

Investigación en Ojo Seco: *Informe del Subcomité de Investigación del Taller Internacional para Ojo Seco (2007)*

RESUMEN Los miembros del Subcomité de Investigación del DEWS revisaron las investigaciones sobre los mecanismos básicos que subyacen a la enfermedad de ojo seco. Se evaluó la evidencia en lo relativo a la película lagrimal, a la glándula lagrimal y las glándulas lagrimales accesorias, al epitelio de la superficie ocular (incluyendo la córnea y la conjuntiva), a las glándulas meibomianas, al sistema del conducto lagrimal y al sistema inmune. Se consideraron tanto los datos de investigación en animales como en humanos. Los resultados se presentan como una serie de matrices de información, identificando lo que se conoce y proporcionando las referencias que lo sustentan. Se intenta identificar las áreas para nuevas investigaciones.

PALABRAS CLAVE DEWS, ojo seco, Taller sobre Ojo Seco, mecanismos de ojo seco, patología del ojo seco

I. INTRODUCCIÓN

Los miembros del Subcomité de Investigación se agruparon según sus áreas particulares de especialización y se les pidió revisar la evidencia de los mecanismos básicos de la patología de ojo seco dentro de dicha área. Para facilitar el proceso se elaboró una plantilla estandarizada (Formulario para el Informe del Comité de Investigación DEWS - Apéndice 1 [acceso en: www.tearfilm.org]), que los miembros utilizaron para presentar sus hallazgos. Se elaboraron matrices de información basadas en la información obtenida a partir de los informes.

Se evaluó la evidencia asociada a la película lagrimal, a la glándula lagrimal y las glándulas lagrimales accesorias,

Aprobado para publicación Enero 2007.

Miembros del Subcomité de Investigación: **Ilene K. Gipson, PhD (Director)**; 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.

Los derechos de propiedad de los miembros del Subcomité se dan a conocer en las páginas 202 y 204.

No hay reimpresiones disponibles. Se puede acceder a los artículos en: www.tearfilm.org

La correspondencia relacionada con este capítulo del Informe del Taller sobre ojo seco debe dirigirse a: Ilene K. Gipson PhD, Schepens Eye Research Inst, 20 Staniford Street, Boston, MA 02114-2500. EE.UU. Tel: 617-912-0210. Fax: 617-912-0126. Correo electrónico: gipson@vision.eri.harvard.edu

Pablo Argüeso participó en la escritura del manuscrito.

©2007 Ethis Communications, Inc. *The Ocular Surface* ISSN: 1542-0124. (No se indican autores). Investigación sobre ojo seco: informe del Subcomité de Investigación del Taller Internacional sobre Ojo Seco (2007). 2007;5(2):179-193.

al epitelio de la superficie ocular (incluyendo la córnea y la conjuntiva), a las glándulas de meibomio, al sistema del conducto lagrimal y al sistema inmune. Se consideraron tanto los datos de investigación en animales como en humanos. Los resultados se presentan en una matriz de información que identifica lo que se conoce, con las referencias que lo sustentan y se identifican las áreas para nuevas investigaciones.

II. OBJETIVOS DEL SUBCOMITÉ DE INVESTIGACIÓN

Los objetivos del Subcomité de investigación fueron los siguientes:

- A. Considerar si existe evidencia suficiente para definir los mecanismos básicos que subyacen a la enfermedad de ojo seco.
 1. Resumir el estado de conocimiento sobre las alteraciones primarias y/o respuestas secundarias de los siguientes componentes oculares y sistémicos que contribuyen a la disfunción de la película lagrimal.
 - a. Película lagrimal
 - b. Glándula lagrimal y glándulas lagrimales accesorias
 - c. Epitelio de la superficie ocular, córnea, conjuntiva
 - d. Glándula de meibomio
 - e. Sistema del conducto lagrimal
 - f. Sistema inmune
 2. Construir una tabla de información e identificar áreas donde hay falta de conocimiento, determinar asimismo si existen patologías comunes a todo el síndrome.
 3. Identificar áreas donde hay información clínica disponible o donde ésta falta.
- B. Basado en datos derivados de la Parte A, responder la Pregunta 2: ¿Es el estado de conocimiento básico sobre los mecanismos del ojo seco suficiente para determinar cómo dan lugar los mismos a los síntomas de la enfermedad?
- C. Desarrollar, si es posible, definiciones de los mecanismos de la patología de ojo seco, o desarrollar las hipótesis principales sobre los mecanismos que pueden evaluarse.

III. LAS LÁGRIMAS Y LA PELÍCULA LAGRIMAL

A. La Enfermedad en Humanos

La evidencia presentada en el informe del último taller sobre ojo seco (Instituto Nacional del Ojo [NEI]/Taller de la industria de 1995, en adelante el "Taller de 1995") indica que la osmolaridad de la película lagrimal se incrementa en todas las formas de ojo seco (DE) y que el volumen de lágrimas y ciertas proteínas de las lágrimas, tales como la lisozima y la lactoferrina, es menor en el ojo seco con falta de secreción acuosa.¹ También se ha reconocido una forma evaporativa

ESQUEMA GENERAL

- I. Introducción
- II. Objetivos del Subcomité de Investigación
- III. Las lágrimas y la película lagrimal
 - A. La enfermedad en humanos
 - B. Modelos animales de ojo seco
- IV. Superficie ocular
 - A. La enfermedad en humanos
 - B. Modelos in vitro y animales
- V. Sistema inmune
 - A. La enfermedad en humanos
 - B. Modelos de ojo seco in vitro y en animales - sistema inmune
- VI. Hipótesis del mecanismo de inflamación aguda y crónica en la enfermedad de ojo seco
- VII. Glándula lagrimal/glándulas lagrimales accesorias/ conducto nasolagrimal
 - A. La enfermedad en humanos
 - B. Modelos in vitro y en animales
- VIII. Glándula de meibomio
 - A. La enfermedad en humanos
 - B. Modelos in vitro y en animales
- IX. Mecanismos que subyacen a la patología de ojo seco

de ojo seco causada, por ejemplo, por una disminución de la integridad de la capa lipídica de la película lagrimal.

Nuevos datos que han surgido tras el Taller de 1995 indican que la composición y distribución de los lípidos meibomianos se altera en el DE (Ojo Seco) y un número de proteínas bioactivas de las lágrimas, incluyendo plasmina, metaloproteinasas de la matriz (MMPs), moléculas de defensa y fosfolipasa A2 IIA en el DE se incrementan. También se produce un incremento de las citoquinas inflamatorias en el ojo seco no asociado al síndrome de Sjögren (NSS), así como en el ojo seco asociado al síndrome de Sjögren (SS), y una reducción de la mucina MUC5AC de las células caliciformes en queratoconjuntivitis seca (KCS) y SS (Tabla 1).

Dada la escasez de información disponible sobre los cambios en la composición de la película lagrimal, mencionada arriba, no está claro cómo los cambios en la composición de las lágrimas humanas se asocian a la disfunción lagrimal. Para comprender mejor el mecanismo de la enfermedad de ojo seco, se necesitan análisis proteómicos, lipidómicos y glicómicos de las lágrimas de un gran número de pacientes o poblaciones de sujetos bien definidos, planificados y con correspondencia de edad, a fin de desarrollar los biomarcadores específicos para la enfermedad de ojo seco. Se han logrado avances en el desarrollo de estudios proteómicos en estado base de las proteínas lagrimales, pero aún faltan estudios que comparen las lágrimas normales y con las de ojos secos.⁴¹⁻⁴⁴ La espectrometría de masas es una herramienta analítica potente para la identificación⁴⁵ de moléculas y compuestos, y se está utilizando para desarrollar un perfil lipídico estándar de las lágrimas normales e identificar las diferencias en los componentes específicos en las lágrimas de los modelos de DE.

La aplicación de la espectrometría de masas a la caracterización e identificación de los lípidos de las secreciones de las glándulas de meibomio está demostrando que las composiciones anteriormente descritas necesitan revisarse. Estos esfuerzos se complican por la observación de que los lípidos son muy diversos en clase y funcionalidad. Se necesitan diferentes métodos analíticos de aislamiento y detección para diferenciar las clases de lípidos.

Metodologías de espectrometría de masas de alto rendimiento y de arrays de glicanos están hoy disponibles para el análisis los glúcidos, y éstas pueden utilizarse para analizar los glúcidos lagrimales en pacientes normales y con DE. Igualmente, es necesaria la determinación de índices y cantidades de mucinas de membrana y segregadas en la película lagrimal. También será importante determinar la relación entre las diferentes medidas de la estabilidad lagrimal (por ejemplo, el tiempo de ruptura de la película lagrimal

Abreviaturas utilizadas en los textos y en las tablas

- ↑ = Aumento en/Aumentado
- ↓ = Reducción en/reducido
- Δ = Cambio en/cambios a
- /- = Ratón nulo homocigoto
- = completamente agotado
- ACAT-1 = Acil-CoA:colesterol aciltransferasa-1
- Auto-AG = Autoantígeno
- BUT = Tiempo de ruptura lagrimal
- CALT = Tejido linfocitoide asociado a la conjuntiva
- Blef Cr = Blefaritis crónica
- CIC = Enfermedad de cicatrización
- Conj = Conjuntiva/conjuntival
- Cont lens = Lentes de contacto
- DE = Ojo seco
- DES = Síndrome de ojo seco
- EDA = Displasia ectodérmica
- ENV STR = Estrés ambiental
- epi = Epitelios/epitelial
- Epi. Diff/sq metaplasia = Diferenciación epitelial/metaplasia escamosa
- GVHD = Enfermedad del injerto frente al anfitrión
- KCS = Queratoconjuntivitis seca
- Lac = Lagrimal
- Meibom = Meibomiano
- ↓MG = Pérdida de las glándulas de meibomio
- MGD = Disfunción de la glándula de meibomio
- NSS = No asociado al síndrome de Sjögren
- NSS/ACQ = Falta de secreción acuosa no asociada al síndrome de Sjögren
- Nasolac = Nasolagrimal
- NLD = Conducto nasolagrimal
- RA-MGD = MGD inducida por ácido retinoico
- SCOP = Escopolamina
- siRNA = ARN de interferencia
- Spont DE = Ojo seco espontáneo
- SS = Síndrome de Sjögren
- TALT = Tejido linfocitoide asociado al conducto lagrimal
- TBUT = Tiempo de ruptura lagrimal
- Undif KCS = queratoconjuntivitis seca indiferenciada
- ↓ Vit A = Falta de vitamina A
- Vit A = Vitamina A totalmente agotada

Tabla 1. Tabla de información: película lagrimal humana

	KCS*	NSS	SS	MGD	Falta de Andrógenos	Lentes de contacto/DE	Ref. Ref.
Volumen/Osmolaridad lagrimal:							
↑ Osmolaridad, ↓ Volumen	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2-6
↑ Evaporación	✓			✓			1, 7-9
↓ Menisco	✓	✓	✓	✓	✓	✓	5, 10-13
Correlación: Evaporación con osmolaridad y capa lipídica	✓						14, 15
↓ BUT, ↑ Tensión superficial	✓	✓	✓	✓	✓	✓	5, 12, 16-20
Mucinas:							
↓ Glicoproteínas, MUC5AC	✓		✓	✓			21-23
Lípidos:							
Δ Patrones lipídicos, Distribución			✓	✓			24, 25
↓ Lípidos polares	✓						26
↓ Capa lipídica, ↑ Evaporación	✓						14
Proteínas:							
Δ Proteínas	✓						27, 28
↑ Niveles de plasmina	✓						29
↑ MMP				✓			30, 31
↑ Generadores de inflamación, PRP	✓			✓			32
↓ Lactoferrina							33
↑ Nueve moléculas de defensa				✓			34
↓ Lisozima, Lactoferrina							35
↑ Fosfolipasa A2 IIa	✓					✓	36, 37
Mediadores inflamatorios:							
Citoquinas proinflamatorias: IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α			✓	✓			38-40

*Tipo no definido

[TFBUT]), la cantidad de mucina y de lípidos y el carácter de las lágrimas.

B. Modelos Animales de Ojo Seco

Los modelos animales discutidos en el Taller de 1995 incluyeron un modelo de conejo en el que se amputaron las glándulas de meibomio y lagrimales y las membranas nictitantes, con lo que se provocó hiperosmolaridad lagrimal y daño a la superficie ocular, simulando las características del DE humano.

Los nuevos modelos y hallazgos tras el Taller de 1995 incluyen: 1) modelos de DE en ratón que emplean escopolamina y el estrés desecante ambiental, que muestran incrementos de las citoquinas inflamatorias y la osmolaridad de las lágrimas; 2) ratones con falta de neurturina que desarrollan DE y tienen un incremento de los mediadores inflamatorios en su película lagrimal; 3) un modelo de ablación de la

glándula lagrimal en conejo, que muestra que el tratamiento con dexametasona revierte el TFBUT reducido y el daño a la superficie ocular; y 4) modelos de denervación de la glándula lagrimal en conejo, que producen una alteración de los perfiles proteicos y lipídicos lagrimales (Tabla 2).

Un área vital de investigación con respecto a los datos existentes presentados, aborda la necesidad de correlacionar la osmolaridad lagrimal, la ruptura lagrimal y la respuesta inflamatoria al estrés. Para este fin, se cuenta ahora con líneas

Tabla 2. Tabla de información: película lagrimal animal

	Conejo	Ratón	Ref.
Vol/Osmolaridad lagrimal:			
↑ Osmolaridad + ↓ Volumen lagrimal	-Glándulas de meibomio	Scop & Env Str	48-49
↑ Osmolaridad, ↑ lesión de la superficie	-Glándula lagrimal		50
↓ BUT, ↓ lesión de superficie con dexametasona	-Glándula lagrimal		51
Lípidos			
↑ Acilglicerolos	-Glándula lagrimal/membrana nictitante		45
Lípidos en conejo/humano coinciden	-Glándula lagrimal/membrana nictitante		45
Proteínas			
↓ Proteína	-Nervios		52
↑ IL-1β		-Neurturina	53

celulares humanas inmortalizadas del epitelio conjuntival y corneal, que tienen características de diferenciación propias del epitelio nativo.^{46,47} Estas serán útiles para estudiar los efectos de la osmolaridad lagrimal, los mediadores inflamatorios y las lágrimas del DE en el epitelio de la superficie ocular.

Debe realizarse análisis de espectrometría de masas, lipidómicos y proteómicos en modelos animales de ojo seco, para proporcionar perspectivas sobre la condición DE. Las comparaciones de proteínas, lípidos y glúcidos de las lágrimas animales ayudarán a determinar los modelos más adecuados para el ser humano (por ejemplo, los extractos totales de cloroformo de lágrimas de conejo se asemejan mucho a los de lágrimas humanas).⁴⁵

IV. SUPERFICIE OCULAR

A. La Enfermedad en Humanos

Los aspectos patológicos de la superficie del ojo seco, tratados en el Taller de 1995, incluyeron la ausencia de la función de barrera epitelial, demostrada por el aumento en el uso del colorante (sin aportarse datos sobre el mecanismo); una mayor osmolaridad de la película lagrimal, causante de daños en la superficie ocular; una pérdida de las células caliciformes conjuntivales; y un aumento de la metaplasia escamosa de las células epiteliales de la superficie (observaciones morfológicas).

Nuevos datos que han surgido desde ese informe indican que se producen alteraciones en las mucinas de membrana y segregadas, y en las proteínas asociadas a la queratinización, expresadas por las células epiteliales. También ocurren alteraciones en la densidad y sensibilidad de la inervación corneal. Algunos estudios documentan el aumento de la

producción de células epiteliales conjuntivales. Los datos indican que las células epiteliales conjuntivales son activas en la respuesta inmune y constituyen una fuente de mediadores inflamatorios⁸⁵ (Tabla 3).

A pesar del conocimiento alcanzado, todavía es deficiente la información existente sobre la película lagrimal y la superficie ocular en la enfermedad de ojo seco. Sería importante determinar las proteínas y los glúcidos del epitelio conjuntival en una población de ojos secos bien definida y planificada, comparada con controles con correspondencia de edad y sexo para identificar cambios comunes en los componentes apicales de la superficie con la enfermedad. Es de interés determinar si la edad y el sexo, o una combinación de ambos, influyen en los efectos del estrés ambiental sobre el epitelio de la superficie ocular. Es importante determinar cualquier marcador genético o susceptibilidad a DE. Finalmente, una comparación de las etapas tempranas intermitentes de la enfermedad en su versión crónica podría distinguir las vías primarias que causan DE de las respuestas secundarias asociadas a la enfermedad.

B. Modelos in Vitro y Animales

La información recogida de modelos in vitro y en animales tras el Taller de 1995, identificó la ausencia de función de barrera demostrada por el uso de colorante en varios modelos de ojo seco en animales, la pérdida de células caliciformes en varios modelos de ojo seco en animales, y la queratinización del epitelio de la superficie ocular cuando hay falta de vitamina A.

Tras el Taller de 1995, las investigaciones han identificado la función de las mucinas de membrana como barrera protectora (células epiteliales humanas in vitro), aumento

Tabla 3. Tabla de información: superficie ocular humana

	Undif KCS	NSS/ACQ	SS	CIC	↓ Vit A	Lentes de contacto	LASIK	Ref.
El daño a las célula del epi conj. se indica por penetración de colorante - fluoresceína, verde lisamina, rosa de bengala	✓	✓	✓	✓	✓	✓		Bien establecida
Mucinas:								
↓ Células caliciformes	✓	✓	✓	✓	✓	↑	✓	54-61
↓ MUC5AC	✓		✓					22, 23
Glicosilación de mucina alterada	✓					✓		62-65
Δ Glicosiltransferasas				✓				66
Δ Mucinas de membrana		✓	✓					22, 57, 65, 67
Δ Célula-Epitelio Conj.:								
↓ Microplícae			✓					68
Queratitis filamentosa	✓							69
↑ Estratificación	✓			✓				66, 70
Proliferación epi.			✓					71
Δ Estructura nuclear/cromatina	✓		✓					72-74
↑ Apoptosis	✓	✓	✓					75
Δ Inervación		✓	✓				✓	76-80
↑ Infección	✓							35, 81
↑ Proteínas asociadas a queratinización			✓		✓			82-84
Marcadores inflamatorios en células epi. conj.	✓	✓	✓					75, 85

Tabla 4. Tabla de información: epitelio de la superficie ocular animal

Epi. super. oc in vitro/humano	Conejo	Ratón	Rata	Perro	Ref.
Células calciformes; mucinas/glicoproteínas:					
Penetración de rosa de bengala	-MUC16				86
↓ Células calciformes, MUC5AC	-Vit A -Glándula de meibomio -Queratitis neurotrófica	Scop & env str -/- Neurturina -/- I κβ-ζ	-Vit A		48, 53, 87-91
Δ Glicosilación de mucina				Spont. DE	92
↓ Mucinas asociadas a membrana	-Vit A -Suero	-/- Neurturina	-Vit A		53, 89, 93, 94
↓ Glucógeno	-Glándula de meibomio -Glándula lagrimal -Queratitis neurotrófica				48, 50, 88
Epi. Dif/esc. Metaplasia:					
↑ Queratinización	-Vit A		-Vit A	Spont. DE	95-97
↑ Proliferación epi conj		Scop & env str			90
↑ Apoptosis		Scop & env str			98
↑ Citoquinas inflamatorias/MMPs:					
	+Str hiperosmótico	-/- Neurturina Scop & env str +Str hiperosmótico			49, 53, 99-101
Inversión de los defectos/inflamación de la superficie ocular sin glándula meibomio:					
		EDA knockin			102

de la producción celular (ojo seco experimental de ratón), y aumento de la expresión de citoquinas inflamatorias (ojo seco experimental de ratón). Se han desarrollado nuevos modelos como herramientas útiles para estudiar los mecanismos de daño a la superficie ocular. Los modelos de ratón en los que las glándulas de meibomio y/o lagrimales no son funcionales, han permitido una mejor caracterización de la patología de la superficie ocular (tinción, densidad de las células calciformes, etc. [Tabla 4]).

Con la información actualmente disponible, se necesitan nuevas investigaciones para determinar la función de la enfermedad de la superficie ocular en el mecanismo de disfunción lagrimal. Una comparación, entre el ser humano y el ratón, de proteínas y glúcidos de las lágrimas y de la superficie epitelial apical, identificaría los componentes comunes para validar los modelos animales y facilitar la interpretación de los datos obtenidos de los modelos de ojo seco. Deben desarrollarse nuevos modelos inducibles de ojo seco y modelos de enfermedades crónicas. Como la pérdida de las células calciformes es una característica común a todas las formas de DE, es importante que se caractericen los mecanismos de diferenciación de las células calciformes a partir de células madres epiteliales y los mecanismos de pérdida de células calciformes. Sería útil desarrollar pruebas funcionales in vitro que utilicen técnicas de siRNA (ARN de interferencia), para dilucidar la contribución de diferentes moléculas de la superficie celular al mantenimiento de la función de barrera del epitelio corneal. Deben explorarse técnicas avanzadas de manipulación genética, usando animales knockout, knockin y knockdown para realizar pruebas funcionales en modelos estandarizados de ojo seco. Es necesario determinar las

bases de la tinción con fluoresceína, verde lisamina y rosa de bengala. Sería meritorio determinar si las interacciones estroma-epitelio influyen en el desarrollo de DE.

V. SISTEMA INMUNE

A. La Enfermedad en Humanos

Los datos del Taller de 1995 indicaban que el SSDE (Ojo seco asociado al síndrome de Sjögren) es el resultado de una enfermedad autoinmune en la cual la respuesta a autoantígenos causa la destrucción inflamatoria del tejido lagrimal. Los nuevos datos tras el informe de 1995 indican que las citoquinas proinflamatorias y las poblaciones de células T se incrementan en el tejido conjuntival y en el tejido lagrimal, tanto en el NSSDE (Ojo seco no asociado al síndrome de Sjögren) como en el SSDE. Las quimoquinas y sus receptores se incrementan en el ojo seco. La enfermedad del injerto frente al anfitrión (GVHD) se asocia con inflamación y con infiltración celular inmune a la glándula lagrimal y al epitelio de la superficie ocular. La enfermedad también se caracteriza por fibrosis asociada con fibroblastos e infiltración celular derivada de la médula ósea. Está claro que las células epiteliales de la superficie ocular pueden modular la respuesta inflamatoria (Tabla 5).

Aún se carece de información sobre la función que desempeña el sistema inmune en la disfunción lagrimal humana en DE. Existe muy poca, o ninguna, información sobre los cambios que ocurren en la córnea (frente a los de la película lagrimal o la conjuntiva), o los cambios tempranos, y función, de los factores inmunes que causan la enfermedad. No se conoce qué cambios son primarios y cuáles son secundarios, algo que es necesario para determinar la relación

Tabla 5. Tabla de información: sistema inmune/ojo seco humano

	KCS indiferenciada	NSS	Rosácea DE	SS	GVHD	Ref.
Conjuntiva:						
↑ Células CD3, CD8				✓	✓	103
↑ CD4 y células T		✓		✓	✓	104-108
↑ Receptor de quimoquina CCR5	✓	✓		✓	✓	109, 110
↑ Fas		✓				75
↑ ICAM-1					✓	111
Conjuntiva y lágrimas:						
↑ IL-1, TNF-α e IL-8, IL-6			✓	✓		38-40
Conjuntiva y Glándula lagrimal:						
↑ MHC clase II, HLA-DR	✓	✓		✓	✓	75, 105, 107, 110-113
↑ CD40, ligando CD40, CD80, CD86	✓	✓		✓	✓	75, 107
Fibrosis					✓	107, 108, 114
Glándula lagrimal:						
Glándula lagrimal: ↑ CD4, Células T y B	✓			✓	✓	108, 115-117
↑ ICAM-1	✓				✓	107, 118
Infiltrado inflamatorio		✓		✓		119, 120
Autoantígenos compartidos, glándula lagrimal y salival		✓				115
↑ Ligando Fas-Fas, IL-1β, IL-6, IFN-γ, linfocitos infiltrantes de molécula de adhesión celular vascular-1 y molécula de adhesión intercelular-1, apoptosis						121-123

“causa - efecto”.

Existe la necesidad de determinar con más precisión la función inmunomoduladora de las proteínas y los péptidos presentes en la córnea y en la película lagrimal (TGF-β, α-MSH, IL-1Ra, etc.) y describir la función de la inmunidad innata en la enfermedad de ojo seco (incluyendo lactoferrina, lisozima, receptores tipo toll, complemento, quinina-quininógeno, metabolitos de ácido araquidónico, neuropéptidos).

B. Modelos de Ojo seco in vitro y en animales-- Sistema Inmune

Los modelos y hallazgos del Taller de 1995 confirmaron que la ciclosporina A es efectiva en el tratamiento de un modelo de ojo seco canino espontáneo. Nuevos datos disponibles tras el informe de 1995 indican que el IFN-γ puede regular positivamente el HLA-DR y la ICAM-1 en las células conjuntivales humanas, indicando que las células

de la superficie ocular pueden responder a la inflamación y modularla. Los modelos de ojo seco en ratones, que emplean ya sea escopolamina y estrés ambiental o el estrés ambiental solo, muestran que el estrés de la superficie ocular puede inducir las alteraciones inflamatorias y de las células T que se observan en el ojo seco humano. Los datos sugieren que la inflamación inducida por el estrés desecante es mediada por células T¹²⁶ (Tabla 6).

¿Qué preguntas pueden responderse o que tipos de investigación básica necesita llevarse a cabo en modelos para determinar la función del sistema inmune en el mecanismo de disfunción lagrimal en DE? Existe una carencia de información sobre la comprensión de la función que desempeñan las células T en la inmunopatogénesis precoz de la enfermedad de la superficie ocular (frente a la de la glándula lagrimal) en DE. El grado de participación de células T en la enfermedad de la superficie ocular aún debe ser aclarado.

Tabla 6. Tabla de información: sistema inmune animal

	Animal in vitro	Conejo	Ratón	Perro	Ref.
IFN-γ ↑ HLA-DR, ICAM-1	Cultivo primario de conjuntiva				124
Inflamación ↑ Conj, apoptosis de glándula lag.			Scop & Env Str	Spont. DE	96, 98
IFN-γ en inflamaciones de tipo TH1 y DE			Scop & Env Str, Env Str		118, 125
Las células T median la inflamación local a la sequedad del ojo				Scop & Env Str	126
Inflamación Lag y DE					
↑ Células T, especialmente CD4			Dacrioadenitis autoinmune		127
↑ Células T CD3; CD8, CD4			Modelo GVHD		128
↑ ICAM-1			Ratones MRL/lpr		118
↑ MHC clase II		DE			129

También es necesario determinar la función de la autoinmunidad en esta enfermedad y la naturaleza de los autoantígenos. Se necesitan estudios para caracterizar el efecto de las citoquinas inflamatorias sobre los genes y proteínas de las mucinas. También es necesario averiguar la función del sistema inmune en el síndrome de ojo seco (incluyendo lactoferina, lisozima, complemento, quinina/quininógeno, metabolitos de ácido araquidónico, neuropéptidos, receptores tipo toll y proteína D surfactante).

VI. HIPÓTESIS DEL MECANISMO DE INFLAMACIÓN AGUDA Y CRÓNICA EN LA ENFERMEDAD DE OJO SECO

El Simposio Cullen sobre inflamación corneal y de la superficie ocular (Baylor College of Medicine, Houston, TX, January, 2005, *The Ocular Surface*, Vol. 3, Supplement) intentó proporcionar una perspectiva mecanicista unificada de la inflamación de la superficie ocular aguda y crónica (Figura 1), incluyendo la observada en DE.¹³⁰

1) *Aguda*: La irritación de la superficie ocular (viral, bacteriana, ambiental) conduce a la expresión de selectina endotelial vascular y a la diapédesis de células T no cebadas (que no son diana) hacia la conjuntiva.

2) *Crónica*: El desafío impuesto a la superficie ocular (en el tiempo) conduce a la activación y al drenaje de células presentadoras de antígeno (incluyendo células dendríticas) hacia órganos linfoides que permiten que las células T se ceban y sean capaces de dirigirse específicamente a la superficie ocular.

3) Los síntomas se correlacionan primeramente con el daño epitelial corneal, lo que se cree se deba al daño acumulado mediado por efectos citotóxicos del estímulo inflamatorio y pro-apoptótico y a la hiperosmolaridad. Junto a la pérdida y debilitación epitelial se presenta la estimulación de terminaciones nerviosas nociceptivas

VII. GLÁNDULA LAGRIMAL/GLÁNDULAS LAGRIMALES ACESORIAS/CONDUCTO NASOLAGRIMAL

A. La Enfermedad en Humanos

Los datos del Taller de 1995 indicaba que las glándulas lagrimales de los pacientes con SSDE (Ojo seco asociado a síndrome de Sjögren) son infiltradas por linfocitos y que el volumen de secreción lagrimal disminuye. Algunos datos sugieren un posible vínculo de la infección por virus de

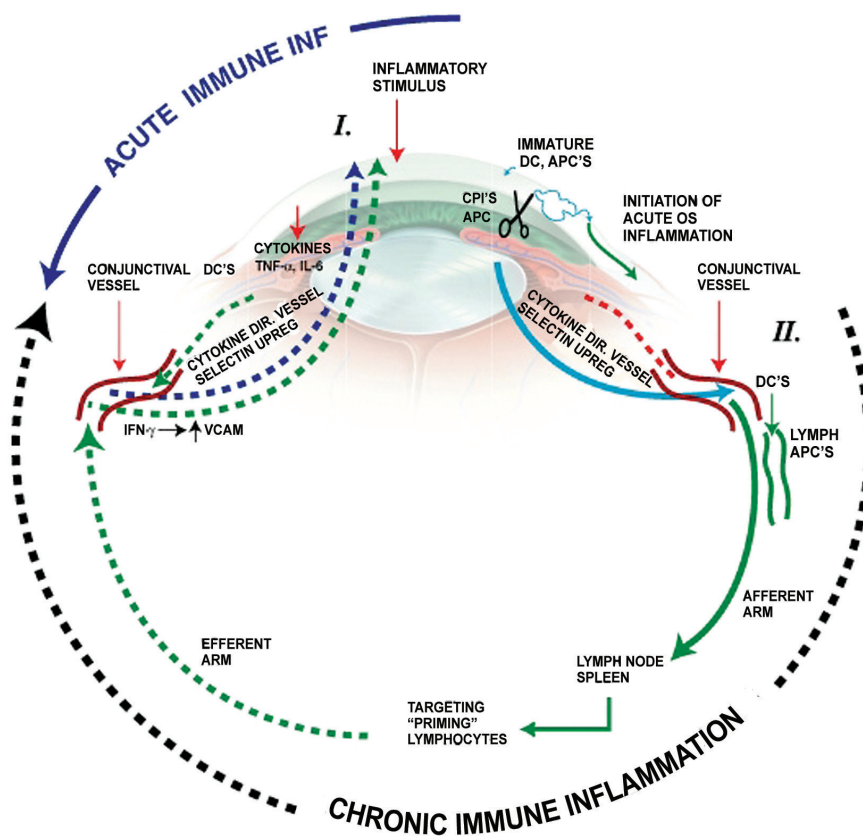


Figura 1. Hipótesis del mecanismo de inflamación inmune aguda y crónica.

I. El estímulo inflamatorio (antígenos microbianos, trauma, luz UV, estrés hiperosmótico) inicia la inflamación inmune estimulando la producción y liberación de citoquinas inflamatorias (por ejemplo, IL-1, TNF- α , e IL-6) por las células epiteliales de la superficie ocular, que activan a las células inmaduras presentadoras de antígeno (APC) y aumentan la expresión de moléculas de adhesión (por ejemplo, ICAM-1), y de las selectinas por el endotelio vascular conjuntival, que facilita el reclutamiento de células inflamatorias a la superficie ocular.

II. La inflamación inmune crónica, que implica la obtención y el procesamiento de antígenos por las APC, que migran a los nódulos linfáticos regionales y al bazo a través de los vasos linfáticos y venas conjuntivales, respectivamente, y ceban las células T inmaduras. Las células T CD4 cebadas se trasladan a la conjuntiva, donde se adhieren al endotelio vascular activado y entran al tejido por diapédesis. Las citoquinas producidas por las células T activadas, tales como IFN- γ , amplifican la respuesta inmune aumentando la expresión de las moléculas de adhesión (por ejemplo, VCAM) en los vasos sanguíneos conjuntivales.

APCs = células presentadoras de antígeno; CPIs = proteasas corneales; DC = célula dendrítica; TNF- α = factor de necrosis tumoral alfa; IL-6 = interleuquina 6; IFN- γ = interferón gamma. (Reimpreso de McDermott AM y col. Pathways of corneal and ocular surface inflammation: a perspective from the Cullen Symposium. *Ocul Surf* 2005;3(4):S131-S138.)

Epstein-Barr con el ojo seco, aunque esta área es polémica. Se conoció que la oclusión del conducto nasolagrimal mejora la tinción de la superficie ocular en DE.

Los datos acumulados tras el Taller de 1995 han identificado los tipos de linfocitos, la expresión de ligando Fas-Fas y los marcadores de apoptosis en las glándulas lagrimales de los pacientes de SS (Síndrome de Sjögren). Algunos datos sugieren un vínculo entre la hepatitis C y la infección con VIH con el NSDE (Ojo seco no asociado a síndrome de Sjögren) y el SSDE (Ojo seco asociado a síndrome de Sjögren). Se ha identificado un autoanticuerpo contra el receptor muscarínico de acetilcolina del tipo M3, y los niveles incrementados de suero se correlacionan con una disminución del valor de Schirmer bajo estimulación nasal y un aumento del grado de tinción con rosa de bengala. Existe un incremento de la mucina lagrimal en DE (Tablas 7 y 8).

Aún quedan preguntas sin responder sobre la función

de la glándula lagrimal, las glándulas lagrimales accesorias y el conducto nasolagrimal en el ojo seco. En base a la información con que se cuenta actualmente, sería útil comparar el proteoma lagrimal en una población de pacientes normales bien caracterizados, con correspondencia de edad y sexo, al de pacientes de ojo seco, así como comparar los proteomas lagrimales de diferentes queratoconjuntivitis seca (KCS), a fin de identificar posibles biomarcadores de tipos de la enfermedad.

Se carece particularmente de información sobre las glándulas lagrimales accesorias y el conducto nasolagrimal en humanos con la enfermedad de ojo seco. Todos los datos histológicos e inmunohistoquímicos sobre las glándulas lagrimales accesorias se han obtenido a partir de tejidos normales; no existe ningún tipo de información disponible sobre las glándulas en el ojo seco. No sabemos la magnitud en que ellas se afectan en DE; debido a que ellas están incrustadas en el tejido subconjuntival de la superficie ocular, constituyen un objetivo terapéutico importante para los secretagogos lagrimales tópicos. La expresión génica en las glándulas accesorias, comparada con las glándulas lagrimales principales, no está definida. No se conocen las contribuciones relativas de las glándulas lagrimales accesorias y principales a la secreción lagrimal basal, o al impedimento de la secreción lagrimal, y se necesitan comparaciones de expresión génica entre glándulas accesorias y principales.

Igualmente, se carece de información sobre la función del conducto nasolagrimal en la enfermedad de ojo seco. Se carece de estudios a largo plazo sobre el beneficio de la oclusión puntal. Yen y col¹⁵⁰ encontraron que la sensación de la superficie ocular y la producción lagrimal disminuían tras la oclusión del punto temporal en sujetos normales. Sin embargo, en sujetos normales parece existir un mecanismo autorregulador que restaura la producción lagrimal y el aclaramiento lagrimal, a los niveles de pre-oclusión, entre 14 y 17 días después la oclusión puntal, un mecanismo que parece faltar en pacientes de DE.¹⁵⁰ Así, podría sugerirse que la absorción de componentes del fluido lagrimal hacia

Tabla 7. Tabla de información: glándula lagrimal humana/conducto nasolagrimal

	KCS	SS	GVHD	Envejecimiento	Ref.
Glándula lagrimal					
Infiltrado inflamatorio		✓	✓		107, 108, 119, 120
Autoantígenos compartidos, glándula lagrimal y salival		✓			115
↑ Ligando FAS-FAS, IL-1β, IL-6, IFN-γ, VCAM-1, ICAM-1, Linfocitos infiltrantes, apoptosis		✓			121-123
Etiología viral de hepatitis C, VIH, Epstein Barr	✓	✓			131-135
Autoanticuerpos a receptores muscarínicos de acetilcolina tipo M3		✓			136
Correlación: Niveles de autoanticuerpos para Schirmer con estimulación nasal y tinción con rosa de bengala/fluoresceína			✓		137
↑ MUCs 4, 5AC y 5B en glándula lagrimal humana (4 cadáveres con ojo seco)				✓	138
↓ Inervación en glándulas lagrimales	✓	✓			139
↑ Fibrosis				✓	140
Ductos nasolagrimal (NLD)					
Oclusión de sist. nasolac (tapón, etc.) mejora DE de la sup. oc.	✓	✓			>100 refs.
DE y enfermedades nasolac ocurren frecuentemente en mujeres con edad media-avanzada	✓	✓			141

los vasos sanguíneos del cuerpo cavernoso circundante^{151,152} podría proporcionar una señal para la producción de fluido lagrimal que cesa cuando faltan las lágrimas. Se necesitan estudios que caractericen los sistemas de retroalimentación en el epitelio del conducto nasolagrimal y los vasos sanguíneos, y sus conexiones con el sistema de la superficie ocular.

B. Modelos in Vitro y Animales

En el informe del Taller de 1995 se habían identificado modelos de SS (Síndrome de Sjögren) en ratón, en los que se mostró que la inflamación lagrimal era reducida por andrógenos.

Tras el informe de 1995, se han realizado estudios con análisis de microarrays, mostrando cambios drásticos en la expresión génica de la glándula lagrimal tras lesión corneal aguda en el ratón. Se han identificado citoquinas y quimoquinas en un modelo de SS en ratón, así como alteración de la función colinérgica y liberación de neurotransmisor. Se ha identificado alfa fodrina como autoantígeno en el modelo de

Tabla 8. Tabla de información: glándula lagrimal accesoria humana (sin importancia para DE)

	Ref.
Estructura acinar similar en glándulas accesorias y principal	142, 143
Sistema inmune secretorio similar en glándulas accesorias y principal	142, 144, 145
Inervación similar de glándulas accesorias y principal	146, 147
Secreción de proteínas y vías de señalización similares en glándulas accesorias y principal	145, 148, 149

Tabla 9. Tabla de información: glándula lagrimal animal/conducto nasolagrimal

	In Vitro	Conejo	Ratón	Rata	Perro	Ref.
Glándula lagrimal:						
El cocultivo de células acinares lagrimales/linfocitos activa los linfocitos y causa inflamación en glándula lagrimal del anfitrión	Glándula lagrimal	✓				153-157
↑ Infiltración linfocítica, CD4, CD8; ↑ Fas, Fas-Ligando y citoquina			Ratón MRL/lpr Ratón NOD modelo de SS			158-166
Andrógenos ↓ inflamación, son inmunosupresores y disminuyen los receptores de andrógenos			MRL/Mp-lpr/ lpr ratones NZB/NZW	dacrioadenitis autoinmune	DE de perro exp	161 167-176
Autoantígeno de glándula lagrimal o extracto causa infiltración linfocítica en la glándula lagrimal			Ratón F1 Rata in vivo Ratón in vivo			172, 173 177, 178
ICA69 de síndrome de Sjögren con función colinérgica alterada es autoantígeno			Modelo de SS en ratón NOD			179, 180
Infiltración linfocítica bloquea la secreción de la glándula lagrimal al evitar la liberación de neurotransmisores por los nervios en el síndrome de Sjögren			Modelo de MRL/lpr en ratón de SS			181
α-fodrina es un autoantígeno contra la glándula lagrimal y causa síndrome de Sjögren			Modelo de SS en ratón NFS			182
↑ vulnerabilidad a infección por herpes				Células de glándula lagrimal en hembra		174
Δ Expr. génica en glándula lagrimal. en lesión corneal			Ratón normal			183
Conducto nasolagrimal (NLD):						
³ H-cortisol incorporado de NLD a sangre de conejo	Absorc. de sustancias lipofílicas de fluido lagrimal por epi. de NLDs			No absorción de sustancia lipofílica de lágrimas por epi. de NLDs		184, 185
Anatomía útil para investigar NLDs	Estudios comparativos				Estudios comparativos	184-186
↓ Secreción ↓ Inervación ↑ Lipofusci			Modelo de envejecimiento			187

SS en ratón NFS, e ICA69 es el autoantígeno identificado en el modelo de SS en ratón NOD. Los receptores muscarínicos son autoantígenos para SS en un modelo en ratas. También se ha demostrado que los ductos nasolagrimales pueden absorber el cortisol marcado, indicando que la absorción de los componentes lagrimales puede ocurrir dentro del conducto (Tabla 9).

Para validar los modelos animales de ojo seco, podría ser importante caracterizar y comparar el transcriptoma y el proteoma de la glándula lagrimal tanto en humanos como en ratón. La comparación de los proteomas de las glándulas lagrimales, entre ratones normales y con DE, podría también aportar información. Es también importante determinar las vías de señalización que se alteran para provocar la reducción de secreción en la glándula lagrimal, observada en modelos de ratones o ratas envejecidos. Aún queda por determinar, en modelos animales, la función de las células

mioepiteliales en la disfunción de la glándula lagrimal. Puede ser útil determinar, usando el modelo de linfocito autólogo en conejo, si la exposición de antígenos crípticos a través de errores de reciclaje, inicia el SS. La determinación de los mecanismos celulares que inducen la enfermedad autoinmune en la glándula lagrimal, también podrían emplear el modelo de linfocito autólogo en conejo. Este modelo también puede utilizarse para determinar si el proceso de exocitosis para la secreción de proteína es diana de la disfunción de la glándula lagrimal, y para determinar la función de las células del conducto en la disfunción de la glándula lagrimal, a través de microdissección con captura por láser.

Con respecto a los ductos nasolagrimales, se carece de información sobre las células de los ductos, y no se cuenta actualmente con líneas celulares del epitelio del conducto nasolagrimal. Las preguntas a responder en modelos animales incluyen si la absorción de los componentes del flujo lagrimal,

al interior de los vasos sanguíneos del cuerpo cavernoso que rodea a los ductos nasolagrimales, cambia o cesa en los modelos de ojo seco, y qué le sucede al flujo lagrimal drenado en el conducto nasolagrimal.

VIII. GLÁNDULA DE MEIBOMIO

A. La Enfermedad en Humanos

El Taller de 1995 da cuenta de un descenso y/o alteración documentados de los lípidos meibomianos en DE, así como de anomalías morfológicas de los acinos y túbulos de la glándula.

Nuevos datos tras el informe de 1995 identifican la queratinización del epitelio ductal, metaplasia de orificio y reducción de la calidad de las secreciones de la glándula de meibomio en personas durante el envejecimiento, en pacientes que se encuentran bajo terapia con antiandrógenos y/o en mujeres con el Síndrome de insensibilidad androgénica completa (Falta de andrógenos). Se han realizado correlaciones entre la entrada de nutrientes (por ejemplo, ácidos grasos omega 3, vitamina B6, vitamina D) y los perfiles de lípidos polares de secreciones de la glándula de meibomio en mujeres con SS. Se ha determinado que la enfermedad de la glándula de meibomio puede ser un factor contribuyente en más del 60% de todos los pacientes de ojo seco (Tabla 10).

Aún se carece de información sobre la función de la glándula de meibomio humana en la disfunción lagrimal del ojo seco. Los factores que influyen en la queratinización del conducto meibomiano deben explorarse más, con la hipótesis (no nueva) de que la hiperqueratinización es un factor común y un evento clave que conduce a la enfermedad de la glándula de meibomio (MGD), tanto en la MGD primaria como en la secundaria.

Algunas pistas pueden obtenerse de la literatura en relación con la toxicidad de la epinefrina en el conejo y, quizás más importante, con la toxicidad retinoide en los humanos. También pueden encontrarse pistas en una literatura menos sólida, pero interesante, que sugiere que la conjuntivitis (por ejemplo, alérgica, crónica) o el ojo seco asociado a SS, están relacionados con la MGD, con la implicación de que los mediadores (proinflamatorios o de otro tipo) podrían transferirse a través de la conjuntiva a las glándulas y ductos meibomianos.

Los enfoques de investigación pueden incluir:

- 1) Revisión de la literatura sobre los procesos de queratinización en múltiples epitelios;
- 2) Revisión del mecanismo de acción retinoide y de procesos regulados genéticamente, involucrados en la queratinización, en las mucosas, en los epitelios de transición (como el epitelio ductal meibomiano) y en la piel;
- 3) Revisión comparativa de los posibles puntos de interacción de las vías de señalización bajo control retinoide con las vías bajo control adrenérgico, particularmente alfa-adrenérgico, con respecto al proceso de queratinización;
- 4) Atención a la histoquímica y electronhistoquímica de la queratinización a niveles celulares, marcadores de queratinización;
- 5) Búsqueda de retinoides u otros compuestos capaces de bloquear o revertir la acción de compuestos retinoides anti-acné;
- 6) Estudios clínicos de la frecuencia comparativa de MGD en ojos tratados con agonistas adrenérgicos para glaucoma, particularmente cuando los agonistas se utilizan de forma unilateral.

Necesitamos conocer el número mínimo de glándulas requerido para proporcionar una capa lipídica adecuada para el funcionamiento de la película lagrimal, y los mecanismos moleculares que conducen a la pérdida de la glándula de meibomio o anomalías de la misma. Es importante determinar cómo la capa lipídica se adhiere a la capa acuosa y si esto cambia en el DE, así como definir la función de la lipocalina y otros transportadores de lípidos en la estabilidad de la película lagrimal. Necesitamos una evaluación integral, cualitativa y cuantitativa, de las secreciones de la glándula de meibomio en sujetos normales y pacientes de DE, por medio de técnicas analíticas modernas, en particular utilizando cromatografía líquida/espectrometría de masas para determinar si el índice molar de las especies de lípidos importantes, que están presentes en las secreciones de la glándula de meibomio, cambia con el desarrollo de DE. Sería útil crear un modelo artificial de la capa lipídica de la película lagrimal que imite la composición lipídica de las

Tabla 10. Tabla de información: glándula de meibomio humana

	KCS	Cr Blef	MGD	NSS	SS	Falta de andrógenos	Envejecimiento	Lent. de Cont	Ref.
Pérdida de glándula de meibomio/ obstrucción/secreciones reducidas por distorsión		✓	✓	✓18,5%	✓60%	✓	✓		6, 188-195
Δ Perfiles lipídicos						✓	✓	✓	36, 196-198
Queratinización, metaplasia de orificio						✓	✓		5, 10
Punto de fusión de lípido 3° por encima de lo normal			✓						199
Cepas bacterianas asociadas con Blef Cr		✓							200
↑ Fluoresceína, rosa de bengala			✓						195
Δ Capa lipídica; ↑ Grosor	✓					✓	✓	✓	36, 197, 198, 201, 202

Tabla 11. Tabla de información: glándula de meibomio animal

	Conejo	Ratón	Hámster	Ref.
↓ MG, Eritema conjuntival	Modelo RA-MGD	-/- EDA	Modelo RA-MGD	102, 203, 204
↑ Queratinización ductal	Modelo MGD/epinefrina			205
↑ Esteroles y ceramidas	Modelo MGD/epinefrina			206
MG atrófica con daño de la superficie ocular		-/- ACAT-1		207
↓ Andrógenos				
Δs Lípidos, expresión génica en glándula de meibomio	modelo de macho castrado	modelo de macho castrado		208-210

secreciones de la glándula de meibomio, recuperadas de sujetos normales, y tenga propiedades biofísicas similares. Existen preguntas sobre la etiología de la obstrucción de la glándula de meibomio (por ejemplo, ¿por qué no se forma una chalazión con cada obstrucción?)

Adicionalmente, necesitamos conocer más sobre los cambios en las funciones de la glándula de meibomio asociados a la edad, y sobre la relación entre la obstrucción de la glándula de meibomio y la nutrición. Debe aclararse la función de los lípidos en la lubricación del párpado y de las superficies oculares. ¿Existe una función de la conjuntiva palpebral y de la epitelopatía palpebral en la MGD?

B. Modelos in Vitro y Animales

Se conocía relativamente poco sobre modelos animales para MGD al momento de celebrarse el Taller de 1995, aparte de que la queratinización del epitelio del conducto existía en los modelos de epinefrina en conejo. Desde entonces, nuevos modelos y hallazgos han permitido conocer que la falta de andrógenos, que en humanos se asocia a la disfunción de la glándula de meibomio, altera los perfiles lipídicos de las secreciones de la glándula de meibomio, y causa inestabilidad de la película lagrimal y del ojo seco evaporativo. La falta de andrógenos en ratones y conejos se asocia a la alteración de los perfiles lipídicos y la expresión génica en las glándulas de meibomio (Tabla 11).

Aún queda por responder un número de preguntas, y es necesaria la investigación básica usando sistemas de modelos para determinar la función de la glándula de meibomio en las diferentes formas de DE y en los mecanismo de la disfunción lagrimal. Más importante aún, necesitamos determinar la estructura y composición de la capa lipídica y sus cambios en la MGD experimental. Es necesario determinar qué componentes de la secreción meibomiana se esparcen realmente sobre la película lagrimal y qué cambios de composición se requieren para propiciar un cambio significativo en el punto de fusión y el grado de expresión de los lípidos. Finalmente, necesitamos entender la estructura de la capa lipídica y cómo ésta cambia en MGD.

IX. MECANISMOS QUE SUBYACEN A LA PATOLOGÍA DE OJO SECO

Basado en los datos obtenidos a partir de la información acumulada en informes anteriores, el grupo fue de la opinión de que no existía la información suficiente para definir los mecanismos básicos que subyacen al ojo seco, pero que podría anticiparse una hipótesis. Los datos sugieren que el ojo seco es multifactorial: factores tales como la edad, el estado hormonal,

la genética, el sexo, el estado inmune, el estado de la inervación, la nutrición, los patógenos y el estrés ambiental, alteran la estructura y la función celular y molecular de los componentes del sistema de la superficie ocular. El término y concepto de *Sistema de la superficie ocular* fue adoptado por consenso en la reunión de DEWS en Miami, Florida, en mayo de 2006.

El “sistema de la superficie ocular” se define como *el epitelio húmedo superficial y glandular de la córnea, la conjuntiva, la glándula lagrimal, las glándulas lagrimales accesorias, el conducto nasolagrimal y la glándula de meibomio, y sus matrices apical y basal, unidos como en un sistema funcional tanto por la continuidad del epitelio, por inervación, como por los sistemas endocrino e inmune* (para una explicación detallada consulte Gipson, 2007²¹¹). También se incluyen porciones de los párpados en el sistema de la superficie ocular. El fundamento para la descripción de la unidad como el *Sistema de la superficie ocular* tiene varias aristas. Primero, las funciones primarias del sistema son proporcionar una superficie refractiva suave para la córnea (la superficie ocular), proteger y mantener esa superficie. Así, el nombre de *Sistema de la superficie ocular* se vincula a su función primaria en la superficie ocular. Segundo, todos los epitelios de la superficie ocular están en continuidad y se derivan embriológicamente del ectodermo superficial. Los epitelios corneal y conjuntival se encuentran en continuidad, a través del epitelio ductal, con la glándula lagrimal, el epitelio glandular, como ocurre con las glándulas lagrimales accesorias, la glándula meibomio y el sistema nasolagrimal. Los sistemas glandulares son esencialmente invaginaciones, y especializaciones, del epitelio de la superficie ocular. Tercero, todas las regiones del epitelio producen componentes de la película lagrimal. Las funciones de las diferentes regiones del epitelio continuo se integran por el sistema nervioso, endocrino, inmune y vascular, y se sostienen por el tejido conectivo con sus células residentes. Finalmente, los efectos de la enfermedad de ojo seco se detectan en la superficie ocular.

*El término *Sistema de la Superficie Ocular* representa una elaboración de la *Unidad Funcional Lagrimal*, que Stern, Pflugfelder y Beuerman²¹²⁻²¹⁵ han descrito previamente y que se discute en detalle en otras partes de este suplemento (Capítulo 1: Definición y Clasificación).²¹⁶ Las alteraciones de uno o varios componentes del sistema de la superficie ocular o sus secreciones resultan en cambios en la composición de la película lagrimal o de la superficie epitelial corneal (por ej, osmolaridad y volumen lagrimal), conduciendo a

*Nota añadida por el comité de redacción

susceptibilidad a la desecación y a daño epitelial (lo que se evidencia por la penetración de colorantes). El daño epitelial conduce a la liberación de mediadores inflamatorios. La inflamación acompañante amplifica y propicia nuevos daños por desregulación crónica del sistema de la superficie ocular.

REFERENCIAS

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. Kallarackal 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 (TBUT) 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 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, Paaivilainen 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* 1999;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 eyedrops 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. Albiets 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 DJ, 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, Bellefigh 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. Zoukhi 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. Niederkorn 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 proins 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-Llves 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, Schecter 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. Sreb 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