawasaki S, Quantock AJ, et al. Epithelial hyperproliferation and transglutaminase 1 gene expression in Stevens-Johnson syndrome conjunctiva. *Am J Pathol* 1999;154:331–6.
- [871] Lund AS, Heegaard S, Prause JU, Toft PB, Skov L. Expression of filaggrin in normal and keratinized conjunctiva. *Open Ophthalmol J* 2012;6:137–40.
- [872] Woo SBGM. Ulcerative, vesicular, and bullous lesions. In: Greenberg msgms JA, editor. *Burket's Oral Medicine: Diagnosis and Treatment*. Hamilton: B.C. Decker Inc; 2008.
- [873] Xu HH, Werth VP, Parisi E, Sollecito TP. Mucous membrane pemphigoid. *Dent Clin North Am* 2013;57:611–30.

- [874] Chan LS. Mucous membrane pemphigoid. *Clin Dermatol* 2001;19:703–11.
- [875] Thorne JE, Anhalt GJ, Jabs DA. Mucous membrane pemphigoid and pseudo-pemphigoid. *Ophthalmology* 2004;111:45–52.
- [876] Bernard P, Vaillant L, Labeille B, Bedane C, Arbeille B, Denoeux JP, et al. Incidence and distribution of subepidermal autoimmune bullous skin diseases in three French regions. *Bullous Diseases French Study Group. Arch Dermatol* 1995;131:48–52.
- [877] Bertram F, Brocker EB, Zillikens D, Schmidt E. Prospective analysis of the incidence of autoimmune bullous disorders in Lower Franconia, Germany. *J Dtsch Dermatol Ges* 2009;7:434–40.
- [878] Mondino BJ, Brown SI, Rabin BS. HLA antigens in ocular cicatricial pemphigoid. *Br J Ophthalmol* 1978;62:265–7.
- [879] Ahmed AR, Foster S, Zaltas M, Notani G, Awdeh Z, Alper CA, et al. Association of DQw7 (DQB1\*0301) with ocular cicatricial pemphigoid. *Proc Natl Acad Sci U. S. A* 1991;88:11579–82.
- [880] Olsen KE, Holland EJ. The association between ocular cicatricial pemphigoid and rheumatoid arthritis. *Cornea* 1998;17:504–7.
- [881] Miserocchi E, Waheed NK, Baltatzis S, Foster CS. Chronic cicatrizing conjunctivitis in a patient with ocular cicatricial pemphigoid and fatal Wegener granulomatosis. *Am J Ophthalmol* 2001;132:923–4.
- [882] Hatton MP, Raizman M, Foster CS. Exacerbation of undiagnosed ocular cicatricial pemphigoid after repair of involutional entropion. *Ophthalm Plast Reconstr Surg* 2008;24:165–6.
- [883] Lazarova Z, Yee C, Darling T, Briggaman RA, Yancey KB. Passive transfer of anti-laminin 5 antibodies induces subepidermal blisters in neonatal mice. *J Clin Invest* 1996;98:1509–18.
- [884] Bernauer W, Wright P, Dart JK, Leonard JN, Lightman S. Cytokines in the conjunctiva of acute and chronic mucous membrane pemphigoid: an immunohistochemical analysis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1993;231:563–70.
- [885] Mondino BJ, Rao H, Brown SI. T and B lymphocytes in ocular cicatricial pemphigoid. *Am J Ophthalmol* 1981;92:536–42.
- [886] Bodaghi B, Bertin V, Paques M, Toublanc M, Dezutter-Dambuyant C, Hoang-Xuan T. Limbal conjunctival Langerhans cell density in ocular cicatricial pemphigoid: an indirect immunofluorescence study on Dispass-split conjunctiva. *Curr Eye Res* 1997;16:820–4.
- [887] Lambiase A, Micera A, Mantelli F, Moretti C, Di Zazzo A, Perrella E, et al. T-helper 17 lymphocytes in ocular cicatricial pemphigoid. *Mol Vis* 2009;15: 1449–55.
- [888] Tesavibul N, Dorfman D, Sangwan VS, Christen W, Panayotis Z, Rojas B, et al. Costimulatory molecules in ocular cicatricial pemphigoid. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:982–8.
- [889] Kiang E, Tesavibul N, Yee R, Kellaway J, Przepiorka D. The use of topical cyclosporin A in ocular graft-versus-host-disease. *Bone Marrow Transpl* 1998;22:147–51.
- [890] Hoang-Xuan T, Foster CS, Raizman MB, Greenwood B. Mast cells in conjunctiva affected by cicatricial pemphigoid. *Ophthalmology* 1989;96: 1110–4.
- [891] Saito T, Nishida K, Sugiyama H, Yamato M, Maeda N, Okano T, et al. Abnormal keratocytes and stromal inflammation in chronic phase of severe ocular surface diseases with stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 2008;92:404–10.
- [892] Razzaque MS, Ahmed BS, Foster CS, Ahmed AR. Effects of IL-4 on conjunctival fibroblasts: possible role in ocular cicatricial pemphigoid. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:3417–23.
- [893] Razzaque MS, Foster CS, Ahmed AR. Role of enhanced expression of m-CSF in conjunctiva affected by cicatricial pemphigoid. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:2977–83.
- [894] Razzaque MS, Foster CS, Ahmed AR. Role of collagen-binding heat shock protein 47 and transforming growth factor-beta1 in conjunctival scarring in ocular cicatricial pemphigoid. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:1616–21.
- [895] Razzaque MS, Foster CS, Ahmed AR. Role of connective tissue growth factor in the pathogenesis of conjunctival scarring in ocular cicatricial pemphigoid. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:1998–2003.
- [896] Chan MF, Sack R, Quigley DA, Sathes S, Vijmasi T, Li S, et al. Membrane array analysis of tear proteins in ocular cicatricial pemphigoid. *Optom Vis Sci* 2011;88:1005–9.
- [897] Letko E, Papaliadis DN, Papaliadis GN, Daoud YJ, Ahmed AR, Foster CS. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a review of the literature. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005;94:419–36. quiz 436–448, 456.
- [898] Tyagi S, Bhol K, Natarajan K, Livir-Rallatos C, Foster CS, Ahmed AR. Ocular cicatricial pemphigoid antigen: partial sequence and biochemical characterization. *Proc Natl Acad Sci U. S. A* 1996;93:14714–9.
- [899] Ahmed M, Zein G, Khawaja F, Foster CS. Ocular cicatricial pemphigoid: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Prog Retin Eye Res* 2004;23:579–92.
- [900] Merchant S, Weinstein M. Pemphigus vulgaris: the eyes have it. *Pediatrics* 2003;112:183–5.
- [901] Amagai M. Autoimmunity against desmosomal cadherins in pemphigus. *J Dermatol Sci* 1999;20:92–102.
- [902] Scully C, Challacombe SJ. Pemphigus vulgaris: update on etiopathogenesis, oral manifestations, and management. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13: 397–408.
- [903] Hodak E, Kremer I, David M, Hazaz B, Rothen A, Feuerman P, et al. Conjunctival involvement in pemphigus vulgaris: a clinical, histopathological and immunofluorescence study. *Br J Dermatol* 1990;123:615–20.
- [904] Guzey M, Ozardali I, Basar E, Aslan G, Satici A, Karadede S. A survey of trachoma: the histopathology and the mechanism of progressive cicatrization of eyelid tissues. *Ophthalmologica* 2000;214:277–84.
- [905] al-Rajhi AA, Hidayat A, Nasr A, al-Faran M. The histopathology and the mechanism of entropion in patients with trachoma. *Ophthalmology* 1993;100:1293–6.
- [906] Hu VH, Holland MJ, Cree IA, Pullin J, Weiss HA, Massae P, et al. In vivo confocal microscopy and histopathology of the conjunctiva in trachomatous scarring and normal tissue: a systematic comparison. *Br J Ophthalmol* 2013;97:1333–7.
- [907] White ML, Chodosh J, Jang J, Dohlman C. Incidence of Stevens-Johnson Syndrome and Chemical Burns to the Eye. *Cornea* 2015;34:1527–33.
- [908] Roper-Hall MJ. A retrospective study of eye injuries. *Ophthalmologica* 1969;1-3:12–27.
- [909] Wagoner MD. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. *Surv Ophthalmol* 1997;41:275–313.
- [910] Dua HS, King AJ, Joseph A. A new classification of ocular surface burns. *Br J Ophthalmol* 2001;85:1379–83.
- [911] Bagley DM, Casterton PL, Dressler WE, Edelhauser HF, Kruszewski FH, McCulley JP, et al. Proposed new classification scheme for chemical injury to the human eye. *Regul Toxicol Pharmacol* 2006;45:206–13.
- [912] Gupta N, Kalaivani M, Tandon R. Comparison of prognostic value of Roper Hall and Dua classification systems in acute ocular burns. *Br J Ophthalmol* 2011;95:194–8.
- [913] Volkov VV, Brzheskii VV, Gladkikh AF. The diagnosis and treatment of the dry eye syndrome of burn etiology. *Oftalmol Zh* 1990;328–30.
- [914] Beuerman RW, Schimmelpennig B. Sensory denervation of the rabbit cornea affects epithelial properties. *Exp Neurol* 1980;69:196–201.
- [915] Blanco-Mezquita T, Martinez-Garcia C, Proenca R, Zieske JD, Bonini S, Lambiase A, et al. Nerve growth factor promotes corneal epithelial migration by enhancing expression of matrix metalloprotease-9. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:3880–90.
- [916] Shaheen BS, Bakir M, Jain S. Corneal nerves in health and disease. *Surv Ophthalmol* 2014;59:263–85.
- [917] Patel M, Fraunfelder FW. Toxicity of topical ophthalmic anesthetics. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2013;9:983–8.
- [918] Chao C, Golebiowski B, Stapleton F. The role of corneal innervation in LASIK-induced neuropathic dry eye. *Ocul Surf* 2014;12:32–45.
- [919] Benitez-del-Castillo JM, del Rio T, Iradier T, Hernandez JL, Castillo A, Garcia-Sanchez J. Decrease in tear secretion and corneal sensitivity after laser in situ keratomileusis. *Cornea* 2001;20:30–2.
- [920] Battat L, Macri A, Dursun D, Pflugfelder SC. Effects of laser in situ keratomileusis on tear production, clearance, and the ocular surface. *Ophthalmology* 2001;108:1230–5.
- [921] Muller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res* 2003;76:521–42.
- [922] Nettune GR, Pflugfelder SC. Post-LASIK tear dysfunction and dysesthesia. *Ocul Surf* 2010;8:135–45.
- [923] De Paiva CS, Chen Z, Koch DD, Hamill MB, Manuel FK, Hassan SS, et al. The incidence and risk factors for developing dry eye after myopic LASIK. *Am J Ophthalmol* 2006;141:438–45.
- [924] Raoof D, Pineda R. Dry eye after laser in-situ keratomileusis. *Semin Ophthalmol* 2014;29:358–62.
- [925] Lee JB, Ryu CH, Kim J, Kim EK, Kim HB. Comparison of tear secretion and tear film instability after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2000;26:1326–31.
- [926] Wilson SE. Laser in situ keratomileusis-induced (presumed) neurotrophic epitheliopathy. *Ophthalmology* 2001;108:1082–7.
- [927] Bonini S, Rama P, Olzi D, Lambiase A. Neurotrophic keratitis. *Eye (Lond)* 2003;17:989–95.
- [928] Harding SP, Lipton JR, Wells JC. Natural history of herpes zoster ophthalmicus:

- predictors of postherpetic neuralgia and ocular involvement. *Br J Ophthalmol* 1987;71:353–8.
- [929] Ljubimov AV, Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res* 2015;49:17–45.
- [930] Chikama T, Fukuda K, Morishige N, Nishida T. Treatment of neurotrophic keratopathy with substance-P-derived peptide (FGLM) and insulin-like growth factor I. *Lancet* 1998;351:1783–4.
- [931] Lambiase A, Rama P, Bonini S, Caprioglio G, Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for corneal neurotrophic ulcers. *N Engl J Med* 1998;338: 1174–80.
- [932] Bonini S, Lambiase A, Rama P, Caprioglio G, Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for neurotrophic keratitis. *Ophthalmology* 2000;107: 1347–51. discussion 1351–1342.
- [933] Nichols KK, Redfern RL, Jacob JT, Nelson JD, Fonn D, Forstot SL, et al. The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: report of the definition and classification subcommittee. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2013;54: TFOS14–19.
- [934] Tamura M, Murata N, Hayashi M, Regis J. Injury of the lacrimal component of the nervus intermedius function after radiosurgery versus microsurgery. *Neurochirurgia* 2004;50:338–44.
- [935] Ayberk G, Ozveren MF, Uzum N, Tosun O, Akcay EK. Cellular schwannoma of the greater superficial petrosal nerve presenting with abducens nerve palsy and xerophthalmia: case report. *Neurosurgery* 2008;63:E813–4. discussion E4.
- [936] Ichimura S, Yoshida K, Sutiono AB, Horiguchi T, Sasaki H, Kawase T. Greater petrosal nerve schwannomas-analysis of four cases and review of the literature. *Neurosurg Rev* 2010;33:477–82.
- [937] Wong J, Lan W, Ong LM, Tong L. Non-hormonal systemic medications and dry eye. *Ocul Surf* 2011;9:212–26.
- [938] Fraunfelder FT, Sciubba JJ, Mathers WD. The role of medications in causing dry eye. *J Ophthalmol* 2012;2012:285851.
- [939] Gu Q, Dillon CF, Burt VL. Prescription drug use continues to increase: U.S. prescription drug data for 2007–2008. In: *Statistics NCHH, editor. NCHS data brief, no 42. Hyattsville, MD; 2010.*
- [940] Moss SE, Klein R, Klein BE. Long-term incidence of dry eye in an older population. *Optom Vis Sci* 2008;85:668–74.
- [941] Gold-von Simson G, Axelrod FB. Familial dysautonomia: update and recent advances. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2006;36:218–37.
- [942] Grandas F, Elston J, Quinn N, Marsden CD. Blepharospasm: a review of 264 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988;51:767–72.
- [943] Lu R, Huang R, Li K, Zhang X, Yang H, Quan Y, et al. The influence of benign essential blepharospasm on dry eye disease and ocular inflammation. *Am J Ophthalmol* 2014;157:591–7. e591–592.
- [944] Park DI, Shin HM, Lee SY, Lew H. Tear production and drainage after botulinum toxin A injection in patients with essential blepharospasm. *Acta Ophthalmol* 2013;91:e108–112.
- [945] Tsubota K, Fujihara T, Kaido M, Mori A, Mimura M, Kato M. Dry eye and Meige's syndrome. *Br J Ophthalmol* 1997;81:439–42.
- [946] Frueh BR, Musch DC, Bersani TA. Effects of eyelid protractor excision for the treatment of benign essential blepharospasm. *Am J Ophthalmol* 1992;113: 681–6.
- [947] Arthurs B, Flanders M, Codere F, Gauthier S, Dresner S, Stone L. Treatment of blepharospasm with medication, surgery and type A botulinum toxin. *Can J Ophthalmol* 1987;22:24–8.
- [948] Gillum WN, Anderson RL. Blepharospasm surgery. An anatomical approach. *Arch Ophthalmol* 1981;99:1056–62.
- [949] Silveira-Moriyama L, Goncalves LR, Chien HF, Barbosa ER. Botulinum toxin A in the treatment of blepharospasm: a 10-year experience. *Arq Neuro-psiquiatr* 2005;63:221–4.
- [950] Goebels M. Tear secretion and tear film function in insulin dependent diabetics. *Br J Ophthalmol* 2000;84:19–21.
- [951] Lv S, Cheng J, Sun A, Li J, Wang W, Guan G, et al. Mesenchymal stem cells transplantation ameliorates glomerular injury in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats via inhibiting oxidative stress. *Diabetes Res Clin Pract* 2014;104:143–54.
- [952] Dogru M, Katakami C, Inoue M. Tear function and ocular surface changes in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Ophthalmology* 2001;108:586–92.
- [953] Eagle Jr RC, Font RL, Fine BS. The basement membrane exfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1979;97:510–5.
- [954] Roh YB, Ishibashi T, Ito N, Inomata H. Alteration of microfibrils in the conjunctiva of patients with exfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1987;105: 978–82.
- [955] Kozobolis VP, Detorakis ET, Tsopakis GM, Pallikaris IG. Evaluation of tear secretion and tear film stability in pseudoexfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Scand* 1999;77:406–9.
- [956] Kozobolis VP, Christodoulakis EV, Naoumidis II, Siganos CS, Detorakis ET, Pallikaris LG. Study of conjunctival goblet cell morphology and tear film stability in pseudoexfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;42:478–83.
- [957] Arita R, Itoh K, Inoue K, Kuchiba A, Yamaguchi T, Amano S. Contact lens wear is associated with decrease of meibomian glands. *Ophthalmology* 2009;116: 379–84.
- [958] Den S, Shimizu K, Ikeda T, Tsubota K, Shimamura S, Shimazaki J. Association between meibomian gland changes and aging, sex, or tear function. *Cornea* 2006;25:651–5.
- [959] Arita R, Itoh K, Inoue K, Amano S. Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. *Ophthalmology* 2008;115:911–5.
- [960] Nien CJ, Massei S, Lin G, Nabavi C, Tao J, Brown DJ, et al. Effects of age and dysfunction on human meibomian glands. *Arch Ophthalmol* 2011;129: 462–9.
- [961] Sullivan DA, Sullivan BD, Ullman MD, Rocha EM, Krenzer KL, Cermak JM, et al. Androgen influence on the meibomian gland. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3732–42.
- [962] Worda C, Nepp J, Huber JC, Sator MO. Treatment of keratoconjunctivitis sicca with topical androgen. *Maturitas* 2001;37:209–12.
- [963] Henriquez AS, Korb DR. Meibomian glands and contact lens wear. *Br J Ophthalmol* 1981;65:108–11.
- [964] Korb DR, Henriquez AS. Meibomian gland dysfunction and contact lens intolerance. *J Am Optom Assoc* 1980;51:243–51.
- [965] Mathers WD. Ocular evaporation in meibomian gland dysfunction and dry eye. *Ophthalmology* 1993;100:347–51.
- [966] McCulley JP, Dougherty JM, Deneau DG. Classification of chronic blepharitis. *Ophthalmology* 1982;89:1173–80.
- [967] Jung JW, Park SY, Kim JS, Kim EK, Seo KY, Kim TI. Analysis of Factors Associated With the Tear Film Lipid Layer Thickness in Normal Eyes and Patients With Dry Eye Syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:4076–83.
- [968] Bron AJ, Tiffany JM, Gouveia SM, Yokoi N, Voon LW. Functional aspects of the tear film lipid layer. *Exp Eye Res* 2004;78:347–60.
- [969] Heiligenhaus A, Koch JM, Kemper D, Kruse FE, Waubke TN. [Therapy of dry eye disorders]. *Klin Monbl Augenheilkd* 1994;204:162–8.
- [970] Nichols KK, Foulks GN, Bron AJ, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: executive summary. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1922–9.
- [971] Chhadva P, McClellan AL, Alabiad CR, Feuer WJ, Batawi H, Galor A. Impact of Eyelid Laxity on Symptoms and Signs of Dry Eye Disease. *Cornea* 2016;35: 531–5.
- [972] McCulley JP, Sciallis GF. Meibomian keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 1977;84:788–93.
- [973] Jester JV, Nicolaidis N, Smith RE. Meibomian gland dysfunction. I. Keratin protein expression in normal human and rabbit meibomian glands. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:927–35.
- [974] Ong BL, Hodson SA, Wigham T, Miller F, Larke JR. Evidence for keratin proteins in normal and abnormal human meibomian fluids. *Curr Eye Res* 1991;10:1113–9.
- [975] Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, et al. Human meibum lipid conformation and thermodynamic changes with meibomian-gland dysfunction. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:3805–17.
- [976] Straatsma BR. Cystic degeneration of the meibomian glands. *AMA Arch Ophthalmol* 1959;61:918–27.
- [977] Olami Y, Zajicek G, Cogan M, Gnessin H, Pe'er J. Turnover and migration of meibomian gland cells in rats' eyelids. *Ophthalmic Res* 2001;33:170–5.
- [978] Pult H, Riede-Pult BH, Nichols JJ. Relation between upper and lower lids' meibomian gland morphology, tear film, and dry eye. *Optom Vis Sci* 2012;89:E310–5.
- [979] Yin Y, Gong L. Uneven Meibomian Gland Dropout Over the Tarsal Plate and its Correlation With Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* 2015;34: 1200–5.
- [980] Finis D, Ackermann P, Pischel N, et al. Evaluation of Meibomian Gland Dysfunction and Local Distribution of Meibomian Gland Atrophy by Non-contact Infrared Meibography. *Curr Eye Res* 2015;40:982–9.
- [981] Ban Y, Shimazaki-Den S, Tsubota K, Shimazaki J. Morphological evaluation of meibomian glands using noncontact infrared meibography. *Ocul Surf* 2013;11:47–53.
- [982] Eom Y, Lee JS, Kang SY, Kim HM, Song JS. Correlation between quantitative measurements of tear film lipid layer thickness and meibomian gland loss in patients with obstructive meibomian gland dysfunction and normal controls. *Am J Ophthalmol* 2013;155:1104–10. e1102.
- [983] Ji YW, Lee J, Lee H, Seo KY, Kim EK, Kim TI. Automated Measurement of Tear Film Dynamics and Lipid Layer Thickness for Assessment of Non-Sjogren Dry Eye

- Syndrome With Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* 2017;36: 176–82.
- [984] Bron AJ, Benjamin L, Snibson GR. Meibomian gland disease. Classification and grading of lid changes. *Eye (Lond)* 1991;5(Pt 4):395–411.
- [985] Matsumoto Y, Shigeno Y, Sato EA, et al. The evaluation of the treatment response in obstructive meibomian gland disease by in vivo laser confocal microscopy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;247:821–9.
- [986] Mathers WD, Shields WJ, Sachdev MS, Petroll WM, Jester JV. Meibomian gland dysfunction in chronic blepharitis. *Cornea* 1991;10:277–85.
- [987] Arita R, Itoh K, Maeda S, Maeda K, Tomidokoro A, Amano S. Efficacy of diagnostic criteria for the differential diagnosis between obstructive meibomian gland dysfunction and aqueous deficiency dry eye. *Jpn J Ophthalmol* 2010;54:387–91.
- [988] Yokoi N, Mossa F, Tiffany JM, Bron AJ. Assessment of meibomian gland function in dry eye using meibometry. *Arch Ophthalmol* 1999;117:723–9.
- [989] Yokoi N, Takehisa Y, Kinoshita S. Correlation of tear lipid layer interference patterns with the diagnosis and severity of dry eye. *Am J Ophthalmol* 1996;122:818–24.
- [990] Mathers WD, Daley TE. Tear flow and evaporation in patients with and without dry eye. *Ophthalmology* 1996;103:664–9.
- [991] Tomlinson A, Khanal S. Assessment of tear film dynamics: quantification approach. *Ocul Surf* 2005;3:81–95.
- [992] Lienert JP, Tarko L, Uchino M, Christen WG, Schaumberg DA. Long-term Natural History of Dry Eye Disease from the Patient's Perspective. *Ophthalmology* 2016;123:425–33.
- [993] Korb DR, Blackie CA. Meibomian gland diagnostic expressibility: correlation with dry eye symptoms and gland location. *Cornea* 2008;27:1142–7.
- [994] Blackie CA, Solomon JD, Greiner JV, Holmes M, Korb DR. Inner eyelid surface temperature as a function of warm compress methodology. *Optom Vis Sci* 2008;85:675–83.
- [995] Franck C. Fatty layer of the precorneal film in the 'office eye syndrome'. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1991;69:737–43.
- [996] Franck C, Palmvang IB. Break-up time and lissamine green epithelial damage in 'office eye syndrome'. Six-month and one-year follow-up investigations. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1993;71:62–4.
- [997] Fenga C, Aragona P, Di Nola C, Spinella R. Comparison of ocular surface disease index and tear osmolality as markers of ocular surface dysfunction in video terminal display workers. *Am J Ophthalmol* 2014;158:41–8. e42.
- [998] Schlote T, Kadner G, Freudenthaler N. Marked reduction and distinct patterns of eye blinking in patients with moderately dry eyes during video display terminal use. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;242:306–12.
- [999] Tung CI, Perin AF, Gumus K, Pflugfelder SC. Tear meniscus dimensions in tear dysfunction and their correlation with clinical parameters. *Am J Ophthalmol* 2014;157:301–10. e301.
- [1000] Yokoi N, Komuro A. Non-invasive methods of assessing the tear film. *Exp Eye Res* 2004;78:399–407.
- [1001] Ibrahim OM, Dogru M, Takano Y, et al. Application of visante optical coherence tomography tear meniscus height measurement in the diagnosis of dry eye disease. *Ophthalmology* 2010;117:1923–9.
- [1002] Arita R, Morishige N, Shirakawa R, Sato Y, Amano S. Effects of Eyelid Warming Devices on Tear Film Parameters in Normal Subjects and Patients with Meibomian Gland Dysfunction. *Ocul Surf* 2015;13:321–30.
- [1003] Fu YA. Ocular manifestation of polychlorinated biphenyls intoxication. *Am J Ind Med* 1984;5:127–32.
- [1004] McCulley JP, Shine WE. Meibomian secretions in chronic blepharitis. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:319–26.
- [1005] Auw-Haedrich C, Reinhard T. Chronic blepharitis. Pathogenesis, clinical features, and therapy. *Ophthalmologie* 2007;104:817–26. quiz 827–818.
- [1006] Kaercher T, Brewitt H. Blepharitis. *Ophthalmologie* 2004;101:1135–47. quiz 1148.
- [1007] McCulley JP, Dougherty JM. Bacterial aspects of chronic blepharitis. *Trans Ophthalmol Soc U. K* 1986;105(Pt 3):314–8.
- [1008] Dougherty JM, McCulley JP. Analysis of the free fatty acid component of meibomian secretions in chronic blepharitis. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1986;27:52–6.
- [1009] Bron AJ, Tiffany JM. The meibomian glands and tear film lipids. Structure, function, and control. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:281–95.
- [1010] Watters GA, Turnbull PR, Swift S, Petty A, Craig JP. Ocular surface microbiome in meibomian gland dysfunction in Auckland, New Zealand. *Clin Exp Ophthalmol* 2016;45:105–11.
- [1011] Suzuki T, Teramukai S, Kinoshita S. Meibomian glands and ocular surface inflammation. *Ocul Surf* 2015;13:133–49.
- [1012] Czepita D, Kuzna-Grygiel W, Czepita M, Grobelny A. Demodex folliculorum and Demodex brevis as a cause of chronic marginal blepharitis. *Ann Acad Med Stetin* 2007;53:63–7. discussion 67.
- [1013] Lacey N, Kavanagh K, Tseng SC. Under the lash: Demodex mites in human diseases. *Biochem (Lond)* 2009;31:2–6.
- [1014] Ng A, Bitton E, et al. Demodex infestation of the eyelash. *Contact Lens Spectr* 2014;29:36–41.
- [1015] Gao YY, Di Pascuale MA, Li W, et al. High prevalence of Demodex in eyelashes with cylindrical dandruff. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2005;46: 3089–94.
- [1016] Randon M, Liang H, El Hamdaoui M, et al. In vivo confocal microscopy as a novel and reliable tool for the diagnosis of Demodex eyelid infestation. *Br J Ophthalmol* 2015;99:336–41.
- [1017] Geerling G, Tauber J, Baudouin C, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on management and treatment of meibomian gland dysfunction. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:2050–64.
- [1018] Cheng AM, Sheha H, Tseng SC. Recent advances on ocular Demodex infestation. *Curr Opin Ophthalmol* 2015;26:295–300.
- [1019] Bron AJ, Mengher LS. Congenital deficiency of meibomian glands. *Br J Ophthalmol* 1987;71:312–4.
- [1020] Erickson RP, Dagenais SL, Caulder MS, et al. Clinical heterogeneity in lymphoedema-distichiasis with FOXC2 truncating mutations. *J Med Genet* 2001;38:761–6.
- [1021] Narayanan S, Miller WL, McDermott AM. Expression of human beta-defensins in conjunctival epithelium: relevance to dry eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:3795–801.
- [1022] Di Iorio E, Kaye SB, Ponzin D, et al. Limbal stem cell deficiency and ocular phenotype in ectodactyl-ectodermal dysplasia-clefting syndrome caused by p63 mutations. *Ophthalmology* 2012;119:74–83.
- [1023] Lin AN, Murphy F, Brodie SE, Carter DM. Review of ophthalmic findings in 204 patients with epidermolysis bullosa. *Am J Ophthalmol* 1994;118: 384–90.
- [1024] Fine JD, Eady RA, Bauer EA, et al. The classification of inherited epidermolysis bullosa (EB): Report of the Third International Consensus Meeting on Diagnosis and Classification of EB. *J Am Acad Dermatol* 2008;58:931–50.
- [1025] McDonnell PJ, Schofield OM, Spalton DJ, Eady RA. Eye involvement in junctional epidermolysis bullosa. *Arch Ophthalmol* 1989;107:1635–7.
- [1026] McDonnell PJ, Schofield OM, Spalton DJ, Mayou BJ, Eady RA. The eye in dystrophic epidermolysis bullosa: clinical and immunopathological findings. *Eye (Lond)* 1989;3(Pt 1):79–83.
- [1027] McDonnell PJ, Spalton DJ. The ocular signs and complications of epidermolysis bullosa. *J R Soc Med* 1988;81:576–8.
- [1028] Zierhut M, Thiel HJ, Weidle EG, Steuhl KP, Sonnichsen K, Schaumberg-Lever G. Ocular involvement in epidermolysis bullosa acquisita. *Arch Ophthalmol* 1989;107:398–401.
- [1029] Tong L, Hodgkins PR, Denyer J, et al. The eye in epidermolysis bullosa. *Br J Ophthalmol* 1999;83:323–6.
- [1030] Jones SM, Smith KA, Jain M, Mellerio JE, Martinez A, Nischal KK. The Frequency of Signs of Meibomian Gland Dysfunction in Children with Epidermolysis Bullosa. *Ophthalmology* 2016;123:991–9.
- [1031] Kiritsi D, Has C, Bruckner-Tuderman L. Laminin 332 in junctional epidermolysis bullosa. *Cell Adh Migr* 2013;7:135–41.
- [1032] Adamis AP, Schein OD, Kenyon KR. Anterior corneal disease of epidermolysis bullosa simplex. *Arch Ophthalmol* 1993;111:499–502.
- [1033] Gans LA. Eye lesions of epidermolysis bullosa. Clinical features, management, and prognosis. *Arch Dermatol* 1988;124:762–4.
- [1034] Fine JD, Johnson LB, Weiner M, et al. Eye involvement in inherited epidermolysis bullosa: experience of the National Epidermolysis Bullosa Registry. *Am J Ophthalmol* 2004;138:254–62.
- [1035] Fong K, Takeichi T, Liu L, et al. Ichthyosis follicularis, atrichia, and photophobia syndrome associated with a new mutation in MBTP52. *Clin Exp Dermatol* 2015;40:529–32.
- [1036] Eramo LR, Esterly NB, Zieserl EJ, Stock EL, Herrmann J. Ichthyosis follicularis with alopecia and photophobia. *Arch Dermatol* 1985;121:1167–74.
- [1037] Keyvani K, Paulus W, Traupe H, et al. Ichthyosis follicularis, alopecia, and photophobia (IFAP) syndrome: clinical and neuropathological observations in a 33-year-old man. *Am J Med Genet* 1998;78:371–7.
- [1038] Cursiefen C, Schlotzer-Schrehardt U, Holbach LM, Pfeiffer RA, Naumann GO. Ocular findings in ichthyosis follicularis, atrichia, and photophobia syndrome. *Arch Ophthalmol* 1999;117:681–4.
- [1039] Macleod J. Three cases of "ichthyosis follicularis" associated with baldness. *Br J Dermatol* 1909;21:165–89.
- [1040] Oeffner F, Martinez F, Schaffer J, et al. Intronic mutations affecting splicing of MBTP52



- cause ichthyosis follicularis, alopecia and photophobia (IFAP) syndrome. *Exp Dermatol* 2011;20:447–9.
- [1041] Oeffner F, Fischer G, Happel R, et al. IFAP syndrome is caused by deficiency in MBTP52, an intramembrane zinc metalloprotease essential for cholesterol homeostasis and ER stress response. *Am J Hum Genet* 2009;84: 459–67.
- [1042] Aten E, Brasz LC, Bornholdt D, et al. Keratosis Follicularis Spinulosa Deca- Ivans is caused by mutations in MBTP52. *Hum Mutat* 2010;31:1125–33.
- [1043] Kymionis GD, Klados NE, Kontadakis GA, Mikropoulos DG. Treatment of superior limbic keratoconjunctivitis with topical tacrolimus 0.03% ointment. *Cornea* 2013;32:1499–501.
- [1044] Kymionis GD, Plaka A, Kontadakis GA, Astyrakakis N. Treatment of corneal dellen with a large diameter soft contact lens. *Cont Lens Anterior Eye* 2011;34:290–2.
- [1045] Rees TD, Jelks GW. Blepharoplasty and the dry eye syndrome: guidelines for surgery? *Plast Reconstr Surg* 1981;68:249–52.
- [1046] Shah CT, Blount AL, Nguyen EV, Hassan AS. Cranial nerve seven palsy and its influence on meibomian gland function. *Ophthal Plast Reconstr Surg* 2012;28:166–8.
- [1047] Takahashi Y, Kakizaki H. Meibomian Gland Dysfunction in Cranial Nerve VII Palsy. *Ophthal Plast Reconstr Surg* 2015;31:179–81.
- [1048] Wan T, Jin X, Lin L, Xu Y, Zhao Y. Incomplete Blinking May Attribute to the Development of Meibomian Gland Dysfunction. *Curr Eye Res* 2016;41: 179–85.
- [1049] Gilbard JP, Farris RL. Ocular surface drying and tear film osmolarity in thyroid eye disease. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1983;61:108–16.
- [1050] Kim YS, Kwak AY, Lee SY, Yoon JS, Jang SY. Meibomian gland dysfunction in Graves' orbitopathy. *Can J Ophthalmol* 2015;50:278–82.
- [1051] Jang SY, Lee SY, Yoon JS. Meibomian gland dysfunction in longstanding prosthetic eye wearers. *Br J Ophthalmol* 2013;97:398–402.
- [1052] Chang M, Lee H, Park MS, Baek S. The clinical characteristics and new classification of sticky eyelid syndrome in East Asian patients. *Acta Ophthalmol* 2014;92:e667–670.
- [1053] Reddy VC, Patel SV, Hodge DO, Leavitt JA. Corneal sensitivity, blink rate, and corneal nerve density in progressive supranuclear palsy and Parkinson disease. *Cornea* 2013;32:631–5.
- [1054] Magalhaes M, Wenning GK, Daniel SE, Quinn NP. Autonomic dysfunction in pathologically confirmed multiple system atrophy and idiopathic Parkinson's disease—a retrospective comparison. *Acta Neurol Scand* 1995;91: 98–102.
- [1055] Okun MS, McDonald WM, DeLong MR. Refractory nonmotor symptoms in male patients with Parkinson disease due to testosterone deficiency: a common unrecognized comorbidity. *Arch Neurol* 2002;59:807–11.
- [1056] Mathers WD, Billborough M. Meibomian gland function and giant papillary conjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 1992;114:188–92.
- [1057] Bonini S, Bonini S, Schiavone M, Centofanti M, Allansmith MR, Bucci MG. Conjunctival hyperresponsiveness to ocular histamine challenge in patients with vernal conjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:103–7.
- [1058] Ciprandi G, Buscaglia S, Pesce G, et al. Effects of conjunctival hyperosmolar challenge in allergic subjects and normal controls. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;104:92–6.
- [1059] Leonardi A, Lanier B. Urban eye allergy syndrome: a new clinical entity? *Curr Med Res Opin* 2008;24:2295–302.
- [1060] Mourao EM, Rosario NA, Silva L, Shimakura SE. Ocular symptoms in nonspecific conjunctival hyperreactivity. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011;107:29–34.
- [1061] Rummenie VT, Matsumoto Y, Dogru M, et al. Tear cytokine and ocular surface alterations following brief passive cigarette smoke exposure. *Cytokine* 2008;43:200–8.
- [1062] Uchino Y, Kawakita T, Ishii T, Ishii N, Tsubota K. A new mouse model of dry eye disease: oxidative stress affects functional decline in the lacrimal gland. *Cornea* 2012;31(Suppl 1):S63–7.
- [1063] Zheng Q, Ren Y, Reinach PS, et al. Reactive oxygen species activated NLRP3 inflammasomes initiate inflammation in hyperosmolarity stressed human corneal epithelial cells and environment-induced dry eye patients. *Exp Eye Res* 2015;134:133–40.
- [1064] Aragona P, Romeo GF, Puzzolo D, Micali A, Ferreri G. Impression cytology of the conjunctival epithelium in patients with vernal conjunctivitis. *Eye (Lond)* 1996;10(Pt 1):82–5.
- [1065] Bielory L. Ocular allergy and dry eye syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004;4:421–4.
- [1066] Lemp MA, Crews LA, Bron AJ, Foulks GN, Sullivan BD. Distribution of aqueous-deficient and evaporative dry eye in a clinic-based patient cohort: a retrospective study. *Cornea* 2012;31:472–8.
- [1067] Enriquez-de-Salamanca A, Bonini S, Calonge M. Molecular and cellular biomarkers in dry eye disease and ocular allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012;12:523–33.
- [1068] Dogru M, Gunay M, Celik G, Aktas A. Evaluation of the tear film instability in children with allergic diseases. *Cutan Ocul Toxicol* 2016;35:49–52.
- [1069] Toda I, Shimazaki J, Tsubota K. Dry eye with only decreased tear break-up time is sometimes associated with allergic conjunctivitis. *Ophthalmology* 1995;102:302–9.
- [1070] Bonini S, Mantelli F, Moretti C, Lambiasi A, Bonini S, Micera A. Itchy-dry eye associated with polycystic ovary syndrome. *Am J Ophthalmol* 2007;143: 763–71.
- [1071] Fuchs E, Green H. Regulation of terminal differentiation of cultured human keratinocytes by vitamin A. *Cell* 1981;25:617–25.
- [1072] Checkley W, West Jr KP, Wise RA, et al. Maternal vitamin A supplementation and lung function in offspring. *N Engl J Med* 2010;362:1784–94.
- [1073] Semba RD, de Pee S, Panagides D, Poly O, Bloem MW. Risk factors for xerophthalmia among mothers and their children and for mother-child pairs with xerophthalmia in Cambodia. *Arch Ophthalmol* 2004;122: 517–23.
- [1074] Demissie T, Ali A, Mekonen Y, Haider J, Umeta M. Magnitude and distribution of vitamin A deficiency in Ethiopia. *Food Nutr Bull* 2010;31:234–41.
- [1075] Sommer A. Xerophthalmia and vitamin A status. *Prog Retin Eye Res* 1998;17:9–31.
- [1076] Hess AF, Kirby DB. The Incidence of Xerophthalmia and Night-Blindness in the United States—A Gauge of Vitamin A Deficiency. *Am J Public Health Nations Health* 1933;23:935–8.
- [1077] Sommer A, Green WR. Goblet cell response to vitamin A treatment for corneal xerophthalmia. *Am J Ophthalmol* 1982;94:213–5.
- [1078] Paton D, Mc LD. Bitot spots. *Am J Ophthalmol* 1960;50:568–74.
- [1079] Rodger FC, Saiduzzafar H, Grover AD, Fazal A. A reappraisal of the ocular lesion known as bitot's spot. *Br J Nutr* 1963;17:475–85.
- [1080] Ferrari G, Vigano M. Images in clinical medicine. Bitot's spot in vitamin A deficiency. *N Engl J Med* 2013;368. e29.
- [1081] Sommer A, Emran N, Tamba T. Vitamin A-responsive punctate keratopathy in xerophthalmia. *Am J Ophthalmol* 1979;87:330–3.
- [1082] Sommer A, Emran N. Tear production in vitamin A-responsive xerophthalmia. *Am J Ophthalmol* 1982;93:84–7.
- [1083] Hatchell DL, Sommer A. Detection of ocular surface abnormalities in experimental vitamin A deficiency. *Arch Ophthalmol* 1984;102:1389–93.
- [1084] Puangricharern V, Tseng SC. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 1995;102:1476–85.
- [1085] Rao V, Friend J, Thoft RA, Underwood BA, Reddy PR. Conjunctival goblet cells and mitotic rate in children with retinal deficiency and measles. *Arch Ophthalmol* 1987;105:378–80.
- [1086] Kiorpes TC, Kim YC, Wolf G. Stimulation of the synthesis of specific glycoproteins in corneal epithelium by vitamin A. *Exp Eye Res* 1979;28:23–35.
- [1087] Hassell JR, Newsome DA. Vitamin A-induced alterations in corneal and conjunctival epithelial glycoprotein biosynthesis. *Ann N. Y Acad Sci* 1981;359:358–65.
- [1088] Tei M, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Gipson IK. Vitamin A deficiency alters the expression of mucin genes by the rat ocular surface epithelium. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:82–8.
- [1089] Hori Y, Spurr-Michaud SJ, Russo CL, Argueso P, Gipson IK. Effect of retinoic acid on gene expression in human conjunctival epithelium: secretory phospholipase A2 mediates retinoic acid induction of MUC16. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:4050–61.
- [1090] Kim SW, Seo KY, Rhim T, Kim EK. Effect of retinoic acid on epithelial differentiation and mucin expression in primary human corneal limbal epithelial cells. *Curr Eye Res* 2012;37:33–42.
- [1091] Yamamoto Y, Yokoi N, Higashihara H, et al. Clinical characteristics of short tear film breakup time (BUT) -type dry eye. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2012;116:1137–43.
- [1092] Uchino M, Yokoi N, Uchino Y, et al. Prevalence of dry eye disease and its risk factors in visual display terminal users: the Osaka study. *Am J Ophthalmol* 2013;156:759–66.
- [1093] Kawashima M, Uchino M, Yokoi N, et al. Associations between subjective happiness and dry eye disease: a new perspective from the Osaka study. *PLoS One* 2015;10. e0123299.
- [1094] Kawashima M, Uchino M, Yokoi N, et al. The Association between Dry Eye Disease and Physical Activity as well as Sedentary Behavior: Results from the Osaka Study. *J Ophthalmol* 2014;2014:943786.
- [1095] Uchino Y, Uchino M, Yokoi N, et al. Alteration of tear mucin 5AC in office workers using visual display terminals: The Osaka Study. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:985–92.
- [1096] Shimazaki-Den S, Iseda H, Dogru M, Shimazaki J. Effects of diquafosol sodium eye drops on tear film stability in short BUT type of dry eye. *Cornea* 2013;32:1120–5.
- [1097] Koh S, Inoue Y, Sugimoto T, Maeda N, Nishida K. Effect of rebamipide ophthalmic suspension on optical quality in the short break-up time type of dry eye. *Cornea*

- 2013;32:1219–23.
- [1098] Koh S. Clinical utility of 3% diquafosol ophthalmic solution in the treatment of dry eyes. *Clin Ophthalmol* 2015;9:865–72.
- [1099] Munger KL, Levin LI, O'Reilly EJ, Falk KI, Ascherio A. Anti-Epstein-Barr virus antibodies as serological markers of multiple sclerosis: a prospective study among United States military personnel. *Mult Scler* 2011;17:1185–93.
- [1100] Simon KC, O'Reilly EJ, Munger KL, Finerty S, Morgan AJ, Ascherio A. Epstein-Barr virus neutralizing antibody levels and risk of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012;18:1185–7.
- [1101] Ascherio A, Munger KL. EBV and Autoimmunity. *Curr Top Microbiol Immunol* 2015;390:365–85.
- [1102] Pflugfelder SC, Beuerman R, Stern DA. Dry eye and ocular surface disorders. CRC Press; 2004.
- [1103] Kam WR, Liu Y, Ding J, Sullivan DA. Do Cyclosporine A, an IL-1 Receptor Antagonist, Uridine Triphosphate, Rebamipide, and/or Bimatoprost Regulate Human Meibomian Gland Epithelial Cells? *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:4287–94.
- [1104] Sacks EH, Wieczorek R, Jakobiec FA, Knowles DM. Lymphocytic subpopulations in the normal human conjunctiva. A monoclonal antibody study. *Ophthalmology* 1986;93:1276–83.
- [1105] Sacks E, Rutgers J, Jakobiec FA, Bonetti F, Knowles DM. A comparison of conjunctival and nonocular dendritic cells utilizing new monoclonal antibodies. *Ophthalmology* 1986;93:1089–97.
- [1106] Brissette-Storkus CS, Reynolds SM, Lepisto AJ, Hendricks RL. Identification of a novel macrophage population in the normal mouse corneal stroma. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:2264–71.
- [1107] Hamrah P, Chen L, Zhang Q, Dana MR. Novel expression of vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR)-3 and VEGF-C on corneal dendritic cells. *Am J Pathol* 2003;163:57–68.
- [1108] Hamrah P, Huq SO, Liu Y, Zhang Q, Dana MR. Corneal immunity is mediated by heterogeneous population of antigen-presenting cells. *J Leukoc Biol* 2003;74:172–8.
- [1109] Hamrah P, Liu Y, Zhang Q, Dana MR. Alterations in corneal stromal dendritic cell phenotype and distribution in inflammation. *Arch Ophthalmol* 2003;121:1132–40.
- [1110] Hamrah P, Liu Y, Zhang Q, Dana MR. The corneal stroma is endowed with a significant number of resident dendritic cells. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:581–9.
- [1111] Hattori T, Chauhan SK, Lee H, et al. Characterization of Langerin-expressing dendritic cell subsets in the normal cornea. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:4598–604.
- [1112] Shull MM, Ormsby I, Kier AB, et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature* 1992;359:693–9.
- [1113] Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet* 2001;27:68–73.
- [1114] Sharma R, Zheng L, Guo X, Fu SM, Ju ST, Jarjour WN. Novel animal models for Sjogren's syndrome: expression and transfer of salivary gland dysfunction from regulatory T cell-deficient mice. *J Autoimmun* 2006;27: 289–96.
- [1115] Rahimy E, Pitcher III JD, Pangelinan SB, et al. Spontaneous autoimmune dacryoadenitis in aged CD25KO mice. *Am J Pathol* 2010;177:744–53. Epub 2010 Jun 2021.
- [1116] Jabs DA, Prendergast RA. Ocular inflammation in MRL/Mp-lpr/lpr mice. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:1944–7.
- [1117] Li S, Nikulina K, DeVoss J, et al. Small proline-rich protein 1B (SPRR1B) is a biomarker for squamous metaplasia in dry eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:34–41.
- [1118] Vosters JL, Landek-Salgado MA, Yin H, et al. Interleukin-12 induces salivary gland dysfunction in transgenic mice, providing a new model of Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2009;60:3633–41.
- [1119] Cha S, Nagashima H, Brown VB, Peck AB, Humphreys-Beher MG. Two NOD Idd-associated intervals contribute synergistically to the development of autoimmune exocrinopathy (Sjogren's syndrome) on a healthy murine background. *Arthritis Rheum* 2002;46:1390–8.
- [1120] Robinson CP, Yamachika S, Bounous DI, et al. A novel NOD-derived murine model of primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1998;41:150–6.
- [1121] You IC, Bian F, Volpe EA, de Paiva CS, Pflugfelder SC. Age-related conjunctival disease in the C57BL/6.NOD-Aec1Aec2 Mouse Model of Sjogren Syndrome develops independent of lacrimal dysfunction. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2015 Mar 10;2015. pii: IOVS-14-15668.
- [1122] Bulosan M, Pauley KM, Yo K, et al. Inflammatory caspases are critical for enhanced cell death in the target tissue of Sjogren's syndrome before disease onset. *Immunol Cell Biol* 2008;87:81–90.
- [1123] Gandhi NB, Su Z, Zhang X, et al. Dendritic cell-derived thrombospondin-1 is critical for the generation of the ocular surface Th17 response to desiccating stress. *J Leukoc Biol* 2013;94:1293–301.
- [1124] Tsubota K, Fujita H, Tadano K, et al. Improvement of lacrimal function by topical application of CyA in murine models of Sjogren's syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:101–10.
- [1125] Lieberman SM, Kreiger PA, Koretzky GA. Reversible lacrimal gland-protective regulatory T cell dysfunction underlies male-specific autoimmune dacryoadenitis in the nonobese diabetic mouse model of Sjogren syndrome. *Immunology* 2015;145:232–41.
- [1126] da Costa SR, Wu K, Veigh MM, et al. Male NOD mouse external lacrimal glands exhibit profound changes in the exocytotic pathway early in post-natal development. *Exp Eye Res* 2006;82:33–45.
- [1127] D'Alise AM, Auyeung V, Feuerer M, et al. The defect in T-cell regulation in NOD mice is an effect on the T-cell effectors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:19857–62.
- [1128] Skarstein K, Wahren M, Zaura E, Hattori M, Jonsson R. Characterization of T cell receptor repertoire and anti-Ro/SSA autoantibodies in relation to sialadenitis of NOD mice. *Autoimmunity* 1995;22:9–16.
- [1129] Xu H, Zhao Y, Li J, et al. Loss of NHE8 expression impairs ocular surface function in mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 2015;308:C79–87.
- [1130] de Paiva CS, Volpe EA, Gandhi NB, et al. Disruption of TGF-beta Signaling Improves Ocular Surface Epithelial Disease in Experimental Autoimmune Keratoconjunctivitis Sicca. *PLoS One* 2011;6. e29017. Epub 2011 Dec 29014.
- [1131] Yamachika S, Nanni JM, Nguyen KH, et al. Excessive synthesis of matrix metalloproteinases in exocrine tissues of NOD mouse models for Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 1998;25:2371–80.
- [1132] Husain-Krautter S, Kramer JM, Li W, Guo B, Rothstein TL. The osteopontin transgenic mouse is a new model for Sjogren's syndrome. *Clin Immunol* 2015;157:30–42.
- [1133] Song XJ, Li DQ, Farley W, et al. Neurturin-deficient mice develop dry eye and keratoconjunctivitis Sicca. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44: 4223–9.
- [1134] Kotzin BL, Palmer E. Genetic contributions to lupus-like disease in NZB/ NZW mice. *Am J Med* 1988;85:29–31.
- [1135] Gilbard JP, Hanninen LA, Rothman RC, Kenyon KR. Lacrimal gland, cornea, and tear film in the NZB/NZW F1 hybrid mouse. *Curr Eye Res* 1987;6: 1237–48.
- [1136] Iwasa A, Arakaki R, Honma N, et al. Aromatase controls Sjogren syndrome-like lesions through monocyte chemotactic protein-1 in target organ and adipose tissue-associated macrophages. *Am J Pathol* 2015;185:151–61.
- [1137] McClellan AJ, Volpe EA, Zhang X, et al. Ocular Surface Disease and Dacryoadenitis in Aging C57BL/6 Mice. *Am J Pathol* 2014;184:631–43.
- [1138] Kojima T, Wakamatsu TH, Dogru M, et al. Age-related dysfunction of the lacrimal gland and oxidative stress: evidence from the Cu,Zn-superoxide dismutase-1 (Sod1) knockout mice. *Am J Pathol* 2012;180:1879–96.
- [1139] Ibrahim OM, Dogru M, Matsumoto Y, et al. Oxidative stress induced age dependent meibomian gland dysfunction in Cu, Zn-superoxide dismutase-1 (Sod1) knockout mice. *PLoS One* 2014;9. e99328.
- [1140] Shim GJ, Warner M, Kim HJ, et al. Aromatase-deficient mice spontaneously develop a lymphoproliferative autoimmune disease resembling Sjogren's syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:12628–33.
- [1141] Tsau C, Ito M, Gromova A, Hoffman MP, Meech R, Makarenkova HP. Barx2 and Fgf10 regulate ocular glands branching morphogenesis by controlling extracellular matrix remodeling. *Development* 2011;138:3307–17.
- [1142] Horsley V, O'Carroll D, Tooze R, et al. Blimp1 defines a progenitor population that governs cellular input to the sebaceous gland. *Cell* 2006;126: 597–609.
- [1143] House JS, Zhu S, Ranjan R, Linder K, Smart RC. C/EBPalpha and C/EBPbeta are required for Sebocyte differentiation and stratified squamous differentiation in adult mouse skin. *PLoS One* 2010;5. e9837.
- [1144] Mauris J, Dieckow J, Schob S, et al. Loss of CD147 results in impaired epithelial cell differentiation and malformation of the meibomian gland. *Cell Death Dis* 2015;6. e1726.
- [1145] Cui CY, Smith JA, Schlessinger D, Chan CC. X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia disruption yields a mouse model for ocular surface disease and resultant blindness. *Am J Pathol* 2005;167:89–95.
- [1146] Kuramoto T, Yokoe M, Hashimoto R, Hiai H, Serikawa T. A rat model of hypohidrotic ectodermal dysplasia carries a missense mutation in the Edaradd gene. *BMC Genet* 2011;12:91.
- [1147] Naito A, Yoshida H, Nishioka E, et al. TRAF6-deficient mice display hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:8766–71.
- [1148] Kenchegowda D, Swamynathan S, Gupta D, Wan H, Whitsett J, Swamynathan SK. Conditional disruption of mouse Klf5 results in defective eyelids with malformed

- meibomian glands, abnormal cornea and loss of conjunctival goblet cells. *Dev Biol* 2011;356:5–18.
- [1149] Meng Q, Mongan M, Carreira V, et al. Eyelid closure in embryogenesis is required for ocular adnexa development. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:7652–61.
- [1150] Thiboutot D, Sivarajah A, Gilliland K, Cong Z, Clawson G. The melanocortin 5 receptor is expressed in human sebaceous glands and rat preputial cells. *J Invest Dermatol* 2000;115:614–9.
- [1151] Huang J, Dattilo LK, Rajagopal R, et al. FGF-regulated BMP signaling is required for eyelid closure and to specify conjunctival epithelial cell fate. *Development* 2009;136:1741–50.
- [1152] Miyazaki M, Man WC, Ntambi JM. Targeted disruption of stearyl-CoA desaturase1 gene in mice causes atrophy of sebaceous and meibomian glands and depletion of wax esters in the eyelid. *J Nutr* 2001;131:2260–8.
- [1153] Dahlhoff M, Camera E, Schafer M, et al. Sebaceous lipids are essential for water repulsion, protection against UVB-induced apoptosis and ocular integrity in mice. *Development* 2016;143:1823–31.
- [1154] Hayashi Y, Liu CY, Jester JJ, et al. Excess biglycan causes eyelid malformation by perturbing muscle development and TGF- $\alpha$  signaling. *Dev Biol* 2005;277:222–34.
- [1155] Zouboulis CC, Boschnakow A. Chronological ageing and photoageing of the human sebaceous gland. *Clin Exp Dermatol* 2001;26:600–7.
- [1156] Chang SH, Jobling S, Brennan K, Headon DJ. Enhanced Edar signalling has pleiotropic effects on craniofacial and cutaneous glands. *PLoS One* 2009;4. e7591.
- [1157] Cui CY, Durmowicz M, Ottolenghi C, et al. Inducible mEDA-A1 transgene mediates sebaceous gland hyperplasia and differential formation of two types of mouse hair follicles. *Hum Mol Genet* 2003;12:2931–40.
- [1158] Jong MC, Gijbels MJ, Dahlmans VE, et al. Hyperlipidemia and cutaneous abnormalities in transgenic mice overexpressing human apolipoprotein CI. *J Clin Invest* 1998;101:145–52.
- [1159] Plikus M, Wang WP, Liu J, Wang X, Jiang TX, Chuong CM. Morpho-regulation of ectodermal organs: integument pathology and phenotypic variations in K14-Noggin engineered mice through modulation of bone morphogenic protein pathway. *Am J Pathol* 2004;164:1099–114.
- [1160] Dong F, Liu CY, Yuan Y, et al. Perturbed meibomian gland and tarsal plate morphogenesis by excess TGF $\alpha$  in eyelid stroma. *Dev Biol* 2015;406: 147–57.
- [1161] Cascallana JL, Bravo A, Donet E, et al. Ectoderm-targeted overexpression of the glucocorticoid receptor induces hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Endocrinology* 2005;146:2629–38.
- [1162] Kiguchi K, Bol D, Carbajal S, et al. Constitutive expression of erbB2 in epidermis of transgenic mice results in epidermal hyperproliferation and spontaneous skin tumor development. *Oncogene* 2000;19:4243–54.
- [1163] Lin MH, Hsu FF, Miner JH. Requirement of fatty acid transport protein 4 for development, maturation, and function of sebaceous glands in a mouse model of ichthyosis prematurity syndrome. *J Biol Chem* 2013;288: 3964–76.
- [1164] Jester JV, Rajagopalan S, Rodrigues M. Meibomian gland changes in the rhino (hrrhrrh) mouse. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1988;29:1190–4.
- [1165] Park YG, Hayasaka S, Takagishi Y, Inouye M, Okumoto M, Oda S. Histological characteristics of the pelage skin of rough fur mice (C3H/HeJ-ruf/ruf). *Exp Anim* 2001;50:179–82.
- [1166] Hassemer EL, Endres B, Toonen JA, Ronchetti A, Dubielzig R, Sidjanin DJ. ADAM17 transactivates EGFR signaling during embryonic eyelid closure. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:132–40.
- [1167] Majumder K, Shawlot W, Schuster G, Harrison W, Elder FF, Overbeek PA. YAC rescue of downless locus mutations in mice. *Mamm Genome* 1998;9: 863–8.
- [1168] McMahan A, Lu H, Butovich IA. A role for ELOVL4 in the mouse meibomian gland and sebocyte cell biology. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2014;55: 2832–40.
- [1169] Toonen J, Liang L, Sidjanin DJ. Waved with open eyelids 2 (woe2) is a novel spontaneous mouse mutation in the protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 13 like (Ppp1r13) gene. *BMC Genet* 2012;13:76.
- [1170] Lu Q, Xin Y, Ye F, Foulks G, Li Q. 14-3-3sigma controls corneal epithelium homeostasis and wound healing. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52: 2389–96.
- [1171] Chan CC, Gery I, Kohn LD, Nussenblatt RB, Mozes E, Singer DS. Periocular inflammation in mice with experimental systemic lupus erythematosus. A new experimental blepharitis and its modulation. *J Immunol* 1995;154: 4830–5.
- [1172] Parfitt GJ, Xie Y, Geyfman M, Brown DJ, Jester JV. Absence of ductal hyperkeratinization in mouse age-related meibomian gland dysfunction (ARMGD). *Aging (Albany NY)* 2013;5:825–34.
- [1173] Tanaka H, Harauma A, Takimoto M, Moriguchi T. Association between very long chain fatty acids in the meibomian gland and dry eye resulting from n-3 fatty acid deficiency. *Prostagl Leukot Essent Fat Acids* 2015;97:1–6.
- [1174] Zhang X, Schaumburg CS, Coursey TG, et al. CD8(+) cells regulate the T helper-17 response in an experimental murine model of Sjogren syndrome. *Mucosal Immunol* 2014;7:417–27.
- [1175] Kawasaki S, Kawamoto S, Yokoi N, et al. Up-regulated gene expression in the conjunctival epithelium of patients with Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res* 2003;77:17–26.
- [1176] Jones DT, Monroy D, Ji Z, Pflugfelder SC. Alterations of ocular surface gene expression in Sjogren's syndrome. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:533–6.
- [1177] Jones DT, Monroy D, Ji Z, Atherton SS, Pflugfelder SC. Sjogren's syndrome: cytokine and Epstein-Barr viral gene expression within the conjunctival epithelium. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3493–504.
- [1178] Zhang C, Xi L, Zhao S, et al. Interleukin-1 $\beta$  and tumour necrosis factor- $\alpha$  levels in conjunctiva of diabetic patients with symptomatic moderate dry eye: case-control study. *BMJ Open* 2016;6. e010979.
- [1179] Narayanan S, Miller WL, McDermott AM. Conjunctival cytokine expression in symptomatic moderate dry eye subjects. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:2445–50.
- [1180] Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, Afonso A, Monroy D. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjogren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 1999;19:201–11.
- [1181] Epstein SP, Galaria-Rathod N, Wei Y, Maguire MG, Asbell PA. HLA-DR expression as a biomarker of inflammation for multicenter clinical trials of ocular surface disease. *Exp Eye Res* 2013;111:95–104.
- [1182] Baudouin C, Brignole F, Pisella PJ, De Jean MS, Goguel A. Flow cytometric analysis of the inflammatory marker HLA DR in dry eye syndrome: results from 12 months of randomized treatment with topical cyclosporin A. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:761–9.
- [1183] Brignole F, Pisella PJ, De Saint JM, Goldschild M, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in KCS: 6-month treatment with topical cyclosporin A. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:90–5.
- [1184] Brignole F, Pisella PJ, Goldschild M, De Saint JM, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1356–63.
- [1185] Sheppard Jr JD, Singh R, McClellan AJ, et al. Long-term Supplementation With n-6 and n-3 PUFAs Improves Moderate-to-Severe Keratoconjunctivitis Sicca: A Randomized Double-Blind Clinical Trial. *Cornea* 2013;32: 1297–304.
- [1186] Tsubota K, Fukagawa K, Fujihara T, et al. Regulation of human leukocyte antigen expression in human conjunctival epithelium. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:28–34.
- [1187] Tsubota K, Fujihara T, Saito K, Takeuchi T. Conjunctival epithelium expression of HLA-DR in dry eye patients. *Ophthalmologica* 1999;213: 16–9.
- [1188] Rolando M, Barabino S, Mingari C, Moretti S, Giuffrida S, Calabria G. Distribution of Conjunctival HLA-DR Expression and the Pathogenesis of Damage in Early Dry Eyes. *Cornea* 2005;24:951–4.
- [1189] Kunert KS, Tisdale AS, Stern ME, Smith JA, Gipson IK. Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Arch Ophthalmol* 2000;118:1489–96.
- [1190] Baudouin C, Liang H, Bremond-Gignac D, et al. CCR 4 and CCR 5 expression in conjunctival specimens as differential markers of T(H)1/T(H)2 in ocular surface disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:614–9.
- [1191] Versura P, Profazio V, Schiavi C, Campos EC. Hyperosmolar stress upregulates HLA-DR expression in human conjunctival epithelium in dry eye patients and in vitro models. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:5488–96.
- [1192] Yoon KC, Park CS, You IC, et al. Expression of CXCL9, -10, -11, and CXCR3 in the tear film and ocular surface of patients with dry eye syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:643–50.
- [1193] Gurdal C, Genç I, Sarac O, Gonul I, Takmaz T, Can I. Topical cyclosporine in thyroid orbitopathy-related dry eye: clinical findings, conjunctival epithelial apoptosis, and MMP-9 expression. *Curr Eye Res* 2010;35:771–7.
- [1194] Aragona P, Aguenouz M, Rania L, et al. Matrix metalloproteinase 9 and transglutaminase 2 expression at the ocular surface in patients with different forms of dry eye disease. *Ophthalmology* 2015;122:62–71.
- [1195] Wakamatsu TH, Dogru M, Matsumoto Y, et al. Evaluation of lipid oxidative stress status in Sjogren syndrome patients. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:201–10.
- [1196] Choi W, Lian C, Ying L, et al. Expression of Lipid Peroxidation Markers in the Tear Film and Ocular Surface of Patients with Non-Sjogren Syndrome: Potential Biomarkers for Dry Eye Disease. *Curr Eye Res* 2016;41:1143–9.
- [1197] Cejkova J, Ardan T, Jirsova K, et al. The role of conjunctival epithelial cell xanthine oxidoreductase/xanthine oxidase in oxidative reactions on the ocular surface of dry eye

patients with Sjogren’s syndrome. *Histol Histo- pathol* 2007;22:997-1003.

[1198] Cejkova J, Ardan T, Simonova Z, et al. Decreased expression of antioxidant enzymes in the conjunctival epithelium of dry eye (Sjogren’s syndrome) and its possible contribution to the development of ocular surface oxidative injuries. *Histol Histopathol* 2008;23:1477-83.

[1199] Coursey TG, Henriksson JT, Barbosa FL, de Paiva CS, Pflugfelder SC. Inter-feron-gamma-induced unfolded protein response in conjunctival goblet cells as a cause of mucin deficiency in sjogren syndrome. *Am J Pathol* 2016. S0002-9440:30005-30000.

[1200] Narayanan S, Miller WL, McDermott AM. Expression of human beta- defensins in conjunctival epithelium: relevance to dry eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:3795-801.

[1201] Krenzer KL, Cermak JM, Tolls DB, Papas AS, Dana MR, Sullivan DA. Comparative signs and symptoms of dry eye in primary and secondary Sjögren’s syndrome and meibomian gland disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2000;40. S2864 (Abstract).

[1202] <http://www.genecards.org/>.

[1203] Tejera P, O’Mahony DS, Owen CA, Wei Y, Wang Z, Gupta K, et al. Functional characterization of polymorphisms in the peptidase inhibitor 3 (elafin) gene and validation of their contribution to risk of acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2014;51(2):262-72.

[1204] Warren HS, Tompkins RG, Moldawer LL, Seok J, Xu W, Mindrinos MN, et al. Mice are not men. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112. E345.

[1205] Sato EH, Ariga H, Sullivan DA. Impact of androgen therapy in Sjögren’s syndrome: hormonal influence on lymphocyte populations and Ia expres- sion in lacrimal glands of MRL/Mp-lpr/lpr mice. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1992;33(8):2537-45.

[1206] Tomlinson A, Bron AJ, Korb DR, Amano S, Paugh JR, Pearce EI, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the diagnosis subcommittee. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:2006-49.

[1207] Sullivan DA, Hammitt KM, Schaumberg DA, Sullivan BD, Begley CG, Gjorstrup P, et al. Report of the TFOS/ARVO Symposium on global treat- ments for dry eye disease: An unmet need. *Ocul Surf* 2012;10:108-16.

[1208] Lambert RW, Smith RE. Pathogenesis of blepharoconjunctivitis compli- cating 13-cis-retinoic acid (isotretinoin) therapy in a laboratory model. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1988;29:1559-64.

[1209] <http://ir.elevenbio.com/releasedetail.cfm?releaseid=913561>.

[1210] <http://www.pemphigus.org/living-with-pemphigus-pemphigoid/ understanding-pemphigus-pemphigoid/>.

[1211] Horwath-Winter J, Berghold A, Schmut O, Floegel I, Solhdju V, Bodner E, et al. Evaluation of the clinical course of dry eye syndrome. *Arch Oph- thalmol* 2003;121:1364-8.

[1212] Schaumberg DA, Nichols JJ, Papas EB, Tong L, Uchino M, Nichols KK. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on the epidemiology of, and associated risk factors for, MGD. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1994-2005.

[1213] Choi W, Lee JB, Cui L, Li Y, Li Z, Choi JS, et al. Therapeutic efficacy of topically applied antioxidant medicinal plant extracts in a mouse model of experi- mental dry eye. *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016:4727415.

[1214] She Y, Li J, Xiao B, Lu H, Liu H, Simmons PA, et al. Evaluation of a novel artificial tear in the prevention and treatment of dry eye in an animal model. *J Ocul Pharmacol Ther* 2015 Nov;31(9):525-30.

[1215] Wang YC, Li S, Chen X, Ma B, He H, Liu T, et al. Meibomian gland absence related dry eye in ectodysplasin a mutant mice. *Am J Pathol* 2016 Jan;186(1):32-42.

[1216] Ding J, Sullivan DA. Aging and dry eye disease. *Exp Gerontol* 2012;47: 483-90.

[1217] Lim SY, Raftery M, Cai H, Hsu K, Yan WX, Hseih HL, et al. S-nitrosylated S100A8: novel anti-inflammatory properties. *J Immunol* 2008;181: 5627-36.

[1218] Okanobo A, Chauhan SK, Dasjerdj MH, Kodati S, Dana R. Efficacy of topical blockade of interleukin-1 in experimental dry eye disease. *Am J Oph- thalmol* 2012 Jul;154(1):63-71.

[1219] Pflugfelder SC, Tseng SC, Sanabria O, et al. Evaluation of subjective as- sessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea* 1998;17:38-56.

[1220] Sternberg EM. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat Rev Immunol* 2006 Apr;6(4): 318-28.

Zelltyp	Marker für -
CD3+	Pat-T-Zellmarker
CD45Ro+	T-Gedächtniszellen
CD4+	T-Helfer-/Inducer-Zellen
CD8+	T-Suppressorzellen/zytotoxische T-Zellen
CD20+	B-Zellen
CD25	IL-2-Rezeptor
CD57+	NK - Natürliche Killerzellen
CD68+	Makrophagen, Monozyten
CD+147	EMMPRIN
TCRγδ	T-Zellen-Rezeptor γδ
HML-1 (Ber-ACT8)	Humanes Schleimhaut-lymphozytenantigen -1
NK	Natürliche Killerzelle
NPE	Neutrophile (Elastase)
AA-1	Mastzellen
EG-1	Eosinophile (kationisches Protein)

Zellen-Phänotyp:

Das Glossar wurde durch Hinzufügen neuer Begriffe zum TFOS DEWS-Glossar 2007 erstellt

ACR50, ACR70: vom American College of Rheumatology entwickelte Indizes für körperliche Funktion und Gelenkfunktion zur Beurteilung der Funktionsleistung und Einschränkung aufgrund rheumatischer Erkrankung

Ach: Acetylcholin

Act-1: Ein negativer Regulator von BAFF und CD40+

ADDE: **Hypovolämes trockenes Auge (Aqueous deficient dry eye):** trockenes Auge aufgrund verringerter Sekretion von Tränenflüssigkeit aus den Tränendrüsen

AIDS: die vom HIV-Virus hervorgerufene Immundefizienzerkrankung, die mit niedrigen Konzentrationen immunkompetenter Lymphozyten und mit zwischenzeitlich auftretenden Infektionen assoziiert ist

AIRE: Autoimmunregulator

AKC: atopische Keratokonjunktivitis, eine Allergieerkrankung, die mit einer topischen Krankheit assoziiert ist, die Entzündung auf der Augenoberfläche verursacht

APC: Antigenpräsentierende Zelle

ARDE: Altersbedingtes trockenes Auge (Age Related Dry Eye)

APRIL: Proliferationsinduzierender Ligand

ATD: Defizienz wässriger Tränen (Aqueous Tear Deficiency)

ATS: Künstlicher Tränenersatz (Artificial Tear Substitute)

BAFF: B-Zellen-aktivierender Faktor

Basaltränen: Tränen bei offenen Augen, die unter Bedingungen minimaler Augenoberflächenstimulation sezerniert werden

BUT: Fluoreszein-Break-up-Test

CALT: Konjunktiva-assoziiertes lymphatisches Gewebe (Conjunctiva-associated

**Glossar zum TFOS DEWS II Pathophysiologiebericht:**

- lymphoid tissue)
- CGRP:** Calcitonin Gene-Related Peptid (CGRP)
- Klinische Provokationsstudie:** eine klinische Studie, bei der die Auswirkung einer Behandlung oder einer Intervention unter Umgebungs- oder Aktivitätsbedingungen beobachtet wird, die einen bestimmten körperlichen oder geistigen Zustand belasten oder provozieren
- CC:** Chemokinpräfix
- CIC:** Konjunktivale Impressionszytologie (Conjunctival Impression Cytology)
- CLEK:** Kollaborative Longitudinalstudie zu Keratokonus (Collaborative Longitudinal Study of Keratoconus)
- CAE: Kontrolliertes ungünstiges Umfeld (Controlled adverse environment):** ein Umfeld, das so angelegt und aufgebaut ist, dass es eine Umweltprovokation zur Verschlimmerung eines in der Prüfung befindlichen klinischen Zustands bietet
- CCLR:** Centre for Contact Lens Research, University of Waterloo, Ontario, Kanada
- CPT:** Konjunktivaler Provokationstest (Conjunctival Provocation Test)
- CRT:** Kohlehydraterkennungsdomänen (Carbohydrate recognition domains)
- CVS:** Computer Vision Syndrome: die Symptome und Zeichen, die durch längere Arbeit am Bildschirm verursacht werden und zu einer niedrigeren Lidschlagfrequenz, erhöhter Tränenfilminstabilität und Beschwerdesymptomen sowie zu Fluktuationen der Sehkraft führen
- CPT-Code:** Current Procedure Terminology, die den Verfahren für Erkrankungen, die in der ICD-9-kodifizierten Krankheitsliste aufgeführt sind, einen unverwechselbaren numerischen Code zuweist
- CXC:** Chemokinpräfix
- Deklaration von Helsinki:** mittels einer internationalen Vereinbarung bekanntgegebene Richtlinien, in denen die ethische Durchführung klinischer Studien und der angemessene Schutz von Studienteilnehmern festgelegt sind
- DEQ:** Fragebogen zum trockenen Auge (Dry Eye Questionnaire)
- DES:** Austrocknungsstress (Dessicating Stress), Tiermodell der Keratokonjunktivitis sicca
- DEWS: International Dry Eye Workshop:** die internationale Gruppenkonferenz, die Evidenz auf der Grundlage von Informationen zusammengetragen hat, die den klinischen Zustand der Keratokonjunktivitis sicca beschreiben, einschließlich Klinik, grundlegender und klinischer Forschung, Epidemiologie und Behandlung der Erkrankung
- Dsc3:** Desmoglein 3
- DTS: Dysfunktionales Tränensyndrom (Dysfunctional tear syndrome):** der Begriff, der vom International Delphi Panel zur Beschreibung von Anomalitäten des Tränenfilms und der Konsequenzen für die Augenoberfläche empfohlen wird
- EALT:** Augen-assoziierte lymphatische Gewebe (Eye-associated lymphoid tissues)
- EA-R:** Ein frühes Epstein-Barr-Antigen (Epstein Barr early antigen)
- EBNA-1:** Passiver EBV-Marker der latenten Phase (latent phase EBV marker)
- EBV:** Epstein-Barr-Virus
- EDA:** Ektodermale Dysplasie
- EDE:** Evaporatives trockenes Auge (evaporative dry eye), auch experimentelles trockenes Auge
- ECP:** Eosinophiles kationisches Protein
- EMMPRIN:** Extrazellulärer Matrix-Metalloproteinase-Auslöser (Extracellular matrix metalloproteinase inducer)
- EMT:** Epithelial-mesenchymale Transition
- Klinische Umgebungsstudie:** eine klinische Studie, bei der die Auswirkung einer Behandlung oder einer Intervention unter Umgebungsbedingungen beobachtet wird
- EQ-5D:** Dies ist der standardisierte Fragebogen zur Messung von Gesundheitsergebnissen
- Equipoise (in der klinischen Forschung):** ein Zustand der Unsicherheit bezüglich der Frage, ob alternative Gesundheitsversorgungsmaßnahmen bessere Ergebnisse liefern werden, einschließlich des Gleichgewichts von Vor- und Nachteilen. Gemäß dem Prinzip der Equipoise sollte ein Patient nur in eine randomisierte kontrollierte Studie aufgenommen werden, wenn es eine deutliche Unsicherheit (eine Erwartung eines gleichen Wahrscheinlichkeitsgrads) darüber gibt, von welcher Maßnahme der Patient am meisten profitieren wird
- EDE: Evaporatives trockenes Auge:** trockenes Auge aufgrund verstärkter Verdunstung der Tränenflüssigkeit von der Oberfläche des Auges
- ELS:** Ektopische lymphatische Strukturen
- EMMPRIN:** Extrazellulärer Matrix-Metalloproteinase-Auslöser (Extracellular matrix metalloproteinase inducer). Ein membranübergreifendes Molekül, das auch CD147 genannt wird
- EMT:** Epithelial-mesenchymale Transition
- ERK:** Extrazelluläre Signal-regulierte Kinasen
- FBUT:** Fluoreszein-Break-up-Test
- FCT:** Fluoreszein-Clearance-Test. Ein Test des Tränen-Turnovers; siehe TCR
- FVA:** Funktionale Sehschärfe (Functional Visual Acuity): eine Messung der Sehschärfe während eines streng kontrollierten Zeitraums oder unter streng kontrollierten Umgebungsbedingungen, mit der die Sehschärfe beurteilt wird, ohne dass der Studienteilnehmer durch Blinkeln oder Anpassung an eine visuelle Provokation kompensieren kann
- GalNAc:** N-Acetyl-Galaktosamin.
- GCP: Gute klinische Praxis (Good Clinical Practice):** die Merkmale der Durchführung einer klinischen Studie, die als geeignete Methoden für die Durchführung einer klinischen Studie akzeptiert sind
- GVHD: Graft-versus-Host-Reaktion (Graft versus Host Disease):** eine durch die Übertragung von immunkompetenten Zellen ausgelöste Entzündung, die Host-Zellen als fremd erkennt und angreift
- HCV:** Hepatitis-C-Virus
- HIV:** humanes Immundefizienzvirus, das infektiöse Virus, das für die Produktion immundefizienter Lymphozyten verantwortlich ist
- HADS:** Fragebogen zur Beurteilung von Angstsymptomen und depressiven Symptomen (Hospital Anxiety and Depression Scale): ein zur Beurteilung von Angst und Depression entwickelter Fragebogen
- HSCT:** Allogene hämatopoetische Stammzellentransplantation (Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation)
- HLA:** Humanes Leukozytenantigen
- HMG-CoA:** 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA
- HRT:** Hormonersatztherapie (hormone replacement therapy): systematischer Ersatz weiblicher Geschlechtshormone als Behandlung für einen postklimakterischen Mangel an Östrogen und/oder anderen Hormonen
- HZO:** Herpes zoster ophthalmicus
- ICAM-1:** Interzelluläres Adhäsionsmolekül, das die Anhaftung von Zelle an Zelle ermöglicht. Es ist häufig ein Entzündungsmarker
- ICD-9:** Internationale Krankheitsklassifikation, die jeder Erkrankung einen unverwechselbaren numerischen Code zuweist
- IDEEL:** Auswirkung des trockenen Auges auf den Alltag (impact of dry eye on everyday life): ein Satz von Fragen zur Bestimmung des Störungsgrades durch Keratokonjunktivitis sicca bei Aktivitäten des Alltags
- IFAP-Syndrom:** Eine Erkrankung, die eine Kombination aus follikulärer Ichthyose, Alopezie und Photophobie aufweist
- IFN:** Interferon
- Ig:** Immunglobulin, z. B. IgA, IgD, IgG, IgM
- IGF:** Insulinartiger Wachstumsfaktor (Insulin-like growth factor)
- IL-:** Interleukin
- Inzidenz:** die Häufigkeit des Auftretens einer Erkrankung pro Gesamtheit der Population pro Zeitraum (z. B. x/100.000/Jahr)
- IRB: Unabhängige Ethikkommission (Institutional Review Board):** unabhängiger Ausschuss mit festgelegter Zusammensetzung, der für die Überprüfung des ethischen Aufbaus und der Durchführung einer klinischen Studie in Übereinstimmung mit akzeptierten ethischen Richtlinien verantwortlich ist
- ITT: Intent-to-Treat-Population:** alle in eine klinische Studie randomisierten Teilnehmer basierend auf der ursprünglichen Behandlung, der sie zugewiesen wurden, ungeachtet der Behandlung, die sie tatsächlich erhalten haben, oder ihrer Einhaltung des Prüfplans
- Internationale Konferenz zur Harmonisierung:** Konferenz, die Richtlinien für die ethische Durchführung von klinischen Studien an Menschen festgelegt hat
- J-Chain:** Ein Verknüpfungsprotein zwischen den zwei IgA-Molekülen von dimerischem, sekretorischem IgA-(sIgA)
- JNK:** c-Jun-N-terminale Kinasen
- KCS: Keratokonjunktivitis sicca:** die Erkrankung des trockenen Auges und die Entzündung der Augenoberfläche, die von Henrik Sjögren, MD, beschrieben wurde. Der Begriff wird nun häufig im Wechsel mit den Begriffen trockenes-Auge-Syndrom oder hypovolämes trockenes Auge (aqueous-deficient dry eye, ADDE) verwendet
- KFSD:** Keratosis follicularis spinulosa decalvans-Erkrankung
- KIK:** Kallikrein
- La (SSB):** ein spezifisches Antigen, das auf Zellen exprimiert wird, die das Ziel für Antikörper sind, die sich aufgrund der Immunantwort bei Sjögren-Syndrom entwickelt haben
- LEP:** In Bezug auf die Keratinisierung späte Envelope-Proteine
- LFA-1:** Leukozyten-Funktions-Antigen 1
- LFU:** Lakrimale Funktionseinheit (Lacrimal Functional Unit, LFU): die integrierte Funktionseinheit, die das Tränensystem, die Augenoberfläche und ihre akzessorischen Drüsen sowie ihre neuralen Verbindungen umfasst und die für die Aufrechterhaltung des Tränenfilms und den Schutz der Transparenz der Kornea die Gesundheit der Augenoberfläche verantwortlich ist
- LASIK:** Laser-in-situ-Keratomeileusis: die Entfernung kornealen Gewebes unter einem anterioren Kornea-Flap, die zur Korrektur eines Refraktionsfehlers durchgeführt wird
- LINE:** LASIK-induzierte Neuroepitheliopathie: ein Begriff, der zur Beschreibung des Symptomkomplexes von Augenreizung und Abnormitäten der Augenoberfläche nach einer LASIK-Operation verwendet wird
- LOCF: Last Observation Carried Forward (LOCF):** eine statistische Technik zur Korrektur fehlender Informationen an einem Datensammelpunkt durch Verwendung des letzten Beobachtungswerts, der vor den fehlenden Daten liegt
- Likert-Score:** Eine Methode der Bewertung eines subjektiven Symptoms oder objektiven Krankheitsanzeichens durch Verwendung einer kategorischen Skala
- LIPCOF:** Lidkantenparallele konjunktivale Falten – eine Form der Konjunktivochalasis. Mit trockenem Auge assoziiert



stabilisieren

*TFI*: Ein Test der Tränendynamik, dessen Ergebnis durch Teilung des Werts des Schirmer-Tests mit Anästhesie durch die Tränen-Clearance-Rate ermittelt wird

*TFT*: Tränenkristallisationstest (Tear Ferning Test) – Erkennung von trockenem Auge anhand der Tränenkristallisationsmuster

*TGF*: Transformierender Wachstumsfaktor (transforming growth factor)

*TIMP*: Gewebeinhibitor von Metalloproteinasen (tissue inhibitor of metalloproteinases)

*TLS*: Tertiäre oder ektopische lymphatische Strukturen

*TNF*: Tumornekrosefaktor

*TLR*: Toll-like-Rezeptor

*TSAS*: Tränenstabilitätsanalyse-System

*TSB*: Thrombospondin

*TTR*: Tränen-Turnover-Rate. Tränenfluss pro Minute als ein Prozentsatz des Tränenvolumens. [Bron]

*VDT*: Bildschirme (Visual display terminals)

*VFQ-25*: Fragebogen zur Sehfunktion des National Eye Institute (Visual Function Questionnaire).

*VAS*: **Visuelle Analogskala**: eine Methode zur Bewertung eines subjektiven Symptoms oder objektiven Anzeichens von Krankheit durch Verwendung einer linearen Messskala

*VEGF*: Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (Vascular endothelial growth factor)

*VKC*: vernale Keratokonjunktivitis, eine allergische Erkrankung, die sich durch chronische und episodische Entzündung der Augenoberfläche und papilläre Reaktion der Konjunktiva manifestiert

*VIP*: Vasoaktives intestinales Peptid

*VT-HRQ*: Auf den Visus gerichtete gesundheitsbezogene Lebensqualität (Vision-Targeted Health-Related Quality of Life): ein Fragebogen, mit dem Lebensqualitätsaktivitäten in Bezug auf oder die Sehkraft oder abhängig davon evaluiert werden

*VNTR*: Variable Anzahl von Tandemwiederholungen (Variable number of tandem repeats)

*WWHS*: Women's Health Study (WHS): eine große, prospektive epidemiologische Langzeitstudie einer Kohorte von Frauen in den USA

*XC*: Chemokinpräfix

*Xerophthalmie*: Eine bilaterale Augenerkrankung, die durch Vitamin-A-Mangel verursacht und durch Nachtblindheit, Xerose der Augenoberfläche und Keratomalazie charakterisiert ist