

Forschung am Trockenen Auge: *Bericht des Research Subcommittee des International Dry Eye WorkShop (DEWS/2007)*

ZUSAMMENFASSUNG Die Mitglieder des DEWS-Research Subcommittee berichten über den aktuellen Stand der Forschung hinsichtlich grundlegender Mechanismen der Keratokonjunktivitis sicca („Trockenes Auge“). Alle Daten über Tränenfilm, Tränenröhren und akzessorische Tränenröhren sowie über das Epithel der Augenoberfläche (einschließlich Hornhaut und Bindehaut), die Meibomdrüsen, das die ableitenden Tränenwege und das Immunsystem wurden beurteilt. Dabei wurden Forschungsdaten aus Untersuchungen an Menschen als auch an Tieren berücksichtigt. Die Ergebnisse werden in Form einer Reihe von Datenmatrizen vorgestellt, welche den aktuellen Erkenntnisstand und unterstützende Literatur präsentieren. Zudem wird versucht, Bereiche für zukünftige Untersuchungen abzustecken.

SCHLÜSSELWÖRTER DEWS, Trockenes Auge, Dry Eye WorkShop, Mechanismen des Trockenen Auges, Pathologie des Trockenen Auges

I. EINLEITUNG

Mitglieder der Forschungsuntergruppe wurden entsprechend ihrer jeweiligen Fachgebiete zusammengefasst und gebeten, die Informationen zu den grundlegenden Mechanismen der Pathologie des Trockenen Auges innerhalb dieses Fachgebiets zu beurteilen. Um die Beurteilung zu erleichtern, wurde ein standardisiertes

Zur Veröffentlichung angenommen im Januar 2007.

Mitglieder des Subkomitees für Forschung: **Ilene K. Gipson, PhD (Chair)**; Pablo Argüeso, PhD; Roger Beuerman, PhD; Stefano Bonini, MD; Igor Butovich, PhD; Reza Dana, MD, MPH; Darlene Dartt, PhD; Dan Gamache, PhD; Bryan Ham, PhD; Marcia Jumblatt, PhD; Donald Korb, OD; Friederich Kruse, MD; Yoko Ogawa, MD; Friedrich Paulsen, MD, PhD; Michael Stern, PhD; Deborah F. Sweeney, PhD; John Tiffany, PhD; John Ubels, PhD; Mark Willcox, PhD.

Die eigentumsrechtlichen Beziehungen der Subkomiteemitglieder werden auf Seite 202 und 204 offengelegt.

Kein Nachdruck verfügbar. Die Artikel sind unter www.tearfilm.org abrufbar.

Ansprechpartner in Verbindung mit diesem Kapitel des DEWS-Berichts: Ilene K. Gipson PhD, Schepens Eye Research Inst, 20 Staniford Street, Boston, MA 02114-2500, USA. Tel.: 617-912-0210. Fax: 617-912-0126. E-Mail: gipson@vision.eri.harvard.edu

Pablo Argüeso war Mitverfasser des Manuskripts.

©2007 Ethis Communications, Inc. *The Ocular Surface* ISSN: 1542-0124. (Keine Autorenaufflistung). Forschung am Trockenen Auge: Bericht des Research Subcommittee des International Dry Eye WorkShop (2007). 2007;5(2):179-193.

Formular entwickelt („DEWS Research Committee Report Form“—Anhang 1 [siehe unter: www.tearfilm.org]), das die Mitglieder für die Präsentation ihrer Ergebnisse verwendeten. Auf der Basis der aus den ausgefüllten Formularen abgeleiteten Ergebnisse wurden Datenmatrizen erstellt.

Alle Daten über Tränenfilm, Tränenröhren und akzessorische Tränenröhren sowie über das Epithel der Augenoberfläche (einschließlich Bindehaut und Hornhaut), die Meibomdrüsen, das die ableitenden Tränenwege und das Immunsystem wurden beurteilt. Dabei wurden Forschungsdaten aus Untersuchungen an Menschen als auch an Tieren berücksichtigt. Die Ergebnisse werden in Form einer Datenmatrix vorgestellt, welche den aktuellen Erkenntnisstand und unterstützende Literatur präsentiert und Bereiche für zukünftige Forschung identifiziert.

II. ZIELE DES RESEARCH SUBCOMITTEE

Die Ziele des Subkomitees waren:

- A. Zu prüfen, ob ausreichend Material vorliegt, um die grundlegenden Mechanismen zu definieren, die dem Trockenen Auge zugrunde liegen.
 1. Den Wissensstand über primäre Veränderungen und/oder sekundäre Reaktionen der folgenden okularen und systemischen Komponenten zusammenzufassen, die an einer Dysfunktion des Tränenfilms beteiligt sind.
 - a. Tränenfilm
 - b. Tränenröhren und akzessorische Tränenröhren
 - c. Epithel der Augenoberfläche, Hornhaut, Bindehaut
 - d. Meibomdrüsen
 - e. Ableitende Tränenwege
 - f. Immunsystem
 2. Eine Informationsmatrix zur Erkennung von Bereichen zu erstellen, über die kein ausreichendes Wissen vorliegt, und zu ermitteln, ob es gemeinsame Pathologien innerhalb des Syndroms gibt.
 3. Bereiche zu ermitteln, in denen klinische Informationen zur Verfügung stehen oder fehlen.
- B. Die Beantwortung von Frage 2 auf Grundlage der aus Teil A abgeleiteten Daten: Reicht der Stand des Grundwissens zu den Mechanismen des Trockenen Auges aus, um zu bestimmen, wie daraus die Krankheitssymptome entstehen?
- C. Falls möglich, Erarbeiten von Definitionen zu Mechanismen der Pathologie des Trockenen Auges oder Entwicklung von

ÜBERBLICK

- I. Einleitung
- II. Ziele des Research Subcommittee
- III. Tränen und Tränenfilm
 - A. Erkrankung beim Menschen
 - B. Tiermodelle des Trockenen Auges
- IV. Augenoberfläche
 - A. Erkrankung beim Menschen
 - B. In-vitro- und Tiermodelle
- V. Immunsystem
 - A. Erkrankung beim Menschen
 - B. In-vitro/Tiermodelle des Trockenen Auges–Immunsystem
- VI. Hypothese des Mechanismus der akuten und chronischen Entzündung beim Trockenen Auge
- VII. Tränendrüsen / akzessorische Tränendrüsen / Ductus nasolacrimalis
 - A. Erkrankung beim Menschen
 - B. In-vitro- und Tiermodelle
- VIII. Meibomdrüsen
 - A. Erkrankung beim Menschen
 - B. In-vitro- und Tiermodelle
- IX. Der Pathologie des Trockenen Auges zugrundeliegende Mechanismen

wichtigen Hypothesen zu den Mechanismen, die dann geprüft werden können.

III. TRÄNEN UND TRÄNENFILM**A. Erkrankung beim Menschen**

Die im letzten DEWS-Bericht zum Trockenen Auge (National Eye Institute [NEI]/Industry Workshop 1995, im Folgenden als „Workshop 1995“ bezeichnet) präsentierten Daten ließen erkennen, dass die Osmolarität des Tränenfilms bei sämtlichen Formen des Trockenen Auges (**DE**) erhöht ist, und dass das Tränenvolumen sowie bestimmte Proteine der Tränenflüssigkeit, wie z. B. Lysozym und Lactoferrin, bei durch Tränenmangel verursachtem Trockenen Auge vermindert sind.¹ Außerdem wurde eine evaporative Form des Trockenen Auges identifiziert, die z. B. durch eine reduzierte Integrität der Lipidschicht des Tränenfilms verursacht wird.

Neue Daten seit dem Workshop 1995 zeigen, dass die Lipidzusammensetzung und -verteilung der Meibomdrüsen beim DE verändert ist und eine Anzahl bioaktiver Tränenproteine, wie Plasmin, Matrixmetalloproteinase (**MMP**), Abwehrmoleküle und Phospholipase-A2-IIa beim Trockenen Auge erhöht sind. Außerdem ist ein Ansteigen von inflammatorischen Zytokinen beim Trockenen Auge ohne Sjögren-Syndrom (**NSS**), wie auch beim Trockenen Auge mit Sjögren-Syndrom (**SS**) zu beobachten, sowie eine Verminderung des Muzins MUC5AC der Becherzellen bei Keratokonjunktivitis sicca (**KCS**) und SS (Tabelle 1).

Wegen des Mangels an verfügbaren Daten über die oben angeführten Veränderungen der Zusammensetzung des Tränenfilms ist es unklar, in welchem Zusammenhang die Zusammensetzung der menschlichen Tränenflüssigkeit zur

Dysfunktion des Tränenfilms steht. Um die Mechanismen des Trockenen Auges besser zu verstehen, müssen proteomische, lipidomische und glykomische Analysen der Tränen von großen, gut definierten, klassifizierten und gleichaltrigen Patienten- oder Probandenpopulationen durchgeführt werden, um für das Trockene Auge spezifische Biomarker zu entwickeln. Bei der Entwicklung von proteomischen Grundlagenstudien der Tränenproteine wurden Fortschritte gemacht, es fehlen aber Studien, in denen die Tränen von normalen und trockenen Augen verglichen werden.⁴¹⁻⁴⁴ Die Massenspektrometrie ist ein leistungsfähiges analytisches Hilfsmittel für die Identifizierung⁴⁵ von Molekülen und Verbindungen und wird eingesetzt, um ein Standard-Lipidprofil normaler Tränen zu erstellen und spezifische Unterschiede in der Zusammensetzung der Tränen aus DE-Modellen zu erkennen.

Die Anwendung der Massenspektrometrie für die

In Text und Tabellen verwendete Abkürzungen

- ↑ = Erhöhung von/erhöht
- ↓ = Verminderung von/vermindert
- Δ = Änderung von/geändert in
- /- = Homozygote Null-Maus
- = vollständig aufgebraucht
- ACAT-1 = Acyl-CoA:Cholesterol-Acyltransferase-1
- Auto-AG = Autoantigen
- BUT = Aufrisszeit
- CALT = Conjunctiva-associated lymphoid tissue (Konjunktiva-assoziiertes lymphatisches Gewebe)
- Chr Bleph = Chronische Blepharitis
- CIC = Vernarbende Erkrankung
- Conj = Konjunktiva/konjunktival
- Cont lens = Kontaktlinse
- DE = Trockenes Auge (Dry Eye)
- DES = Trockenes-Auge-Syndrom (Dry eye syndrom)
- EDA = Ektodermale Dysplasie
- ENV STR = Umgebungsbedingte Belastung (Environmental stress)
- epi = Epithel/epithelial
- Epi. Diff/sq metaplasia = Epitheldifferenzierung/squamöse Metaplasie
- GVHD = Graft-versus-Host-Krankheit
- KCS = Keratokonjunktivitis sicca
- Lac = Lacrimal
- Meibom = Meibom
- ↓MG = Verlust der Meibomdrüsen
- MGD = Meibom-Dysfunktion
- NSS = Nicht-Sjögren-Syndrom
- NSS/ACQ = Nicht-Sjörgen-Syndrom mit Wasserverlust
- Nasolac = Nasolacrimal
- NLD = Ableitende Tränenwege
- RA-MGD = Durch Retinoidsäure induzierte MGD
- SCOP = Scopolamin
- siRNA = Small interfering RNA
- Spont DE = Spontanes Trockenes Auge
- SS = Sjörgen-Syndrom
- TALT = Tear duct-associated lymphoid tissue (Tränenweg-assoziiertes lymphatisches Gewebe)
- TFBUT = Tränenfilm-Aufrisszeit
- Undif KCS = undifferenzierte Keratokonjunktivitis sicca
- ↓Vit A = Vitamin A-Mangel
- Vit A = Vitamin A fehlt vollständig

Tabelle 1. Informationsmatrix: menschlicher Tränenfilm

	KCS*	NSS	SS	MGD	Androgen Mangel	Kontakt Linse/DE	Referenzen Referenzen
Tränenvolumen/Osmolarität:							
↑ Osmolarität, ↓ Volumen	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2-6
↑ Verdunstung	✓			✓			1, 7-9
↓ Meniskus	✓	✓	✓	✓	✓	✓	5, 10-13
Korrelation: Verdunstung mit Osmolarität und Lipidschicht	✓						14, 15
↓ Tränen-Aufrisszeit, ↑ Oberflächenspannung	✓	✓	✓	✓	✓	✓	5, 12, 16-20
Muzine:							
↓ Glykoproteine, MUC5AC	✓		✓	✓			21-23
Lipide:							
Δ Lipidmuster, Verteilung			✓	✓			24, 25
↓ Polare Lipide	✓						26
↓ Lipidschicht, ↑ Verdunstung	✓						14
Proteine:							
Δ Proteine	✓						27, 28
↑ Plasminspiegel	✓						29
↑ MMPs				✓			30, 31
↑ Entzündungsmarker, PRPs	✓			✓			32
↓ Lactoferrin							33
↑ Neun Abwehrmoleküle				✓			34
↓ Lysozym, Lactoferrin							35
↑ Phospholipase-A2-IIa	✓					✓	36, 37
Entzündungsmediatoren:							
Proinflammatorische Zytokine: IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α			✓	✓			38-40

*Typ nicht definiert

Charakterisierung und Identifizierung der Lipide im Sekret der Meibomdrüsen zeigt, dass die früher angegebenen Zusammensetzungen dringend überarbeitet werden müssen. Diese Anstrengungen werden dadurch noch kompliziert, dass sich die Lipide in ihren Klassen und in ihrer Funktionalität sehr unterscheiden. Zur Differenzierung der Lipidklassen werden unterschiedliche analytische Ansätze für die Isolierung und Erkennung benötigt.

Massenspektroskopische Methoden mit hohem Durchsatz und Glykan-Arrays stehen heute für eine Glykom-Analyse zur Verfügung. Diese könnten für eine Auswertung der Tränen-Glykane bei normalen und bei DE-Patienten angewendet werden.

In gleicher Weise ist eine Bestimmung der Verhältnisse und Mengen von membrangebundenen und ausgeschiedenen Muzinen im Tränenfilm erforderlich. Außerdem wird es wichtig sein, den Zusammenhang zwischen verschiedenen Messgrößen der Tränenstabilität (z. B. die Tränenfilm-Aufrisszeit, Tear-Film-Breakup-

Tabelle 2. Informationsmatrix: tierischer Tränenfilm

	Kaninchen	Maus	Referenzen
Tränenvolumen/Osmolarität			
↑ Osmolarität + ↓ Tränenvolumen	-Meibomdrüsen	Scopolamin & Umweltbelastung	48-49
↑ Osmolarität, ↑ Oberflächenverletzung	-Tränendrüse		50
↓ Aufrisszeit, ↓ Oberflächenverletzung mit Dexamethason	-Tränendrüse		51
Lipide			
↑ Acylglycerine	-Tränendrüse/Membrana nictitans		45
Lipide beim Kaninchen/menschliche Übereinstimmung	-Tränendrüse/Membrana nictitans		45
Proteine			
↓ Protein	-Nerven		52
↑ IL-1β		-Neurturin	53

Time [TFBUT]), sowie die Muzin- und Lipidmenge und die Eigenschaften der Tränenflüssigkeit zu untersuchen.

B. Tiermodelle des Trockenes Auges

Unter den auf dem Workshop 1995 diskutierten Tiermodellen war auch ein Kaninchenmodell, bei dem die Meibom- und die Tränendrüsen sowie die Membrana nictitans entfernt wurden, was eine Hyperosmolarität der Tränenflüssigkeit und eine Schädigung der Augenoberfläche zur Folge hatte, so dass Eigenschaften eines menschlichen Trockenen Auges nachgeahmt wurden.

Neue Modelle und Ergebnisse seit dem Workshop 1995 sind unter anderem: 1) Mäusemodelle des Trockenen Auges, die Scopolamin und einen umgebungsbedingten, austrocknenden Belastungsfaktor verwenden und eine Erhöhung der inflammatorischen Zytokine und der Osmolarität der Tränen zeigen; 2) Mäuse mit Neurturinmangel, die DE entwickeln und eine erhöhte Konzentration inflammatorischer Mediatoren in ihrem Tränenfilm aufweisen; 3) Ein Kaninchenmodell mit entfernten Tränendrüsen, das zeigt, dass eine Behandlung mit Dexamethason die verminderte Tränenfilm-Aufrisszeit (TFBUT) und die Schädigung der Augenoberfläche umkehren kann; 4) Kaninchenmodelle mit einer Denervation der Tränendrüsen, die veränderte Protein- und Lipidprofile der Tränenflüssigkeit hervorrufen (Tabelle 2).

Ein wichtiger Untersuchungsbereich im Hinblick auf die vorhandenen präsentierten Evidenzen betrifft die Notwendigkeit der Korrelation von Tränenosmolarität, Tränenfilm-Aufrisszeit und Reaktion auf inflammatorische

Faktoren. Zu diesem Zweck stehen nun immortalisierte humane Kornea- und Konjunktiva-Epithelzelllinien zur Verfügung, die über Differenzierungseigenschaften nativer Epithelien verfügen.^{46,47} Mit ihrer Hilfe können die Auswirkungen von Tränenosmolarität, Entzündungsmediatoren und DE-Tränen auf das Oberflächenepithel untersucht werden.

Um einen Einblick in die Erkrankung Trockenes Auge zu erhalten, sollten massenspektrometrische, lipidomische und proteomische Analysen an Tiermodellen durchgeführt werden. Durch einen Vergleich der tierischen Proteome, Lipidome und Glykome können die am besten zum Menschen passenden Modelle bestimmt werden (z. B. sind die Gesamt-Chloroform-Extrakte von Kaninchentränen denjenigen menschlicher Tränen sehr ähnlich).⁴⁵

IV. AUGENoberfläche

A. Erkrankung beim Menschen

Unter den auf dem Workshop 1995 diskutierten Aspekten der Pathologie der Oberfläche des Trockenen Auges waren das Fehlen einer epithelialen Schutzfunktion (wie durch eine erhöhte Farbstoffaufnahme nachgewiesen wurde [ohne verfügbare Daten zum Mechanismus]), eine die Schädigung der Augenoberfläche verursachende gesteigerte Osmolarität des Tränenfilms, sowie einen Verlust der konjunktivalen Becherzellen und eine gesteigerte squamöse Metaplasie der Oberflächenepithelzellen (morphologische Beobachtungen).

Neue Daten seit diesem Bericht zeigen, dass es Veränderungen an der Zelloberfläche und den sekretierten Muzinen sowie bei den mit der Keratinisierung verbundenen

Tabelle 3. Informationsmatrix: menschliche Augenoberfläche

	Undiff. KCS	NSS/ACQ	SS	CIC	↓ Vit A	Kontaktlinse	LASIK	Referenzen
Schädigung von kornealen- und konjunktivalen Epithelzellen, durch Farbstoffpenetration nachgewiesen – Fluoreszein, Lissamin, Bengalrosa	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	Gut bewährt
Muzine:								
↓ Becherzellen	✓	✓	✓	✓	✓	↑	✓	54-61
↓ MUC5AC	✓		✓					22, 23
Veränderte Muzin-Glykosylierung	✓					✓		62-65
Δ Glykosyltransferasen				✓				66
Δ Membrangebundene Muzine		✓	✓					22, 57, 65, 67
Δ Konj. Zell-Epithel:								
↓ Mikroplicae			✓					68
Filamentäre Keratitis	✓							69
↑ Stratifizierung	✓			✓				66, 70
Epi-Proliferation			✓					71
Δ Nuklear-/Chromatinstruktur	✓		✓					72-74
↑ Apoptose	✓	✓	✓					75
Δ Innervation		✓	✓				✓	76-80
↑ Infektion	✓							35, 81
↑ Mit Keratinisierung verknüpfte Proteine			✓		✓			82-84
Entzündungsmarker auf konj. Epithelzellen	✓	✓	✓					75, 85

Tabelle 4. Informationsmatrix: tierisches Augenoberflächenepithel

In vitro/human Augenoberflächenepithel	Kaninchen	Maus	Ratte	Hund	Referenzen
Becherzellen; Muzine/Glykoproteine:					
Penetration von Bengalrosa	-MUC16				86
↓ Becherzellen, MUC5AC		-Vit A Scopolamin & Umweltbelastung -/- Neurturin -Neurotrophische Keratitis -/- I κβ-ζ		-Vit A	48, 53, 87-91
Δ Muzin-Glykosylierung				Spont. DE	92
↓ Membrangebundene Muzine	-Vit A -Serum		-/- Neurturin	-Vit A	53, 89, 93, 94
↓ Glykogen		-Meibomdrüsen -Tränendrüse -Neurotrophische Keratitis			48, 50, 88
Epi. Diff/sq. Metaplasie:					
↑ Keratinisierung		-Vit A		-Vit A	Spont. DE 95-97
↑ Proliferation d. Konjunktivaepithels			Scopolamin & Umweltbelastung		90
↑ Apoptose			Scopolamin & Umweltbelastung		98
↑ Inflammatorische Zytokine/MMPs:					
	+Hyperosmolare Belastung		-/- Neurturin Scopolamin & Umweltbelastung + Hyperosmolare Belastung		49, 53, 99-101
Umkehrung von Augenoberflächenschäden/Entzündung ohne Meibomdrüsen:					
			EDA-Knockin		102

Proteinen gibt, die durch Epithelzellen exprimiert werden. Zudem gibt es Veränderungen der Innervationsdichte und -sensitivität der Hornhaut. Studien dokumentieren einen erhöhten konjunktivalen Epithelzellumsatz. Es ist durch Daten belegt, dass konjunktivale Epithelzellen eine aktive Rolle bei der Immunantwort spielen und eine Quelle von Entzündungsmediatoren sind⁸⁵ (Tabelle 3).

Trotz aller bekannter Daten sind die Informationen über den Tränenfilm und die Augenoberfläche beim Trockenen Auge immer noch unzureichend. Es wäre wertvoll, das konjunktivale epitheliale Proteom und Glykom in einer gut definierten und klassifizierten DE-Population zu bestimmen und mit alters- und geschlechtsgleichen Kontrollgruppen zu vergleichen, um allgemeine Veränderungen der apikalen Oberflächenkomponenten durch die Erkrankung zu erkennen. Es wäre wünschenswert festzustellen, ob Alter und Geschlecht, oder eine Kombination davon einen Einfluss auf die Umgebungsbelastung des Epithels der Augenoberfläche haben. Es ist wichtig festzustellen, ob es irgendwelche genetischen Prädiktoren für eine Prädisposition für Trockenes Auge gibt. Abschließend könnte ein Vergleich von frühen intermittierenden Stadien der Erkrankung mit der chronischen Erkrankung die Differenzierung primärer Prozesse, die DE verursachen, von den sekundären Reaktionen, die mit der Krankheit einhergehen, ermöglichen.

B. In-vitro- und Tiermodelle

Beim Workshop 1995 wurden folgende in in-vitro- und Tiermodellen gesammelte Informationen vorgestellt: durch

Farbstoffaufnahme nachgewiesenes Fehlen der Schutzfunktion in verschiedenen DE-Tiermodellen, Verlust der Becherzellen in verschiedenen DE-Tiermodellen und Keratinisierung des Epithels der Augenoberfläche bei Vitamin A-Mangel.

Seit dem Workshop 1995 haben Untersuchungen die Rolle membrangebundener Muzine als schützende Barriere (humane Epithelzellen in-vitro), einen gesteigerten Zellumsatz (DE-Mausmodell), sowie eine gesteigerte Exprimierung von inflammatorischen Zytokinen nachgewiesen (DE-Mausmodell). Als nützliche Hilfsmittel wurden neue Mausmodelle zur Untersuchung der molekularen Mechanismen der Schädigung der Augenoberfläche entwickelt. Mausmodelle bei denen eine Dysfunktion der Tränen- und/oder Meibomdrüsen vorliegt, haben eine bessere Charakterisierung der Pathologie der Augenoberfläche ermöglicht (Färbung, Dichte der Becherzellen usw. [Tabelle 4]).

Ausgehend von den heute bekannten Daten sind zusätzliche Untersuchungen erforderlich, um die Rolle einer Oberflächenerkrankung des Auges beim Mechanismus der Tränendysfunktion zu bestimmen. Durch einen Vergleich der Proteome / Glykome der Tränenflüssigkeit und der apikalen Epitheloberfläche des Menschen und der Maus könnten gemeinsame Komponenten für eine Validierung des Tiermodells bestimmt und so die Interpretation der Daten des DE-Modells erleichtert werden. Induzierbare Modelle spezifischer Erkrankungen mit Trockenem Auge und Modelle chronischer Erkrankungen sollten weiter entwickelt werden. Es ist wichtig, Mechanismen der Becherzellendifferenzierung aus epithelialen Stammzellen und Mechanismen des Becherzellverlusts zu

Tabelle 5. Informationsmatrix: menschliches Immunsystem/Trockenes Auge

	Undifferenzierte KCS	NSS	Rosacea-DE	SS	GVHD	Referenzen
Konjunktiva:						
↑ CD3-, CD8-Zellen				✓	✓	103
↑ CD4- und T-Zellen		✓		✓	✓	104-108
↑ Chemokin -CCR5-Rezeptor	✓	✓		✓	✓	109, 110
↑ Fas		✓				75
↑ ICAM-1					✓	111
Bindehaut und Tränen:						
↑ IL-1, TNF- α und IL-8, IL-6			✓	✓		38-40
Bindehaut und Tränendrüse:						
↑ MHC Klasse II, HLA-DR	✓	✓		✓	✓	75, 105, 107, 110-113
↑ CD40, CD40 Ligand, CD80, CD86	✓	✓		✓	✓	75, 107
Fibrose					✓	107, 108, 114
Tränendrüse:						
Tränendrüse: ↑ CD4-, T- & B-Zellen	✓			✓	✓	108, 115-117
↑ ICAM-1	✓				✓	107, 118
Entzündliche Infiltrate		✓		✓		119, 120
Gemeinsame Autoantigene, Tränen- und Speicheldrüse		✓				115
↑ Fas-Fas Ligand, IL-1 β , IL-6, IFN- γ , vaskuläres Zelladhäsionsmolekül-1 & interzelluläres Adhäsionsmolekül-1, Infiltrierende Lymphozyten, Apoptose		✓				121-123

erkennen, weil ein Verlust der Becherzellen für alle Formen des Trockenen Auges charakteristisch ist. Es wäre hilfreich, funktionelle in-vitro-Tests unter Anwendung von siRNA-Techniken zu entwickeln, um den Beitrag verschiedener Zelloberflächenmoleküle zur Erhaltung der epithelialen Barrierenfunktion der Hornhaut erklären zu können. Moderne genetische Manipulationstechniken mit Knockout-, Knockin-, und Knockdown-Tieren zur Durchführung funktioneller Tests in standardisierten DE-Tiermodellen sollten erforscht werden. Eine Bestimmung der Basiswerte einer Färbung mit Fluoreszein, Lissamin oder Bengalrosa ist erforderlich. Es wäre erstrebenswert festzustellen, ob die Wechselwirkungen

von Epithelial- und Bindegewebszellen die Entstehung eines Trockenen Auges beeinflussen.

V. IMMUNSYSTEM

A. Erkrankung beim Menschen

Daten aus dem Workshop 1995 zeigten, dass das SSDE das Ergebnis einer Autoimmunerkrankung ist, bei der die Reaktion auf Autoantigene eine entzündliche Zerstörung des Tränendrüsengewebes zur Folge hat. Neue Daten seit 1995 zeigen, dass bei NSSDE und auch bei SSDE proinflammatorische Zytokine und T-Zell-Populationen vermehrt im Bindehaut- und im Tränendrüsengewebe

Tabelle 6. Informationsmatrix: tierisches Immunsystem

	In vitro beim Tier	Kaninchen	Maus	Hund	Referenzen
IFN- γ ↑ HLA-DR, ICAM-1	Konj. Primärkultur				124
Entzündung ↑ Konj., Apoptose der Tränendrüse			Scopolamin & Umweltbelastung	Spont. DE	96, 98
IFN- γ bei Entzündungen des TH1-Typs und Trockenem Auge			Scopolamin & Umweltbelastung, Umweltbelastung		118, 125
T-Zellen vermitteln eine lokale Entzündung, das Auge trocknet aus			Scopolamin & Umweltbelastung		126
Lac. Entzündung und DE					
↑ T-Zellen, insbesondere CD4			Autoimmune Dacryoadenitis		127
↑ CD3-T-Zellen; CD8, CD4			GVHD-Modell		128
↑ ICAM-1			MRL/lpr Mäuse		118
↑ MHC Klasse II		DE			129

vorkommen. Chemokine und ihre Rezeptoren sind beim Trockenen Auge vermehrt vorhanden. Trockenes Auge bei der Graft-versus-Host-Krankheit (GVHD) ist mit Entzündung und einer Infiltration von Immunzellen in die Tränendrüse und in das Epithel der Augenoberfläche verbunden. Die Erkrankung ist auch durch eine Fibrose charakterisiert, die mit Fibroblasten und einer vom Knochenmark stammenden Zellinfiltration verbunden ist. Es ist klar, dass die Epithelzellen der Augenoberfläche entzündliche Reaktionen modulieren können (Tabelle 5).

Es fehlen immer noch Informationen über die Rolle, die das Immunsystem beim Menschen bei der Tränendysfunktion beim Trockenen Auge spielt. Es gibt kaum oder gar keine Informationen über die Veränderungen der Hornhaut (im Vergleich zu Tränenfilm oder Bindehaut) oder über die frühen Veränderungen und die Rolle von pathogenen Immunfaktoren. Es ist nicht bekannt, welche Veränderungen primär sind und welche sekundär - Informationen, die benötigt werden, um eine Aussage über „Ursache und Wirkung“ machen zu können.

Es ist erforderlich, die Rolle von in der Hornhaut und im Tränenfilm vorhandenen immunmodulatorischen Proteinen und Peptiden (TGF- β , α -MSH, IL-1Ra, etc) präziser zu bestimmen, und die Rolle der angeborenen Immunität beim Trockenen Auge zu beschreiben (einschließlich Lactoferrin, Lysozym, Toll-like-Rezeptoren, Complement, Kinin-Kininogen, Metaboliten der Arachidonsäure, Neuropeptide).

B. In-vitro-/Tiermodelle des Trockenen Auges–Immunsystem

Die Modelle und Ergebnisse des Workshops 1995 haben bestätigt, dass Cyclosporin A bei der Behandlung eines spontanen DE-Kaninchenmodells erfolgreich ist. Neue, seit 1995 verfügbare Daten zeigen, dass IFN- γ HLA-DR und ICAM-1 in menschlichen Konjunktivazellen stimulieren kann, was zeigt, dass Zellen der Augenoberfläche auf eine Entzündung reagieren und diese modulieren können. Mausmodelle des Trockenen Auges, die entweder Scopolamin und Umweltbelastungen oder Umweltbelastungen allein

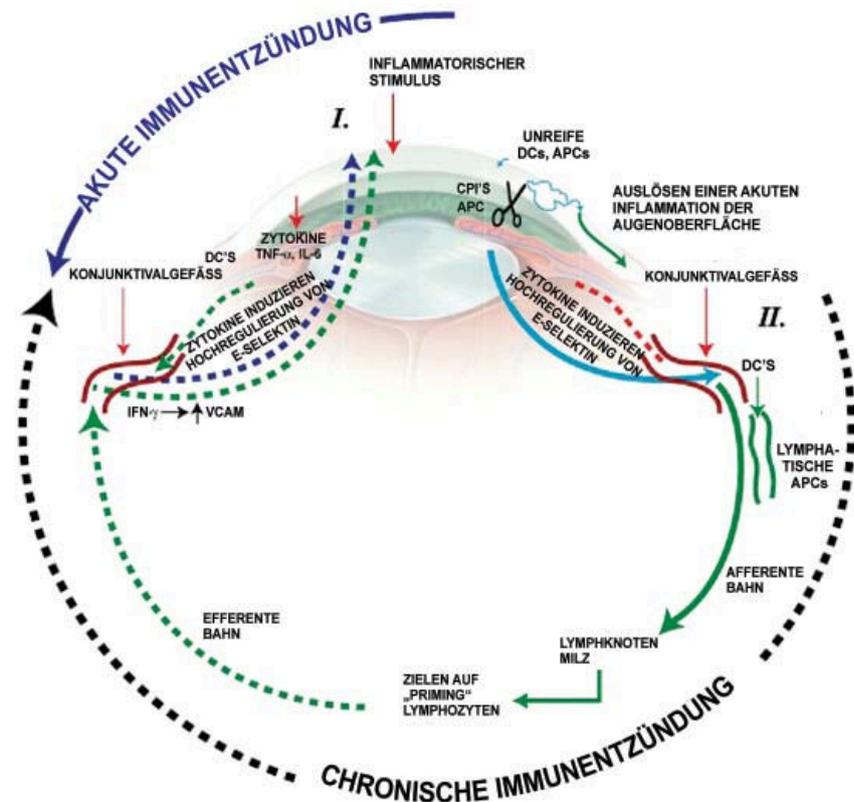


Abbildung 1. Hypothese des Mechanismus der akuten und chronischen Entzündung.

I. Entzündungsstimuli (mikrobielle Antigene, Verletzung, UV-Licht, hyperosmolare Belastung) lösen eine akute Immunentzündung aus, indem sie die Produktion und Freisetzung von inflammatorischen Zytokinen (z. B. IL-1, TNF- α und IL-6) durch Epithelzellen der Augenoberfläche stimulieren. Sie aktivieren ebenfalls reife antigenpräsentierende Zellen (APC), sowie eine gesteigerte Expression von Adhäsionsmolekülen (z. B. ICAM-1) und Selectinen durch das konjunktivale vaskuläre Endothel, was ein Ansammeln von Entzündungszellen an der Augenoberfläche erleichtert.

II. Eine chronische Immunentzündung, die eine Bevorratung und Verarbeitung von Antigenen durch okuläre APCs beinhaltet, die über konjunktivale Lymphbahnen und Venen jeweils in die regionalen Lymphknoten und die Milz migrieren und naive T-Zellen primen. Nach dem Priming gelangen CD4 T-Zellen zur Bindehaut, wo sie sich an das aktivierte vaskuläre Endothel anheften und durch Diapedese in das Gewebe gelangen. Durch aktivierte T-Zellen produzierte Zytokine, wie z. B. IFN- γ verstärken die Immunreaktion durch eine Erhöhung der Expression von Adhäsionsmolekülen (z. B. VCAM) über die konjunktivalen Blutgefäße.

APCs = Antigenpräsentierende Zellen; CPIs = korneale Proteasen; DC = dendritische Zelle; TNF- α = Tumornekrosefaktor-Alpha; IL-6 = Interleukin 6; IFN- γ = Interferon Gamma. (Abgedruckt von McDermott AM et al. Pathways of corneal and ocular surface inflammation: a perspective from the Cullen Symposium. *Ocul Surf* 2005;3(4):S131-S138.)

verwenden, zeigen, dass eine Belastung der Augenoberfläche die beim menschlichen Auge beobachteten Veränderungen der inflammatorischen / T-Zellen induzieren kann. Die Daten legen nahe, dass eine durch Austrocknungsstress induzierte Entzündung durch T-Zellen vermittelt wird¹²⁶ (Tabelle 6).

Welche Fragen können beantwortet werden, oder welche erfolgversprechenden Wege der Grundlagenforschung müssen in Modellsystemen beschritten werden, um die Rolle des Immunsystems im Mechanismus der Tränendysfunktion beim Trockenen Auge zu bestimmen? Es besteht ein Mangel an Informationen im Hinblick auf das Verständnis der Rolle von T-Zellen in der frühen Immunpathogenese der Oberflächenerkrankung des Auges (im Vergleich zur Tränendrüse) beim Trockenen Auge. Es muss geklärt werden, in welchem Ausmaß die Oberflächenerkrankung des Auges durch T-Zellen vermittelt ist. Außerdem müssen die Rolle der Autoimmunität bei dieser Erkrankung und die Art der Autoantigene bestimmt werden.

Studien sind erforderlich, um die Wirkung entzündlicher Zytokine auf die Muzin-Gene und -Proteine zu untersuchen. Des Weiteren ist eine Beschreibung der Rolle des angeborenen Immunsystems beim Trockenen-Auge-Syndrom erforderlich (einschließlich Lactoferrin, Lysozym, Complement, Kinin/Kininogen, Metaboliten der Arachidonsäure, Neuropeptide, Toll-like-Rezeptoren und Surfactant-Protein-D).

VI. HYPOTHESE DES MECHANISMUS DER AKUTEN UND CHRONISCHEN ENTZÜNDUNG BEIM TROCKENEN AUGE

Das „Cullen Symposium on Corneal & Ocular Surface Inflammation“ (Baylor College of Medicine, Houston, TX, January, 2005, *The Ocular Surface*, Vol. 3, Supplement) unternahm den Versuch, eine vereinheitlichte mechanistische Darstellung der akuten und chronischen

Augenoberflächenentzündung (Abbildung 1), einschließlich der beim Trockenen Auge auftretenden, zu erstellen.¹³⁰

1) *Akut*: Eine Irritation der Augenoberfläche (viral, bakteriell, umgebungsbedingt) führt zu einer schnellen vaskulär-endothelialen Selectinausschüttung und der Diapedese von nicht-geprimeten (non-targeted) T-Zellen in die Bindehaut.

2) *Chronisch*: Eine Belastung der Augenoberfläche bewirkt (über die Zeit) Aktivierung und Ableitung antigenpräsentierender Zellen (einschließlich dendritischer) in lymphoide Organe, wodurch ein Priming von T-Zellen erfolgen kann, die sich dann auf die Augenoberfläche richten.

3) Die Symptome korrelieren primär mit der Schädigung des Korneaepithels, die man für eine kumulative Schädigung hält, welche durch zytotoxische Effekte inflammatorischer und pro-apoptotischer Stimuli und durch Hyperosmolarität

Tabelle 7. Informationsmatrix: menschliche Tränendrüse / ableitende Tränenwege

	KCS	SS	GVHD	Alterungsprozess	Referenzen
Tränendrüse					
Entzündliches Infiltrat		✓	✓		107, 108, 119, 120
Gemeinsame Autoantigene, Tränen- und Speicheldrüse		✓			115
↑ FAS-FAS-Ligand, IL-1β, IL-6, IFN-γ, VCAM-1, ICAM-1, Infiltrierende Lymphozyten, Apoptose		✓			121-123
Virale Ätiologie der Hepatitis C, HIV, Epstein-Barr	✓	✓			131-135
Autoantikörper auf muskarinische M3-Acetylcholinrezeptoren		✓			136
Korrelation: Serum-Autoantikörper -Spiegel mit Schirmer-Test mit nasaler Stimulation und Bengalrosa- / Fluoreszeinfärbung		✓			137
↑ MUCs 4, 5A & 5B in menschlichen Tränendrüsen (4 Leichen mit Trockenem Auge)				✓	138
↓ Innervation der Tränendrüsen	✓	✓			139
↑ Fibrose				✓	140
Ableitende Tränenwege (NLD)					
Verschluss der ableitenden Tränenwege (Punctum Plugs usw.) verbessert Augenoberfläche beim DE	✓	✓			>100 Referenzen
DE und nasolakrimale Erkrankungen treten häufig bei Frauen im mittleren bis fortgeschrittenen Alter auf	✓	✓			141

vermittelt wird. Gleichzeitig mit dem Epithelverlust/der Devitalisierung kommt es zu einer Stimulation der kornealen nozizeptiven Nervenendungen

**VII. TRÄNENDRÜSEN /AKZESSORISCHE TRÄNENDRÜSEN /ABLEITENDE TRÄNENWEGE
A. Erkrankung beim Menschen**

Daten aus dem Workshop 1995 zeigten, dass die Tränendrüsen von SSDE-Patienten mit Lymphozyten infiltriert sind und das Volumen der Tränensekretion vermindert ist. Einige Daten deuteten auf eine mögliche Verbindung zwischen Trockenem Auge und Infektion mit dem Epstein-Barr-Virus hin, diese These war jedoch kontrovers. Es war bekannt, dass ein Verschluss des Tränengangs die Färbung der Augenoberfläche beim Trockenen Auge verbessert.

In nach 1995 zusammengetragenen Daten wurden

Lymphozyttypen, Fas-Fas-Ligand-Expression und apoptotische Marker in den Tränendrüsen von SS-Patienten bestimmt. Es gibt Hinweise, die einen Zusammenhang zwischen einer Hepatitis C oder HIV-Infektion und NSDE

Tabelle 8. Informationsmatrix: menschliche akzessorische Tränendrüsen (nicht relevant für das Trockene Auge)

	Referenzen
Azinöse Struktur bei akzessorischen und Hauptdrüsen ähnlich	142, 143
Sekretorisches Immunsystem bei akzessorischen und Hauptdrüsen ähnlich	142, 144, 145
Innervation bei akzessorischen und Hauptdrüsen ähnlich	146, 147
Proteinsekretion und die Signalwege bei akzessorischen und Hauptdrüsen ähnlich	145, 148, 149

Tabelle 9. Informationsmatrix: tierische Tränendrüsen / ableitende Tränenwege

	In Vitro	Kaninchen	Maus	Ratte	Hund	Referenzen
Tränendrüse:						
Eine Kokultur lakrimaler azinöser Zellen / Lymphozyten aktivieren Lymphozyten und verursachen eine Entzündung der Tränendrüse des Wirtes	Tränendrüse	✓				153-157
↑ Lymphozytische Infiltration, CD4, CD8; ↑ Fas, Fas-Ligand & Zytokine			MRL/lpr Maus NOD-Maus Modell des SS			158-166
Androgene ↓ Entzündung, sind immunsuppressiv und vermindern Androgenrezeptoren			MRL/Mp-lpr/lpr-Mäuse; NZB/NZW F1-Maus	Exp. Autoimmune Dacryoadenitis	DE beim Hund	161, 167-176
Autoantigen oder Extrakt der Tränendrüse verursacht lymphozytische Infiltration der Tränendrüse			Maus in vivo	Ratte in vivo		172, 173, 177, 178
Veränderte cholinergische Funktion; ICA69 beim Sjögren-Syndrom ist autoantigen			NOD-Mausmodell des SS			179, 180
Die lymphozytische Infiltration blockiert beim Sjögren-Syndrom die Sekretion der Tränendrüse durch eine Hemmung der Freisetzung von Neurotransmittern in den Nerven			MRL/lpr Mausmodell des SS			181
α-Fodrin ist ein Autoantigen der Tränendrüse und verursacht Sjögren-Syndrom			NFS-Mausmodell des SS			182
↑ Anfälligkeit für Herpesinfektion				Zellen einer weiblichen Tränendrüse		174
Δ Genexpression der Tränendrüse bei kornealer Verletzung			Normale Maus			183
Ableitende Tränenwege (NLD):						
Aus dem Ductus nasolacrimalis in Kaninchenblut aufgenommenes ³ H-Cortisol		Absorpt. von lipophilen Substanzen aus Tränenflüssigkeit durch Epithel von Tränengängen		Keine Absorption von lipophilen Substanzen aus Tränen durch Epithel von Tränengängen		184, 185
Anatomie hilfreich bei Untersuchung von Tränengängen		Vergleichende Studien			Vergleichende Studien	184-186
↓ Sekretion ↓ Innervation ↑ Lipofuscine			Alterungsprozessmodell			187

oder SSDE annehmen lassen. Ein Autoantikörper des muskarinischen M3-Acetylcholinrezeptors wurde entdeckt, und erhöhte Serumwerte korrelieren mit einem verminderten, nasal stimulierten Schirmer-Wert und einem erhöhten Bengalrosa-Färbungsscore. Mit dem Trockenen Auge geht ein Anstieg der Tränenmuzine einher (Tabellen 7 und 8).

Es bleiben noch offene Fragen über die Rolle der Tränendrüsen, der akzessorischen Tränendrüsen und des Tränengangs beim Trockenen Auge. Auf der Grundlage des momentanen Informationsniveaus wäre es hilfreich, das Tränen-Proteom in einer Population gut charakterisierter, alters-/geschlechtsgleicher Normalprobanden mit dem von DE-Patienten sowie mit den Tränen-Proteomen verschiedener

KCS-Patienten zu vergleichen, um mögliche Biomarker für diese Krankheitstypen zu identifizieren.

Es fehlen im Besonderen Informationen zu den akzessorischen Tränendrüsen und zu den ableitenden Tränenwegen bei Menschen mit Trockenen Auge. Alle histologischen und immunhistochemischen Daten zu akzessorischen Tränendrüsen stammen von normalem Gewebe, es gibt keine Informationen zu Drüsen bei Trockenen Auge, egal welchen Typs. Wir kennen das Ausmaß nicht, in dem diese beim Trockenen Auge betroffen sind und weil diese in das subkonjunktivale Gewebe der Augenoberfläche eingebettet sind, sind sie ein wichtiges therapeutisches Ziel für topische, lakrimale Sekretagoga. Die Genexpression der akzessorischen

Tränenröhren ist im Vergleich zu den Haupttränenröhren nicht definiert. Der relative Beitrag der akzessorischen und der Haupttränenröhren zur basalen Tränensekretion oder zur Beeinträchtigung der Tränensekretion ist nicht bekannt, und ein Vergleich der Genexpression der akzessorischen und der Haupttränenröhre wäre von Nutzen.

Genauso fehlen Informationen zur Funktion des Tränengangs beim Trockenen Auge. Es gibt keine Langzeitstudien über den Nutzen eines Punctum-Verschlusses. Yen et al¹⁵⁰ fand heraus, dass die Empfindung der Augenoberfläche und die Tränenproduktion bei normalen Probanden nach einem temporären Punctum-Verschluss abnahmen. Bei normalen Probanden scheint es aber einen Autoregulationsmechanismus zu geben, der die Tränenproduktion und Tränen Clearance 14 bis 17 Tage nach dem Punctum-Verschluss wieder auf das Niveau vor dem Verschluss bringt, ein Mechanismus, der bei Patienten mit Trockenem Auge zu fehlen scheint.¹⁵⁰ Daher kann man davon ausgehen, dass die Absorption von Tränenflüssigkeitskomponenten in die Blutgefäße des umgebenden Sinus cavernosus^{151,152} ein Signal für die Produktion von Tränenflüssigkeit weitergeben könnte, das bei Tränenmangel fehlt. Weitere Studien sind erforderlich, um die Feedbacksysteme in den Epithelien des Tränengangs, sowie den Blutgefäßen und deren Verbindungen zum System der Augenoberfläche zu bestimmen.

B. In-vitro- und Tiermodelle

Im Bericht des Workshops 1995 wurde über Mausmodelle mit SS berichtet, bei denen die Reduzierung von Entzündungen der Tränenröhren durch Androgene beschrieben wurde.

Seit dem Bericht aus dem Jahre 1995 wurden Studien mithilfe der Mikroarrayanalyse durchgeführt, die dramatische Veränderungen der Genexpression der Tränenröhren nach einer akuten Korneaverletzung der Maus zeigten. Zytokine und Chemokine wurden in einem Mausmodell mit SS nachgewiesen, sowie eine veränderte cholinerge Funktion und Neurotransmitter-Freisetzung. Alpha-Fodrin wurde als Autoantigen im NFS-Mausmodell des SS nachgewiesen und ICA69 ist das im NOD-Mausmodell des SS nachgewiesene Autoantigen. Muskarinische Rezeptoren sind Autoantigene beim SS in einem Rattenmodell. Es wurde auch gezeigt,

dass die ableitenden Tränenwege markiertes Cortisol absorbieren können, ein Zeichen dafür, dass die Absorption von Tränenkomponenten in den Tränenwegen erfolgen kann (Tabelle 9).

Zur Validierung von Tiermodellen des Trockenen Auges kann es wichtig sein, die Transkriptome und Proteome der Tränenröhren beim Menschen und bei der Maus zu bestimmen und zu vergleichen. Ein Vergleich der Proteome von Tränenröhren von normalen und von Mäusen mit Trockenen Augen könnte ebenfalls informativ sein. Es ist außerdem wichtig zu bestimmen, welche Signalwege sich verändern und den Rückgang der Sekretion der Tränenröhren verursachen, der in Modellen mit alternden Mäusen oder Ratten auftritt. Die Rolle der Myoepithelzellen bei der Dysfunktion der Tränenröhren in Tiermodellen muss ebenfalls noch bestimmt werden. Es könnte hilfreich sein, mithilfe des autologen-Lymphozyten-Kaninchenmodells festzustellen, ob die Exposition kryptischer Antigene durch Fehler bei der Regenerierung ein SS initiiert. Die Bestimmung der zellulären Mechanismen, die eine autoimmune Erkrankung der Tränenröhren induzieren, könnte ebenfalls mit dem autologen Lymphozyten-Kaninchenmodell erfolgen. Dieses Modell könnte auch dazu verwendet werden festzustellen, ob der exozytotische Prozess der Proteinsekretion ein Angriffspunkt für die Dysfunktion der Tränenröhren ist und um die Rolle der Zellen des Tränenröhrenganges bei der Dysfunktion der Tränenröhre durch eine Laser-Capture-Mikrodissektion zu bestimmen.

Bezüglich der ableitenden Tränenwege fehlen Informationen zu den Zellen des Ductus und Zelllinien des Epithels der ableitenden Tränenwege stehen momentan nicht zur Verfügung. Noch offene Fragen bei den Tiermodellen sind, ob die Absorption von Tränenflüssigkeitskomponenten in die Blutgefäße des die ableitenden Tränenwege umgebenden Sinus cavernosus sich in den Modellen zum Trockenen Auge verändert oder aufhört und was mit der drainierten Tränenflüssigkeit bei der nasolacrimalen Passage geschieht.

VIII. MEIBOMDRÜSEN

A. Erkrankung beim Menschen

Im Bericht des Workshops 1995 sind erhöhte und/

Tabelle 10. Informationsmatrix: menschliche Meibomdrüse

	KCS	Chr Bleph	MGD	NSS	SS	Androgen mangel	Alterungs prozess	Kontakt Linse	Referenzen
Verlust der Meibomdrüse/ Verschluss/Verformung verminderte Sekretion		✓	✓	✓18,5%	✓60%	✓	✓	✓	6,188-195
Δ Lipidprofile						✓	✓	✓	36, 196-198
Keratinisierung, Metaplasie der Mündung						✓	✓		5, 10
Schmelzpunkt der Lipide um 3° höher als normal			✓						199
Bakterienstämme bei Chr Bleph		✓			✓				200
↑ Fluoreszein, Bengalrosa			✓						195
Δ Lipidschicht; ↑ Dicke	✓					✓	✓	✓	36, 197, 198, 201, 202

Tabelle 11. Informationsmatrix: tierische Meibomdrüse

	Kaninchen	Maus	Hamster	Referenzen
↓ MG, Konj. Erythem	RA-MGD-Modell	-/- EDA	RA-MGD-Modell	102, 203, 204
↑ Duktale Keratinisierung	MGD/Epinephrin-Modell			205
↑ Sterole und Ceramide	MGD/Epinephrin-Modell			206
Atrophische Meibomdrüse mit Schädigung der Augenoberfläche			-/- ACAT-1	207
↓ Androgene Δs Lipide, Genexpression in der Meibomdrüse	kastriertes männliches Modell	kastriertes männliches Modell		208-210

oder veränderte Meibom-Lipide beim Trockenen Auge dokumentiert, sowie morphologische Abnormalitäten der Azini und Tubuli der Drüse.

Neue Daten seit 1995 zeigen eine Keratinisierung des Epithels des Ductus, eine Metaplasie der Mündung und eine verminderte Qualität der Sekrete der Meibomdrüsen bei alternden Menschen, bei Patienten mit einer antiandrogenen Therapie und/oder bei Frauen mit einem kompletten Androgenmangel (Complete Androgen Insensitivity Syndrome). Es wurden Zusammenhänge zwischen der Aufnahme von Nährstoffen (z. B. Omega-3-Fettsäuren, Vitamin B6, Vitamin D) und den polaren Lipidprofilen der Sekretionen der Meibomdrüsen bei Frauen mit einem SS hergestellt. Es wurde festgestellt, dass eine Erkrankung der Meibomdrüsen ein mitwirkender Faktor bei über 60% aller Patienten mit Trockenem Auge sein könnte (Tabelle 10).

Es fehlen immer noch Informationen über die Rolle der menschlichen Meibomdrüse bei der Tränendysfunktion beim Trockenen Auge. Die Faktoren, welche die Keratinisierung des Meibom-Ganges beeinflussen, sollten weiter untersucht werden, mit der Hypothese (die nicht neu ist), dass die Hyperkeratinisierung des Ductus ein gemeinsamer Faktor und das Schlüsselereignis ist, das zu einer Erkrankung der Meibomdrüse (MGD) führt, sowohl bei der primären, als auch der sekundären MGD.

Einige Schlüsse können aus der Literatur zur Epinephrintoxizität beim Kaninchen gezogen werden und vielleicht noch relevanter, aus der Toxizität von Retinoiden beim Menschen. Schlüsse können außerdem auch aus unerheblicher, aber interessanter Literatur gezogen werden, die nahe legt, dass Konjunktivitis (z. B. allergisch, chronisch) oder SS-Trockenes-Auge mit MGD in Verbindung stehen, mit der Implikation, dass Mediatoren (proinflammatorisch oder andere) über die Bindehaut zu den Meibomdrüsen und -gängen gelangen.

Untersuchungsansätze könnten beinhalten:

- 1) Einen Literaturüberblick über Keratinisierungsprozesse bei multiplen Epithelien;
- 2) Einen Überblick über die Mechanismen retinoider Wirkung und genetisch regulierter Prozesse, die an der Keratinisierung beteiligt sind, in der Mukosa, in transitionalen Epithelien (wie dem Epithel des Meibom-Ganges) und in der Haut;
- 3) Ein vergleichender Überblick über die möglichen Angriffspunkte der durch Retinoide kontrollierten Signalwege und der Wege unter adrenerger, insbesondere alpha-adrenerger Kontrolle, im Hinblick auf den Keratinisierungsprozess;

4) Betrachtung der Histochemie und Elektrohistochemie der Keratinisierung auf zellulärem Niveau, Marker der Keratinisierung;

5) Suche nach Retinoiden oder anderen Verbindungen, die in der Lage sind, die Wirkung von retinoiden Anti-Akne-Verbindungen zu blockieren oder rückgängig zu machen;

6) Klinische Studien über die relative Häufigkeit von MGD an Augen, die mit adrenergen Agonisten wegen eines Glaukoms behandelt werden, insbesondere bei unilateraler Anwendung von Agonisten.

Wir müssen die minimale Anzahl an Drüsen kennen, die erforderlich sind, um eine entsprechende Lipidschicht für die Tränenfilmfunktion zur Verfügung zu stellen, sowie die molekularen Mechanismen, die zu einem Verlust oder zu morphologischen Abnormalitäten der Meibomdrüsen führen. Die Kenntnis, wie sich die Lipidschicht mit der wässrigen Schicht verbindet und ob sich dies beim Trockenen Auge verändert, sowie die Definition der Rolle von Lipocalin und anderen Lipidträgern für die Stabilität des Tränenfilms sind wichtig. Wir benötigen eine umfassende qualitative und quantitative Beurteilung der Sekrete der Meibomdrüsen von normalen Probanden und von Patienten mit Trockenem Auge, die mit modernen Analysetechniken erfasst werden müssen, im Speziellen unter Anwendung der Flüssigkeitschromatographie / Massenspektrometrie, um feststellen zu können, ob sich das molare Verhältnis der kritischen im Sekret der Meibomdrüse vorhandenen Lipidarten bei der Ausbildung des Trockenen Auges verändert. Es wäre hilfreich, ein künstliches Modell der Lipidschicht des Tränenfilms erstellen zu können, das die Lipidzusammensetzung des Sekrets der Meibomdrüsen von normalen Probanden nachahmt und über ähnliche biophysikalische Eigenschaften verfügt. Es gibt offene Fragen zur Ätiologie der Obstruktion der Meibomdrüse, z. B. warum es nicht bei jedem Verschluss zu einem Chalazion (Hagelkorn) kommt?

Außerdem müssen wir mehr über altersbedingte Veränderungen der Funktion der Meibomdrüse erfahren und über die Beziehung zwischen einer Obstruktion der Meibomdrüse und der Ernährung. Die Rolle der Lipide für die Schmierfähigkeit zwischen Lid und Augenoberfläche sollte geklärt werden. Spielt die Lidinnenkante und die Epitheliopathie der Lidinnenkante beim MGD eine Rolle?

B. In-vitro- und Tiermodelle

Zum Zeitpunkt des Workshops 1995 war nur relativ wenig

über Tiermodelle zur MGD bekannt, bis auf die Keratinisierung des Ductusepithels in den Epinephrin-Kaninchenmodellen. Seither haben neue Modelle und Ergebnisse die Erkenntnis gebracht, dass ein Androgenmangel, der beim Menschen mit einer Dysfunktion der Meibomdrüsen einhergeht, die Lipidprofile des Sekrets der Meibomdrüse verändert und eine Instabilität des Tränenfilms, sowie ein evaporatives Trockenes Auge verursacht. Ein Androgenmangel bei Mäusen und Kaninchen ist mit veränderten Lipidprofilen und einer veränderten Genexpression der Meibomdrüsen verbunden (Tabelle 11).

Eine Reihe von Fragen müssen noch beantwortet werden und Grundlagenforschung mit Modellsystemen ist erforderlich, um die Rolle der Meibomdrüse bei den verschiedenen Formen des Trockenen Auges und dem Mechanismus der Tränendysfunktion zu bestimmen. Am wichtigsten ist es, Struktur und Zusammensetzung der Lipidschicht und ihre Veränderung bei der experimentellen MGD zu bestimmen. Es ist erforderlich festzustellen, welche Komponenten des Sekrets der Meibomdrüsen im Tränenfilm enthalten sind und welche Veränderung der Zusammensetzung erforderlich ist, um eine signifikante Veränderung des Schmelzpunktes und der Ausdrückbarkeit des Öls zu erhalten. Schließlich müssen wir die Struktur der Lipidschicht kennen und wie sie sich bei der MGD verändert.

IX. DER PATHOLOGIE DES TROCKENEN AUGES ZUGRUNDELIEGENDE MECHANISMEN

Basierend auf den Daten der Informationen, die in den vorangehenden Berichten zusammengetragen wurden, kam die Gruppe zu dem Schluss, dass die verfügbaren Informationen nicht ausreichen, den zugrunde liegenden Mechanismus des Trockenen Auges zu bestimmen, dass man aber eine Hypothese über die Mechanismen abgeben könnte. Die Daten legen nahe, dass das Trockene Auge multifaktoriell ist: Faktoren wie Alter, hormoneller Status, Genetik, Geschlecht, Immunstatus, Innervationsstatus, Ernährung, Erreger und Umgebungsbelastung verändern die zelluläre und molekulare Struktur / Funktion von Bestandteilen des Augenoberflächensystems. Der Begriff und das Konzept des *Augenoberflächensystems* wurde durch einen Konsens auf dem DEWS-Meeting in Miami, Florida, im Mai 2006 übernommen.

Das „Augenoberflächensystem“ ist definiert als das *feuchte und glanduläre Epithel der Kornea, der Konjunktiva, der Tränendrüsen, der akzessorischen Tränendrüsen, der ableitenden Tränenwege und der Meibomdrüsen, sowie deren apikalen und basalen Matrices, die über die Kontinuität des Epithels, die Innervation und das endokrine und Immunsystem als funktionales System miteinander verbunden sind.* (Weitere Erläuterungen siehe bei Gipson, 2007²¹¹). Außerdem gehören auch Teile des Augenlids zum Augenoberflächensystem. Die Gründe für die Beschreibung der Einheit als *Augenoberflächensystem* sind vielschichtig. Als erstes sind die primären Funktionen des Systems, der Kornea (Augenoberfläche) eine glatte, refraktive Oberfläche zu geben und diese Oberfläche zu schützen und zu erhalten. So steht der Name *Augenoberflächensystem* mit seiner primären Funktion an der Augenoberfläche in Verbindung. Zum Zweiten stehen sämtliche Epithelien der Augenoberfläche kontinuierlich

miteinander in Verbindung und stammen embryologisch vom Oberflächenektoderm ab. Die kornealen und konjunktivalen Epithelien stehen über das Epithel des Ductus mit der Tränendrüse und dem Drüsenepithel in Verbindung, das gleiche gilt für die akzessorischen Tränendrüsen, die Meibomdrüsen und die ableitenden Tränenwege. Die Drüsenysteme sind in Wirklichkeit Einstülpungen und Spezialisierungen des Augenoberflächenepithels. Zum Dritten produzieren alle Bereiche des Epithels Bestandteile des Tränenfilms. Die Funktionen der verschiedenen Bereiche des durchgehenden Epithels werden über das Nervensystem, das endokrine System, das Immunsystem und das vaskuläre System gesteuert und durch das Bindegewebe mit seinen ansässigen Zellen unterstützt. Schließlich beeinträchtigt das Trockene Auge die Augenoberfläche und wird dort diagnostiziert.

*Der Begriff *Augenoberflächensystem* stellt eine Weiterentwicklung der *Lakrimalen Funktionellen Einheit* dar, die zuvor von Stern, Pflugfelder und Beuerman beschrieben wurde²¹²⁻²¹⁵, und an anderer Stelle in dieser Beilage detailliert besprochen wird (Kapitel 1: Definition und Klassifikation).²¹⁶ Veränderungen eines oder mehrerer Bestandteile des Augenoberflächensystems oder seiner Sekrete haben Veränderungen des Tränenfilms oder der Zusammensetzung der epithelialen Korneaoberfläche zur Folge (z. B. Tränenosmolarität, -volumen), was zu einer Prädisposition für Austrocknen und Epithelschäden führt (wie durch die Farbstoffpenetration nachgewiesen). Epithelschäden lösen die Freisetzung von Entzündungsmediatoren aus. Eine vorhandene Entzündung verstärkt und erhält weitere Schäden durch eine chronische Deregulation des Augenoberflächensystems aufrecht.

LITERATUR

1. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry Workshop on clinical trials in dry eyes. *CLAO J* 1995;21:221-2
2. Gilbard JP, Farris RL, Santamaria J 2nd. Osmolarity of tear microvolumes in keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol* 1978;96:677-81
3. Farris RL, Gilbard JP, Stuchell RN, Mandell UD. Diagnostic tests in keratoconjunctivitis sicca. *CLAO J* 1983;9:23-8
4. Nichols JJ, Sinnott, LT. Tear film, contact lens, and patient-related factors associated with contact lens-related dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:1319-28
5. Krenzer KL, Dana MR, Ullman MD, et al. Effect of androgen deficiency on the human meibomian gland and ocular surface. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4874-82
6. Mathers WD, Shields WJ, Sachdev MS, et al. Meibomian gland dysfunction in chronic blepharitis. *Cornea* 1991;10:277-285
7. Tsubota, K and Yamada, M. Tear evaporation from the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:2942-50
8. Mathers WD, Daley TE. Tear flow and evaporation in patients with and without dry eye. *Ophthalmology* 1996;103:664-9
9. Goto E, Endo K, Suzuki A, et al. Tear evaporation dynamics in normal subjects and subjects with obstructive meibomian gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:533-9
10. Cermak JM, Krenzer KL, Sullivan RM, et al. Is complete androgen insensitivity syndrome associated with alterations in the meibomian gland and ocular surface? *Cornea* 2003;22:516-21
11. Mainstone JC, Bruce AS, Golding TR. Tear meniscus measurement in the diagnosis of dry eye. *Curr Eye Res* 1996;15:653-61
12. Kallarakal GU, Ansari EA, Amos N, et al. A comparative study to assess the clinical use of fluorescein meniscus time (FMT) with tear break up time (TFBUT) and Schirmer's tests (ST) in the diagnosis of dry eyes. *Eye* 2002;16:594-600
13. Savini G, Barboni P, Zanini M. Tear meniscus evaluation by optical coherence

*Bemerkung des Protokollkomitees

- tomography. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2006;37:112-8
14. Craig JP, Tomlinson A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optom Vis Sci* 1997;74:8-13
 15. Craig JP, Singh I, Tomlinson A, et al. The role of tear physiology in ocular surface temperature. *Eye* 2000;14 (Pt 4):635-41
 16. Tiffany JM, Winter N, Bliss G. Tear film stability and tear surface tension. *Curr Eye Res* 1989;8:507-15
 17. Nagyova, B, Tiffany JM. Components responsible for the surface tension of human tears. *Curr Eye Res* 1999;19:4-11.
 18. Glasson MJ, Stapleton F, Keay L, et al. Differences in clinical parameters and tear film of tolerant and intolerant contact lens wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:5116-24
 19. Begley CG, Chalmers RL, Abetz L, et al. The relationship between habitual patient-reported symptoms and clinical signs among patients with dry eye of varying severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4753-61
 20. Yamada M, Mochizuki H, Kawai M, et al. Decreased tear lipocalin concentration in patients with meibomian gland dysfunction. *Br J Ophthalmol* 2005;89:803-5
 21. Dohlman CH, Friend J, Kalevar V, et al. The glycoprotein (mucus) content of tears from normals and dry eye patients. *Exp Eye Res* 1976;22:359-65
 22. Argueso P, Balam M, Spurr-Michaud S, et al. Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:1004-11
 23. Zhao H, Jumblatt JE, Wood TO, Jumblatt MM. Quantification of MUC5AC protein in human tears. *Cornea* 2001;20:873-7
 24. Goto E, Tseng SC. Differentiation of lipid tear deficiency dry eye by kinetic analysis of tear interference images. *Arch Ophthalmol* 2003;121:173-80
 25. Danjo Y, Hamano T. Observation of precorneal tear film in patients with Sjogren's syndrome. *Acta Ophthalmol Scand* 1995;73:501-5
 26. Shine WE, McCulley JP. Keratoconjunctivitis sicca associated with meibomian secretion polar lipid abnormality. *Arch Ophthalmol* 1998;116:849-52
 27. Grus FH, Sabuncuo P, Herber S, Augustin AJ. Analysis of tear protein patterns for the diagnosis of dry eye. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:1213-6
 28. Ohashi Y, Ishida R, Kojima T, et al. Abnormal protein profiles in tears with dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2003;136:291-9
 29. Virtanen T, Kontinen YT, Harkonen M, Tervo T. Tear fluid plasmin activity of dry eye patients with Sjogren's syndrome. *Acta Ophthalmol Scand* 1997;75:137-41
 30. Afonso AA, Sobrin L, Monroy DC, et al. Tear fluid gelatinase B activity correlates with IL-1alpha concentration and fluorescein clearance in ocular rosacea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:2506-12
 31. Sobrin L, Liu A, Monroy DC, et al. Regulation of MMP-9 activity in human tear fluid and corneal epithelial culture supernatant. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1703-9
 32. Grus FH, Podust VN, Bruns K, et al. SELDI-TOF-MS ProteinChip array profiling of tears from patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46: 863-76
 33. Danjo Y, Lee M, Horimoto K, Hamano T. Ocular surface damage and tear lactoferrin in dry eye syndrome. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1994;72:433-7
 34. Koo BS, Lee DY, Ha HS, et al. Comparative analysis of the tear protein expression in blepharitis patients using two-dimensional electrophoresis. *J Proteome Res* 2005;4:719-24
 35. Seal DV. The effect of aging and disease on tear constituents. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1985;104 (Pt 4):355-62
 36. Glasson, M, Stapleton F, Willcox M. Lipid, lipase and lipocalin differences between tolerant and intolerant contact lens wearers. *Curr Eye Res* 2002;25:227-35
 37. Aho VV, Nevalainen TJ, Paavilainen V, Saari KM. Group IIA phospholipase A2 content of tears in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002 Jul;240(7):521-3
 38. Tishler M, Yaron I, Geyer O, et al. Elevated tear interleukin-6 levels in patients with Sjogren syndrome. *Ophthalmology* 1998;105:2327-9
 39. Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, et al. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjogren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 99;19:201-11
 40. Solomon A, Dursun D, Liu Z, et al. Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2283-92
 41. Molloy MP, Bolis S, Herbert BR, et al. Establishment of the human reflex tear 2D-PAGE reference map: a first step towards the diagnosis of disease. *Electrophoresis* 1997;18: 2811-5
 42. Tsai PS, Evans JE, Green KM, et al. Proteomic analysis of human meibomian gland secretions. *Br J Ophthalmol* 2006;90:372-7
 43. Mulvenna I, Stapleton F, Hains PG, et al. Low molecular weight analysis of tears using matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Clin Experiment Ophthalmol* 2000;28:205-7
 44. Fung K, Morris C, Duncan M. Mass spectrometric techniques applied to the analysis of human tears: a focus on the peptide and protein constituents. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(PtA):601-5
 45. Ham BM, Jacob JT, Keese MM, Cole RB. Identification, quantification and comparison of major non-polar lipids in normal and dry eye tear lipidomes by electrospray tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 2004;39:1321-36
 46. Gipson IK, Spurr-Michaud SJ, Argueso P, et al. Mucin gene expression in immortalized human corneal-limbal and conjunctival epithelial cell lines. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:2496-506
 47. Robertson DM, Li L, Fisher S, et al. Characterization of growth and differentiation in a telomerase-immortalized human corneal epithelial cell line. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:470-8
 48. Gilbard JP, Rossi SR, Heyda KG. Tear film and ocular surface changes after closure of the meibomian gland orifices in the rabbit. *Ophthalmology* 1989;96:1180-6
 49. Stewart P, Chen Z, Farley W, et al. Effect of experimental dry eye on tear sodium concentration in the mouse. *Eye Contact Lens* 2005;31:175-8
 50. Gilbard JP, Rossi SR, Gray KL, et al. Tear film osmolarity and ocular surface disease in two rabbit models for keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988;29:374-8
 51. Nagelhout TJ, Gamache DA, Roberts L, et al. Preservation of tear film integrity and inhibition of corneal injury by dexamethasone in a rabbit model of lacrimal gland inflammation-induced dry eye. *J Ocul Pharmacol Ther* 2005;21:139-48.
 52. Salvatore MF, Pedroza L, Beuerman RW. Denervation of rabbit lacrimal gland increases levels of transferrin and unidentified tear proteins of 44 and 36 kDa. *Curr Eye Res* 1999;18:455-66.
 53. Song XJ, Li DQ, Farley W, et al. Neurturin-deficient mice develop dry eye and keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4223-9
 54. Poon AC, Geerling G, Dart JK, et al. Autologous serum eye drops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol* 2001;85:1188-97
 55. Ralph RA. Conjunctival goblet cell density in normal subjects and in dry eye syndromes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1975;14:299-302
 56. Nelson JD, Havener VR, Cameron JD. Cellulose acetate impressions of the ocular surface. Dry eye states. *Arch Ophthalmol* 1983;101:1869-72
 57. Pflugfelder SC, Tseng SC, Yoshino K, et al. 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
 58. Blodi BA, Byrne KA, Tabbara KF. Goblet cell population among patients with inactive trachoma. *Int Ophthalmol* 1988;12:41-5
 59. Sommer A. Treatment of corneal xerophthalmia with topical retinoic acid. *Am J Ophthalmol* 1983;95:349-52
 60. Lievens CW, Connor CG, Murphy H. Comparing goblet cell densities in patients wearing disposable hydrogel contact lenses versus silicone hydrogel contact lenses in an extended-wear modality. *Eye Contact Lens* 2003;29:241-4.
 61. Albietz JM, McLennan SG, Lenton LM. Ocular surface management of photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg* 2003;19:636-44
 62. Versura P, Maltarello MC, Cellini M, et al. 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
 63. Garcher C, Bron AJ, Baudouin C, et al. CA 19-9 ELISA test: a new method for studying mucus changes in tears. *Br J Ophthalmol* 1998;82:88-90
 64. Versura P, Maltarello MC, Cellini M, et al. Detection of mucus glycoconjugates in human conjunctiva by using the lectin-colloidal gold technique in TEM. III. A quantitative study in asymptomatic contact lens wearers. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1987;65:661-7
 65. Hayashi Y, Kao WW, Kohno N, 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
 66. Argueso P, Tisdale A, Mandel U, et al. 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
 67. Danjo Y, Watanabe H, Tisdale AS, et al. Alteration of mucin in human conjunctival epithelia in dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:2602-9
 68. Koufakis DI, Karabatsas CH, Sakkas LI, et al. Conjunctival surface changes

- in patients with Sjogren's syndrome: a transmission electron microscopy study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:541-4
69. Albiets J, Sanfilippo P, Troutbeck R, Lenton LM. Management of filamentary keratitis associated with aqueous-deficient dry eye. *Optom Vis Sci* 2003;80:420-30
 70. Murube J, Rivas L. Biopsy of the conjunctiva in dry eye patients establishes a correlation between squamous metaplasia and dry eye clinical severity. *Eur J Ophthalmol* 2003;13:246-56
 71. 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
 72. Meller D. The fine structure of chromatin alterations in conjunctival epithelial cells in keratoconjunctivitis sicca. *Cornea* 1999;18:225-32
 73. Albiets JM, Bruce AS. The conjunctival epithelium in dry eye subtypes: effect of preserved and non-preserved topical treatments. *Curr Eye Res* 2001;22:8-18
 74. Bjerrum KB. Snake-like chromatin in conjunctival cells of normal elderly persons and of patients with primary Sjogren's syndrome and other connective tissue diseases. *Acta Ophthalmol Scand* 1995;73:33-6
 75. Brignole F, Pisella PJ, De Saint Jean M, et al. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1356-63
 76. Benitez del Castillo JM, Wasfy MA, Fernandez C, Garcia-Sanchez J. An in vivo confocal masked study on corneal epithelium and subbasal nerves in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:3030-5
 77. Xu KP, Yagi Y, Tsubota K. Decrease in corneal sensitivity and change in tear function in dry eye. *Cornea* 1996;15:235-9
 78. Horwath-Winter J, Vidic B, Schantzer G, Schmut O. Early changes in corneal sensation, ocular surface integrity, and tear-film function after laser-assisted subepithelial keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 2004;30:2316-21
 79. Hovanesian JA, Shah SS, Maloney RK. Symptoms of dry eye and recurrent erosion syndrome after refractive surgery. *J Cataract Refract Surg* 2001;27:577-84
 80. Wilson SE. Laser in situ keratomileusis-induced (presumed) neurotrophic epitheliopathy. *Ophthalmology* 2001;108:1082-7
 81. Scott IU, Flynn HW Jr, Feuer W, et al. Endophthalmitis associated with microbial keratitis. *Ophthalmology* 1996;103:1864-70
 82. 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
 83. Nakamura T, Nishida K, Dota A, et al. Elevated expression of transglutaminase 1 and keratinization-related proteins in conjunctiva in severe ocular surface disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:549-56
 84. Nakamura T, Nishida K, Dota A, Kinoshita S. Changes in conjunctival clusterin expression in severe ocular surface disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:1702-7
 85. Narayanan S, Miller WL, McDermott AM. Conjunctival cytokine expression in symptomatic moderate dry eye subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:2445-50
 86. Argueso P, Tisdale A, Spurr-Michaud S, et al. Mucin characteristics of human corneal-limbal epithelial cells that exclude the rose bengal anionic dye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:113-9
 87. Hatchell DL, Sommer A. Detection of ocular surface abnormalities in experimental vitamin A deficiency. *Arch Ophthalmol* 1984;102:1389-93
 88. Gilbard JP, Rossi SR. Tear film and ocular surface changes in a rabbit model of neurotrophic keratitis. *Ophthalmology* 1990;97:308-12
 89. Tei M, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Gipson IK. Vitamin A deficiency alters the expression of mucin genes by the rat ocular surface epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:82-8
 90. Dursun D, Wang M, Monroy D, et al. A mouse model of keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:632-8
 91. Ueta M, Hamuro A, Yamamoto M, et al. Spontaneous ocular surface inflammation and goblet cell disappearance in I kappa B zeta gene-disrupted mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:579-88
 92. Corfield AP, Donapaty SR, Carrington SD, et al. Identification of 9-O-acetyl-N-acetylneuraminic acid in normal canine pre-ocular tear film secreted mucins and its depletion in keratoconjunctivitis sicca. *Glycoconj J* 2005;22:409-16
 93. Tsubota K, Goto E, Fujita H, et al. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjogren's syndrome. *Br J Ophthalmol* 1999;83:390-5
 94. Hori Y, Spurr-Michaud S, Russo CL, et al. Differential regulation of membrane-associated mucins in the human ocular surface epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:114-22
 95. Tseng SC, Hatchell D, Tierney N, et al. Expression of specific keratin markers by rabbit corneal, conjunctival, and esophageal epithelia during vitamin A deficiency. *J Cell Biol* 1984;99:2279-86
 96. Gao J, Schwalb TA, Addeo JV, et al. The role of apoptosis in the pathogenesis of canine keratoconjunctivitis sicca: the effect of topical Cyclosporin A therapy. *Cornea* 1998;17:654-63
 97. Toshino A, Shiraishi A, Zhang W, et al. Expression of keratinocyte transglutaminase in cornea of vitamin A-deficient rats. *Curr Eye Res* 2005;30:731-9
 98. Yeh S, Song XJ, Farley W, et al. Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:124-9
 99. Luo L, Li DQ, Doshi A, et al. 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
 100. Li DQ, Chen Z, Song XJ, et al. Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4302-11
 101. Li DQ, Luo L, Chen Z, et al. JNK and ERK MAP kinases mediate induction of IL-1beta, TNF-alpha and IL-8 following hyperosmolar stress in human limbal epithelial cells. *Exp Eye Res* 2006;82:588-96
 102. 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
 103. Rojas B, Cunha R, Zafirakis P, et al. Cell populations and adhesion molecules expression in conjunctiva before and after bone marrow transplantation. *Exp Eye Res* 2005;81:313-25
 104. Raphael M, Bellefghis S, Piette JC, et al. Conjunctival biopsy in Sjogren's syndrome: Correlations between histological and immunohistochemical features. *Histopathology* 1988;13:191-202
 105. Stern ME, Gao J, Schwalb TA, 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
 106. Pflugfelder SC, Huang AJ, Feuer W, et al. Conjunctival cytologic features of primary Sjogren's syndrome. *Ophthalmology* 1990;97:985-91
 107. Ogawa Y, Kuwana M, Yamazaki K, et al. Periductal area as the primary site for T-cell activation in lacrimal gland chronic graft-versus-host disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:1888-96
 108. Ogawa Y, Yamazaki K, Kuwana M, et al. A significant role of stromal fibroblasts in rapidly progressive dry eye in patients with chronic GVHD. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:111-9
 109. Gulati A, Sacchetti M, Bonini A, Dana MR. Chemokine receptor CCR5 expression in conjunctival epithelium of patients with dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol* 2006;124:710-6
 110. 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
 111. Aronni S, Cortes M, Sacchetti M, et al. Upregulation of ICAM-1 expression in the conjunctiva of patients with chronic graft-versus-host disease. *Eur J Ophthalmol* 2006;16:17-23
 112. Tsubota K, Fujihara T, Saito K, Takeuchi T. Conjunctival epithelium expression of HLA-DR in dry eye patients. *Ophthalmologica* 1999;213:16-9
 113. Jones DT, Monroy D, Ji Z, et al. Sjogren's syndrome: cytokine and Epstein-Barr viral gene expression within the conjunctival epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3493-3504
 114. Ogawa Y, Kodama H, Kameyama K, et al. Donor fibroblast chimerism in the pathogenic fibrotic lesion of human chronic graft-versus-host disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:4519-27
 115. Matsumoto I, Tsubota K, Satake Y, et al. Common T cell receptor clonotype in lacrimal glands and labial salivary glands from patients with Sjogren's syndrome. *J Clin Invest* 1996;97:1969-77
 116. Pepose JS, Akata RF, Pflugfelder SC, Voight W. Mononuclear cell phenotypes and immunoglobulin gene rearrangements in lacrimal gland biopsies from patients with Sjogren's syndrome. *Ophthalmology* 1990;97:1599-605
 117. Williamson J, Gibson AA, Wilson T, et al. Histology of the lacrimal gland in keratoconjunctivitis sicca. *Br J Ophthalmol* 1973;57:852-8
 118. Gao J, Morgan G, Tieu D, et al. ICAM-1 expression predisposes ocular tissues to immune-based inflammation in dry eye patients and Sjogren's syndrome-like MRL/lpr mice. *Exp Eye Res* 2004;78:823-35
 119. Sullivan D, et al. Aqueous tear deficiency in Sjogren's syndrome: Possible causes and potential treatment, in Pleyer U, et al (eds). *Oculodermal diseases—immunology of bullous oculo-muco-cutaneous disorders*. Buren, The Netherlands, Aeolus Press, 1997, pp 95-152
 120. Zoukhri D. Effect of inflammation on lacrimal gland function. *Exp Eye Res* 2006;82:885-98

121. Tsubota K, Fujita H, Tsuzaka K, Takeuchi T. Quantitative analysis of lacrimal gland function, apoptotic figures, Fas and Fas ligand expression of lacrimal glands in dry eye patients. *Exp Eye Res* 2003;76:233-40
122. Saito I, Terauchi K, Shimuta M, et al. Expression of cell adhesion molecules in the salivary and lacrimal glands of Sjogren's syndrome. *J Clin Lab Anal* 1993;7:180-7
123. Ono M, Yoshino K, Tsubota K, Saito I. Subclass expression of IgA in lacrimal glands of patients with Sjogren's syndrome. *Adv Exp Med Biol* 1994;350:185-8
124. Zhan H, Towler HM, Calder VL. The immunomodulatory role of human conjunctival epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:3906-10
125. Barabino S, Shen L, Chen L, et al. The controlled-environment chamber: a new mouse model of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2766-71
126. Niederhorn J, Stern ME, Pflugfelder SC, et al. Desiccating stress induces T cell-mediated Sjogren's syndrome-like lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol* 2006;176:3950-57
127. van Blokland SC, Versnel MA. Pathogenesis of Sjogren's syndrome: characteristics of different mouse models for autoimmune exocrinopathy. *Clin Immunol* 2002;103:111-24
128. Hassan AS, Clouthier SG, Ferrara JL, et al. Lacrimal gland involvement in graft-versus-host disease: a murine model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2692-7
129. Yang T, Zeng H, Zhang J, et al. MHC class II molecules, cathepsins, and La/SSB proteins in lacrimal acinar cell endomembranes. *Am J Physiol* 1999;277:C994-C1007
130. McDermott A, Perez V, Huang AJ, et al. Pathways of corneal and ocular surface inflammation: A perspective from the Cullen Symposium. *Ocul Surf* 2005;3:S131-S138
131. Lee-Wing MW, Hodge WG, Diaz-Mitoma F. Investigating a viral etiology for keratoconjunctivitis sicca among patients who are positive for human immunodeficiency virus. *Cornea* 1999;18:671-4
132. Matoba AY. Ocular disease associated with Epstein-Barr virus infection. *Surv Ophthalmol* 1990;35:145-50
133. Tsubota K, Fujishima H, Toda I, et al. Increased levels of Epstein-Barr virus DNA in lacrimal glands of Sjogren's syndrome patients. *Acta Ophthalmol Scand* 1995;73:425-30
134. Zegans ME, Anninger W, Chapman C, Gordon SR. Ocular manifestations of hepatitis C virus infection. *Curr Opin Ophthalmol* 2002;13:423-7
135. Merayo-Lloves J, Baltatzis S, Foster CS. Epstein-Barr virus dacryoadenitis resulting in keratoconjunctivitis sicca in a child. *Am J Ophthalmol* 2001;132:922-3
136. Bacman S, Perez-Leiros C, Sterin-Borda L, et al. Autoantibodies against lacrimal gland M3 muscarinic acetylcholine receptors in patients with primary Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:151-6
137. Tsubota K, Fujihara T, Takeuchi T. Soluble interleukin-2 receptors and serum autoantibodies in dry eye patients: correlation with lacrimal gland function. *Cornea* 1997;16:339-44
138. Paulsen F, Langer G, Hoffman W, Berry M. Human lacrimal gland mucins. *Cell Tissue Res* 2004;316:167-77
139. Rivas L, Murube J, Toledano A. [Innervation of the lachrymal gland in patients with primary Sjogren's syndrome. An immunohistopathological study]. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2002;77:623-29
140. 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
141. McCarty CA, Bansal AK, Livingston PM, et al. The epidemiology of dry eye in Melbourne, Australia. *Ophthalmology* 1998;105:1114-9
142. Gillette T, Allansmith MR, Greiner JV, Janusz M. Histologic and immunohistologic comparison of main and accessory lacrimal tissue. *Am J Ophthalmol* 1980;89:724-30
143. Seifert P, Spitznas M, Koch F, Cusumano A. The architecture of human accessory lacrimal glands. *Ger J Ophthalmol* 1993;2:444-54
144. 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
145. Hunt S, Spitznas M, Seifert P, Rauwolf M. Organ culture of human main and accessory lacrimal glands and their secretory behaviour. *Exp Eye Res* 1996;62:541-54
146. Seifert P, Spitznas M. Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) innervation of the human eyelid glands. *Exp Eye Res* 1999;68:685-92
147. Esmaeli-Gutstein B, Hewlett BR, Harvey JT. Characterization of adrenergic receptors in the accessory lacrimal glands of the upper eyelid. *Ophthalm Plast Reconstr Surg* 1999;15:245-51
148. Gillette TE, Greiner JV, Allansmith MR. Immunohistochemical localization of human tear lysozyme. *Arch Ophthalmol* 1981;99:298-300
149. Obata H, Horiuchi H, Dobashi Y, et al. Immunohistochemical localization of epidermal growth factor in human main and accessory lacrimal glands. *Jpn J Ophthalmol* 1993;37:113-21
150. Yen MT, Pflugfelder SC, Feuer WJ. The effect of punctal occlusion on tear production, tear clearance, and ocular surface sensation in normal subjects. *Am J Ophthalmol* 2001;131:314-23.
151. Ayub M, Thale AB, Hedderich J, et al. The cavernous body of the human efferent tear ducts contributes to regulation of tear outflow. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4900-7
152. Paulsen FP, Thale AB, Hallman UJ, et al. The cavernous body of the human efferent tear ducts: function in tear outflow mechanism. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:965-70
153. Guo Z, Azzarolo AM, Schechter JE, et al. Lacrimal gland epithelial cells stimulate proliferation in autologous lymphocyte preparations. *Exp Eye Res* 2000;71:11-22
154. Guo Z, Song D, Azzarolo AM, et al. Autologous lacrimal-lymphoid mixed-cell reactions induce dacryoadenitis in rabbits. *Exp Eye Res* 2000;71:23-31
155. Zhu Z. Lacrimal histopathology and ocular surface disease in a rabbit model of autoimmune dacryoadenitis. *Cornea* 2003;22:25-32
156. Franklin R, McGee DW, Shepard KF. Lacrimal gland-directed B cell responses. *J Immunol* 1985;135:95-99
157. Liu S, Zhou DH, Franklin RM. Lacrimal gland-derived lymphocyte proliferation potentiating factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:650-7
158. Jabs DA, Enger C, Prendergast RA. Murine models of Sjogren's syndrome. Evolution of the lacrimal gland inflammatory lesions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:371-80
159. Jabs DA, Prendergast RA, Rorer EM, et al. Cytokines in autoimmune lacrimal gland disease in MRL/MpJ mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2567-71
160. Akpek EK, Jabs DA, Gerard HC, et al. Chemokines in autoimmune lacrimal gland disease in MRL/MpJ mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:185-90
161. Sato EH, Ariga H, Sullivan DA. Impact of androgen therapy in Sjogren's syndrome: hormonal influence on lymphocyte populations and Ia expression in lacrimal glands of MRL/Mp-lpr/lpr mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:2537-45
162. Rocha E, Wickham LA, Huang Z, et al. Presence and testosterone influence on the levels of anti- and pro-inflammatory cytokines in lacrimal tissues of a mouse model of Sjogren's syndrome. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:485-91
163. 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
164. 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
165. Tornwall J, Lane TE, Fox RI, Fox HS. T cell attractant chemokine expression initiates lacrimal gland destruction in nonobese diabetic mice. *Lab Invest* 1999;79:1719-26
166. Robinson CP, Cornelius J, Bounous DE, et al. Characterization of the changing lymphocyte populations and cytokine expression in the exocrine tissues of autoimmune NOD mice. *Autoimmunity* 1998;27:29-44
167. 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
168. Sullivan DA, Edwards JA. Androgen stimulation of lacrimal gland function in mouse models of Sjogren's syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997;60:237-45
169. 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
170. Sato E, Sullivan D. Comparative influence of steroid hormones and immunosuppressive agents on autoimmune expression in lacrimal glands of a female mouse model of Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:2632-42
171. Rocha F, et al. Effect of androgen analogue treatment and androgen withdrawal on lacrimal gland inflammation in a mouse model (MRL/Mp-lpr/lpr) of Sjogren's syndrome. *Reg Immunol* 1994;6:270-7
172. Liu SH, Prendergast RA, Silverstein AM. Experimental autoimmune dacryoadenitis. I. Lacrimal gland disease in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1987;28:270-5
173. Mizejewski G. Studies of autoimmune induction in the rat lacrimal gland. *Experientia* 1978;34:1093-5

174. Huang Z, Lambert RW, Wickham LA, Sullivan DA. Analysis of cytomegalovirus infection and replication in acinar epithelial cells of the rat lacrimal gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:1174-86
175. Stern M. Ocular surface inflammation: a causative factor in dry eye. *J Rheumatol* 1997;50(Suppl):42
176. Gao J, Stern M. Modulators of apoptosis in the lacrimal gland of dry eye dogs. *J Rheumatol* 1997;50(Suppl):43
177. Liu SH, Zhou DH, Hess AD. Adoptive transfer of experimental autoimmune dacryoadenitis in susceptible and resistant mice. *Cell Immunol* 1993;150:311-20
178. Ono M, Rocha FJ, Sullivan DA. Immunocytochemical location and hormonal control of androgen receptors in lacrimal tissues of the female MRL/Mp-lpr/lpr mouse model of Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res* 1995;61:659-66
179. Yamamoto H, Sims NE, Maccauley SP, et al. Alterations in the secretory response of non-obese diabetic (NOD) mice to muscarinic receptor stimulation. *Clin Immunol Immunopathol* 1996;78:245-55
180. Winer S, Astsaturov I, Cheung R, et al. Primary Sjogren's syndrome and deficiency of ICA69. *Lancet* 2002;360:1063-9
181. Zoukhri D, Kublin CL. Impaired neurotransmitter release from lacrimal and salivary gland nerves of a murine model of Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:925-32
182. Haneji N, Nakamura T, Takio K, et al. Identification of alpha-fodrin as a candidate autoantigen in primary Sjogren's syndrome. *Science* 1997;276:604-7
183. Fang Y, Choi D, Searles RP, Mathers WD. A time course microarray study of gene expression in the mouse lacrimal gland after acute corneal trauma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:461-9
184. Paulsen FP, Foge M, Thale AB, et al. Animal model for the absorption of lipophilic substances from tear fluid by the epithelium of the nasolacrimal ducts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:3137-43
185. Paulsen F, Thale AB, Mentlein R. What happens to tears inside the efferent lacrimal passage? An animal experimental study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2000;238:496-9
186. Hirt RA. Comparative anatomy of the canine efferent tear duct system with regard to mucin production. *Ann Anat Suppl* 2003;185:259-260
187. Rios JD, Horikawa Y, Chen LL, et al. Age-dependent alterations in mouse exorbital lacrimal gland structure, innervation and secretory response. *Exp Eye Res* 2005;80:477-91
188. Sullivan BD, Cermak JM, Sullivan RM, et al. Correlations between nutrient intake and the polar lipid profiles of meibomian gland secretions in women with Sjogren's syndrome. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt A):441-7
189. Robin JB, Jester JV, Nobe J, et al. In vivo transillumination biomicroscopy and photography of meibomian gland dysfunction. A clinical study. *Ophthalmology* 1985;92:1423-6
190. Gutgesell VJ, Stern GA, Hood CI. Histopathology of meibomian gland dysfunction. *Am J Ophthalmol* 1982;94:383-7
191. Matsuoka T. Video-meibographic observations of the meibomian gland. *Jpn J Clin Ophthalmol* 1996;50:351-4
192. Yokoi N, Mossa F, Tiffany JM, Bron AJ. Assessment of meibomian gland function in dry eye by meibometry. *Arch Ophthalmol* 1999;117:723-9
193. Hykin PG, Bron AJ. Age-related morphological changes in lid margin and meibomian gland anatomy. *Cornea* 1992;11:334-42
194. Shimazaki J, Goto E, Ono M, et al. Meibomian gland dysfunction in patients with Sjogren syndrome. *Ophthalmology* 1998;105:1485-8
195. Shimazaki J, Sakata M, Tsuboto K. Ocular surface changes and discomfort in patients with meibomian gland dysfunction. *Arch Ophthalmol* 1995;113:1266-70
196. Sullivan BD, Evans JE, Dana MR, Sullivan DA. Impact of androgen deficiency on the lipid profiles in human meibomian gland secretions. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt A):449-58
197. Sullivan BD, Evans JE, Krenzer KL, et al. Impact of antiandrogen treatment on the fatty acid profile of neutral lipids in human meibomian gland secretions. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4866-73
198. Sullivan BD, Evans JE, Cermak JM, et al. Complete androgen insensitivity syndrome: effect on human meibomian gland secretions. *Arch Ophthalmol* 2002;120:1689-99
199. Ong BL, Larke JR. Meibomian gland dysfunction: some clinical, biochemical and physical observations. *Ophthalmic Physiol Opt* 1990;10:144-8
200. Dougherty JM, McCulley JP. Bacterial lipases and chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986;27:486-91
201. Isreb MA, Greiner VJ, Korb DR, et al. Correlation of lipid layer thickness measurements with fluorescein tear film break-up time and Schirmer's test. *Eye* 2003;17:79-83
202. 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
203. Lambert RW, Smith RE. Pathogenesis of blepharoconjunctivitis complicating 13-cis-retinoic acid (isotretinoin) therapy in a laboratory model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988;29:1559-64
204. Lambert RW, Smith RE. Effects of 13-cis-retinoic acid on the hamster meibomian gland. *J Invest Dermatol* 1989;92:321-5
205. Jester JV, Nicolaides 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
206. Nicolaides N, Santos EC, Smith RE, Jester JV. Meibomian gland dysfunction. III. Meibomian gland lipids. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:946-51
207. Yagyu H, Kitamine T, Osuga J, 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
208. Steagall R, Yamagami H, Wickham LA, Sullivan DA. Androgen control of gene expression in the rabbit meibomian gland. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt A):465-476.
209. Sullivan DA, Sullivan BD, Ullman MD, et al. Androgen influence on the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3732-42
210. Schirra F, Suzuki T, Richards SM, et al. Androgen control of gene expression in the mouse meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3666-75
211. Gipson IK. Friedenwald Lecture: The ocular surface: the challenge to enable and protect vision. *Invest Ophthalmol Vis Sci* (2007, in press)
212. Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, et al. The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea* 1998;17:584-9
213. Pflugfelder SC, Solomon A, Stern ME. The diagnosis and management of dry eye: a twenty-five year review. *Cornea* 2000;19:644-9
214. Beuerman RW, Mircheff AK, Pflugfelder SC, Stern ME. The lacrimal functional unit, in Pflugfelder SC, Stern ME, Beuerman RW. Dry eye and the ocular surface—a unified approach. New York, Marcel Dekker, 2004
215. Stern ME, Gao J, Siemasko KF, et al. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004;78:409-16
216. (No authors listed) Definition and classification of dry eye: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the 2007 Dry Eye Workshop. *Ocul Surf* 2007;5:75-92