

Das Augen-assoziierte lymphatische Gewebe (EALT) und sein Bezug zum Sicca-Syndrom

Erich Knop und Nadja Knop

Ocular Surface Center Berlin (OSCB)
Abt. für Zell- und Neurobiologie, Centrum Anatomie
Charité - Universitätsmedizin Berlin

3. Das Augen-assoziierte lymphatische Gewebe (EALT) und sein Bezug zum Sicca-Syndrom

3.1. Übersicht über das Trockene Auge

3.1.1. Definition und Formen

Das Syndrom des Trockenen Auges (auch als Keratokonjunktivitis sicca oder Sicca-Syndrom bezeichnet) ist eine relativ häufige Veränderung der normalen Homöostase der Augenoberfläche, die eine komplexe Störung der funktionellen Anatomie und Immunologie der Augenoberfläche darstellt [1] und zur Entwicklung von Veränderungen der Augenoberfläche, meist im freiliegenden interpalpebralen Bereich und zur Entwicklung von Symptomen führt. Nach der originalen Definition des amerikanischen *National Eye Institute* (NEI) [2] ist diese entweder durch quantitative Veränderungen (meist verminderte, aber gelegentlich auch vorübergehend reflektorisch vermehrte [3] Menge der Tränen) oder durch qualitative Veränderungen (z.B. einen Mangel der Lipidphase) des Tränenfilms bedingt [1, 4-7]. Später wurde diese Definition um die Bedeutung einer Hyperosmolarität des Tränenfilms [8-11] und das Vorliegen meist subklinischer, aber gelegentlich auch schwerer klinischer Entzündungsphänomene [12-17] erweitert. In fortgeschrittenen Stadien kann eine Abgrenzung zwischen dem Tränenmangel und dem evaporativen Trockenen Auge schwierig werden [18, 19]. Die Entwicklung eines Trockenen Auges wird z.B. auch durch systemische Erkrankungen, Geschlecht und Lebensalter, Hormonstörungen [20, 21] sowie durch psychogene Faktoren [22-24] und Umweltfaktoren wie trockene Raumluft [25-27] oder Bildschirmarbeit [28-30] beeinflusst.

3.1.2. Symptome und Diagnostik

Die Symptome des Trockenen Auges sind, zumindest bei geringerer Ausprägung, oft uncharakteristisch und, abhängig von der zugrunde liegenden Störung, teils auch tageszeitabhängig. Sie äußern sich in Trockenheitsgefühl und einer Reizung der Augenoberfläche oder einem diffusen 'Müdigkeitsgefühl' der Augen [31], inkonstantem Visus [32] und oft auch einer Kontaktlinsenunverträglichkeit [33-37]. Typischerweise sind die klini-

schen Parameter der Tränenmenge (Schirmer-Test) und der Tränenfilmstabilität (Tränenfilmaufreißzeit) verändert [4, 5, 19, 38-40]. Durch eine komplexe Analyse verschiedener Parameter lassen sich auch Subtypen gegeneinander abgrenzen, was für die Therapie wichtig sein kann [41]. Im Verlauf der Erkrankung können mechanische und entzündliche Veränderungen der Konjunktiva, des Lidrandes und vor allem der Kornea auftreten.

3.1.3. Epidemiologie

Das Trockene Auge ist eine der häufigsten Störungen der Augenoberfläche an der, abhängig von Altersgruppe, Geschlecht und Schweregrad, ca. 10-30 % der Bevölkerung leiden [42-46]. Es erkranken mehr Frauen als Männer, die Häufigkeit nimmt mit steigendem Alter zu und wird auch von ethnischen Faktoren beeinflusst. Obwohl das Trockene Auge gelegentlich als Befindlichkeitsstörung verkannt wird, stellt es doch eine ernst zu nehmende Erkrankung dar, deren Diagnostik und Therapie in die Hände des Augenarztes gehören [7].

3.1.4. Einfluss des Schleimhaut-immunsystems auf das Trockene Auge

In späteren Stadien des Trockenen Auges können entzündliche Veränderungen auftreten, die bei längerem Bestehen progredient sind und sich dann mit konventioneller Therapie durch Tränenersatzmittel nicht mehr zufriedenstellend behandeln lassen. Der Grund dafür liegt in einem zuerst subklinischen und dann klinischen Entzündungsprozess, der durch eine Deregulation des Schleimhaut-immunsystems der Augenoberfläche, also lokal vor allem der Konjunktiva, beeinflusst wird.

Wenn dieses eigentlich protektive Schleimhaut-immunsystem durch verschiedene Faktoren, die beim Trockenen Auge eine Rolle spielen, dereguliert wird, ergibt sich eine Überreaktion, die durch einen Verlust der normalen Immuntoleranz gekennzeichnet ist und sich dann gegen nicht-pathogene Umweltantigene richtet oder sogar gegen Bestandteile des eigenen Gewebes (Autoimmunreaktion). Diese Vorgänge gehen mit einer immunologisch modulierten Entzündungsreak-

tion einher und können in schweren Fällen eine lokale immun-suppressive Therapie erfordern.

Die Funktionsweise des Schleimhautimmunsystems der Augenoberfläche sowie seine Funktionsstörungen beim Trockenen Auge werden in diesem Beitrag dargestellt.

3.2. Anatomie der Augenoberfläche und des Schleimhautimmunsystems

3.2.1. Aufbau der Augenoberfläche und des Tränenfilms

Die Augenoberfläche wird, mit Ausnahme der Kornea, von der Bindehaut (Konjunktiva) gebildet, deren Fläche weit größer als die der Kornea ist. Beide bestehen aus einer epithelialen Oberfläche, die physiologisch feucht ist und stellen daher eine Schleimhaut (Mukosa) dar [47].

Um ihre Hauptaufgaben im Sinne einer Befeuchtung der Augenoberfläche und der Stabilisierung des Tränenfilms erfüllen zu können, die der Integrität und Transparenz der Kornea zur Erfüllung ihrer optischen Funktion dienen [48], besitzt auch die Konjunktiva eine feuchte Oberfläche. Dies ist letztlich sehr ähnlich den Verhältnissen auch an anderen Schleimhäuten des Körpers mit dem Unterschied, dass die oberflächliche Flüssigkeitsschicht (Tränenflüssigkeit) der Augenoberfläche aufgrund der notwendigen optischen Funktion, zumindest im präkornealen interpalpebralen Bereich, zu einer homogenen, sehr dünnen Schicht, dem Tränenfilm [49], ausgezogen werden muss; dieses geschieht durch den Lidschlag. Unterhalb der Epithelschicht der Konjunktiva befindet sich ein lockeres Bindegewebe (Lamina propria), das typischerweise Immunzellen enthält (☞ Abb. 3.1), die zusammen mit löslichen Faktoren im Gewebe und im Tränenfilm v.a. der Abwehr eines erhöhten Risikos von Keimbeseidelung an feuchten Oberflächen dienen [50].

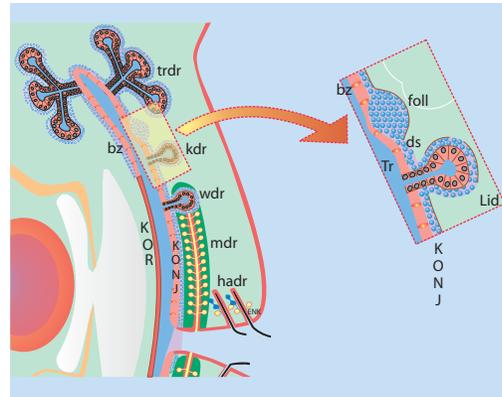


Abb. 3.1: Augenoberfläche und anhängende Drüsen mit den Zellen des mukosalen Immunsystems.

Die Schleimhaut von Kornea (Kor) und Konjunktiva (Konj) bildet einen Sack, in den das wässrige Sekret der Tränenrüse (trdr) und der akzessorischen Tränenrüssen von Krause (kdr) und Wolfring (wdr) einfließt. An den Wimpern befinden sich die Haar-assoziierten Drüsen (hadr) von Zeis u. Moll. Das Sekret der zahlreichen Becherzellen (bz) in der Konjunktiva bildet den Hauptteil der Muzinphase. Die Lipidphase wird vom Öl der Meibomdrüsen (mdr) in den Tarsalplatten der Augenlider gebildet, das auf den hinteren Lidrand abgegeben wird. Die gesamte Schleimhaut der Augenoberfläche mit Ausnahme der Kornea enthält Zellen des mukosalen Immunsystems als diffuse Schicht (ds) und als solitäre Follikel (foll), wie in der Vergrößerung einer markierten Region des Lides mit aufliegender Tränenflüssigkeit (Tr) u. akzessorischer Tränenrüse erkennbar ist.; schematische Zeichnung.

Im Bereich der Lidspalte und besonders auf der Oberfläche der Kornea wird die Tränenflüssigkeit zu einer dünnen Schicht ausgezogen, die eine hohe optische Qualität ermöglicht. Entsprechend sind Inhomogenitäten des Tränenfilms, wie sie z.B. beim emotionalen Tränenüberschuss (Weinen) oder beim Trockenen Auge auftreten, mit einem inkonstanten und reduzierten Visus verbunden.

Dieser präkorneale Tränenfilm [49] besteht, bereits aus frühen Untersuchungen [51] bekannt, aus 3 chemisch unterschiedlich zusammengesetzten Schichten, von denen sich die beiden unteren vermutlich zu gewissen Anteilen vermischen (☞ Abb. 3.2). Die Schichtdicke des gesamten Tränenfilms sowie seiner einzelnen Schichten ist noch nicht zufriedenstellend geklärt [49, 52].

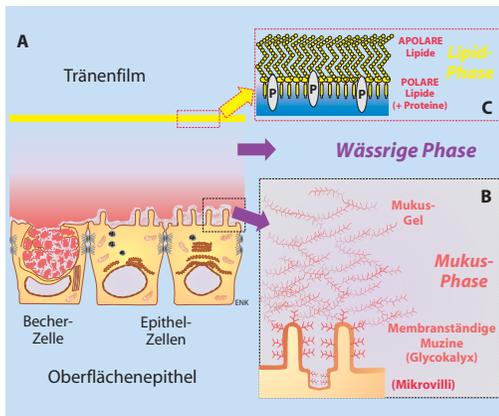


Abb. 3.2: Tränenfilm. Der Tränenfilm besteht im Prinzip aus 3 Phasen, die nährungsweise Schichten bilden (A). Die Muzinschicht (B) besteht aus der zellständigen Glykokalyx der Epithelzelloberfläche, der die löslichen Muzine aus den Becherzellen aufgelagert sind. Diese vermischen sich mit der darüber liegenden wässrigen Phase, die durch eine dünne oberflächliche Lipidschicht bedeckt wird (C). Die Lipidschicht besteht aus einer unteren Schicht von polaren Lipiden und vermutlich Proteinen, die die Adhärenz mit der wässrigen Phase vermitteln, sowie aus einer äußeren Schicht apolarer Lipide (nach [1], mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlages).

Der Tränenfilm wird v.a. durch die wässrige Sekretion der Tränendrüse in der Orbita und den akzessorischen Tränendrüsen im Lidbindegewebe hergestellt (Abb. 3.1). In der wässrigen Schicht befindet sich eine bisher unbekannte Zahl von Wirkstoffen, meist Proteine, die von den Tränendrüsen selbst, vom Oberflächenepithel oder von einem Transsudat des Blutserums gebildet werden [38, 39, 53-58]. Diese Proteine regulieren z.B. als Wachstumsfaktoren oder Hormone die Reifung und Integrität der Augenoberfläche, stabilisieren als rheologische Faktoren den Aufbau des Tränenfilms oder haben eine protektive Funktion im Rahmen der Immunabwehr.

Die Adhärenz der wässrigen Tränenphase an das Epithel der Augenoberfläche wird durch eine Schleimschicht gebildet, die aus membranständigen Muzinen (Glykokalyx) in der Zellmembran der konventionellen Epithelzellen von Kornea und Konjunktiva [59] besteht und die Benetzbarkeit des Epithels ermöglicht [60]. Ein weiterer und vermutlich größerer Anteil besteht aus den löslichen Muzinen, die von den Becherzellen der Konjunktiva [61] gebildet werden. Sie sind der Glykokalyx

aufgelagert und vermischen sich mit der wässrigen Phase. Diese Schleimschicht ist adhäsiv und außerdem befinden sich daran gebunden auch zahlreiche lösliche Faktoren der Immunabwehr (z.B. Antimikrobielle Peptide (AMP) und spezifisches sekretorisches IgA). Krankheitserreger und mikrobielle Antigene sowie auch Umweltstäube und Zelltrümmer werden so gebunden und unschädlich gemacht [62]. Mit dem regelmäßigen Lidschlag wird die lösliche Muzinschicht erneuert, zusammengeschoben und durch die ableitenden Tränenwege oder als Mukusstrang im nasalen Lidwinkel von der Augenoberfläche entfernt [63].

Die äußere dünne Lipidschicht des Tränenfilms [64] wird im Wesentlichen von den Meibomdrüsen [65, 66] gebildet, obwohl auch die Epithelien der Augenoberfläche vermutlich in gewissem Ausmaß Lipide bilden können [67], und hat v.a. die Aufgabe die Verdunstung der wässrigen Phase zu vermindern [68-72]. Wenn sie in Menge oder Qualität vermindert ist kommt es zu einem evaporativen Tränenmangel durch erhöhte Verdunstung der wässrigen Phase mit Verminderung der Tränenfilmstabilität und konsequent verkürzter Tränenfilmaufreißzeit (TAZ), Oberflächendefekten und Symptomen eines Trockenen Auges. Störungen der Lipidphase durch Funktionsstörungen der Meibomdrüsen werden als 'Meibomian Gland Dysfunction' (MGD) [73-80] bezeichnet und wurden als häufigster Kofaktor [74, 81] und vermutlich wichtigster Auslöser eines Trockenen Auges erkannt. MGD ist ein wesentlicher Auslöser der sogenannten hinteren Blepharitis und sollte als eigenständiges Krankheitsbild von der entzündlichen vorderen Blepharitis abgegrenzt werden [82]. MGD führt bei längerem Bestehen, durch zu späte Diagnose und Therapie, neben den Störungen des Tränenfilms auch zu einer progredienten degenerativen Zerstörung des Meibomdrüsenorgans mit sekundärer Lipid-Mindersekretion [73, 83-86].

3.2.2. Mukosales Immunsystem der Augenoberfläche

Die Konjunktiva ist verschiedensten Umwelteinflüssen ausgesetzt. Neben physikalisch-chemischen Noxen und Stäuben ist dies auch eine Besiedelung durch Keime, die in unterschiedlichem Maße pathogen werden können [87-89]. Obwohl die Konjunktiva im Vergleich zu anderen Schleim-

häuten des Körpers eine sehr direkte Exposition zur Außenwelt zeigt, ist sie durch das protektive mukosale Immunsystem üblicherweise doch erstaunlich resistent gegen Infektionen.

3.2.2.1. Komponenten des mukosalen Immunsystems

► Lösliche Immunfaktoren im Tränenfilm und Schleimhautgewebe

Ein Teil des mukosalen Immunsystems besteht aus einem chemischen Abwehrsystem löslicher Proteine, die sich im Gewebe und auch im Tränenfilm befinden (Abb. 3.3) und von Epithelzellen und Immunzellen produziert werden. Enzymatisch oder anderweitig aktive unspezifische antimikrobielle Peptide und Proteine (AMP), wie z.B. Lysozym und Lactoferrin, aber auch erst in den letzten Jahren beschriebene Substanzen, wie z.B. Defensine, TFF etc., werden in der Tränenrinne, aber auch in der Konjunktiva selbst und in den ableitenden Tränenwegen produziert [90-93]. AMP erkennen Mikroben unspezifisch, z.B. anhand ihrer von Körperzellen unterschiedlichen Zelloberfläche. Weiterhin tragen spezifische Immunglobuline, vor allem IgA, die von Plasmazellen gebildet werden, zur Abwehr gegen Antigene, v.a. von Mikro-

ben bei, die bereits vorher in Kontakt mit dem Immunsystem gekommen waren. Es bestand lange die Ansicht, dass allein das IgA aus der Tränenrinne [94, 95] für einen passiven Schutz der Augenoberflächenepithelien sorgt. Inzwischen konnte aber gezeigt werden, dass auch die gesamte Schleimhaut der Konjunktiva [96] und der ableitenden Tränenwege [97] aktiv IgA produziert, das im Gewebe und im Tränenfilm zur Immunabwehr beiträgt [98]. Außerdem gibt es zahlreiche lösliche Botenstoffe (Zytokine und Chemokine), die die Zellen funktionell verbinden [99].

► Zelluläres mukosales Immunsystem der Augenoberfläche

In der Schleimhaut der gesamten Augenoberfläche im engeren Sinne und der mukosalen Adnexe (Tränenrinne und ableitende Tränenwege) gibt es neben den löslichen Faktoren der Immunabwehr auch ein zelluläres Immunsystem. Dies wird in einer direkten Aktion gegen Antigene tätig, ist aber auch ein wesentlicher Produzent der löslichen Immunfaktoren. Das zelluläre mukosale Immunsystem besteht aus Lymphozyten und aus akzessorischen Leukozyten (dendritische Zellen, Makrophagen, neutrophile Granulozyten, Mastzellen). Diese sind untereinander und mit den Stromazellen-

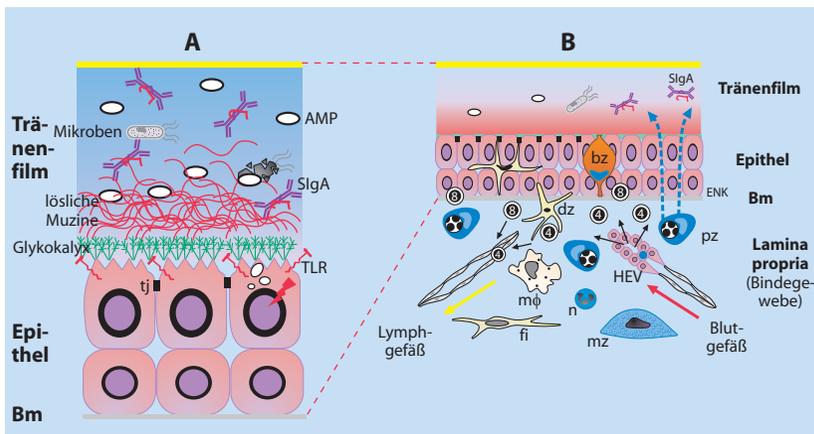


Abb. 3.3: Diffuses mukosales Immunsystem der Augenoberfläche.

(A) Das mukosale Immunsystem besteht aus löslichen Faktoren (z.B. unspezifischen antimikrobiellen Peptiden (AMP) u. spezifischen sekretorischen IgA Antikörpern (SiGA), die beide teils an die löslichen Muzine binden, und aus zellständigen Rezeptoren für Mikrobenantigene (z.B. Toll-like Rezeptoren, TLR). Die zelluläre Komponente (B) besteht aus Lymphozyten (CD4 o. CD8 positive T-Helferzellen) und Plasmazellen (pz) sowie aus akzessorischen Leukozyten (z.B. dendritische Zellen, dz; Makrophagen, mφ; neutrophile Granulozyten, n; Mastzellen, mz), die als diffuse Zellschicht über die gesamte Schleimhautoberfläche verteilt sind. Einzelne Lymphozyten kommen auch zwischen den basalen Epithelzellen vor. Die Leukozyten interagieren mit den Stromazellen (Fibrozyten, fi) und mit den Epithelzellen sowie den Gefäßen. Normale flachendotheliale und spezielle hochendotheliale (HEV) Blutgefäße dienen der Einwanderung und Lymphgefäße der Auswanderung der Zellen.

len des Bindegewebes (Fibrozyten) sowie mit dem Oberflächenepithel durch lösliche Immunmodulatoren verbunden. Zytokine regulieren den Aktivitätsstatus der Zellen und vermitteln z.B. Entzündungsreize an umliegende Zellen, während Chemokine darüber hinaus auch chemotaktisch wirken, also die Wanderung der Zellen, zum Beispiel zum Ort eines Entzündungsreizes hin, regulieren. Dadurch können alle Zelltypen der Schleimhäute zusammenarbeiten und eine effektive Immunabwehr sicherstellen.

Dass in der Konjunktiva Lymphozyten anwesend sind, ist schon länger bekannt [100-103]. Die Frage jedoch, ob hier ein funktionell aktives lymphatisches Gewebe vorliegt, war lange ungenügend untersucht. Ein Problem bestand darin, dass die Prinzipien der mukosalen Immunologie unzureichend erforscht waren und daher Lymphozyten wie auch andere Leukozyten generell als Entzündungszellen verkannt wurden [103]. Ein weiteres Problem bestand darin, dass Plasmazellen, obwohl sie in den Tränendrüsen als physiologischer normaler Bestandteil akzeptiert waren, trotzdem im funktionell und räumlich nahegelegenen Gewebe der Konjunktiva als pathologisch betrachtet wurden [104-106]. Weiterhin wurden die Untersuchungen meist an kleinen Gewebeproben von klinischen Biopsien, teils von pathologisch verändertem Gewebe, durchgeführt, die schwer exakt zu lokalisieren sind und daher zu falschen Rückschlüssen auf die Verteilung der Immunzellen führten. Später wurde gezeigt, dass in der Konjunktiva [107] und in den ableitenden Tränenwegen [97] sogenannte Mukosa-spezifische Lymphozyten sind und dass in der Konjunktiva ein übliches Muster von Lymphozyten und anderen Leukozyten [107, 108] vorkommt.

► **Diffuses und organisiertes lymphatisches Gewebe sind durch die Wanderung lymphatischer Zellen miteinander verbunden**

Neben den diffus im Gewebe verteilten Zellen kommen auch Anhäufungen von Lymphozyten vor, die organisierte Lymphfollikel bilden. Organisierte Lymphfollikel aus B-Lymphozyten und die umgebenden T-Zellzonen haben die Funktion, Antigene vom Lumen, also aus dem Tränenfilm, aufzunehmen und dann gezielt Effektorzellen zu bilden, die als Plasmazellen indirekt über die produzierten Immunglobuline und als T-Lymphozyten direkt gegen Antigene tätig werden und wesentliche Komponenten der Immunabwehr darstellen. Lymphfollikel wie auch das diffuse lymphatische Gewebe sind in der tarso-orbitalen Konjunktiva am stärksten ausgeprägt. Sie sind nur bei etwa 2/3 älterer Erwachsener zu finden, in einer Anzahl von ca. 10 Follikeln pro Auge [96]. Bei Kindern dagegen sind sie deutlich häufiger und bei Jugendlichen vor der Pubertät immer zu finden [101]. In ähnlicher Häufigkeit treten Lymphfollikel in den ableitenden Tränenwegen auf [97, 109].

Das diffuse und follikuläre lymphatische Gewebe ist durch die regulierte Wanderung lymphatischer Zellen in Gefäßen miteinander verbunden (Abb. 3.4). So können nach der Erkennung von Antigenen an einem Ort Effektorzellen dagegen aktiviert, differenziert und vermehrt werden. Diese Effektorzellen können dann von dort, durch direkte Wanderung in der Mukosa oder durch einen Abtransport über ableitende Lymphgefäße und späterem Wiedereintritt in die Blutbahn (Rezirkulation lymphatischer Zellen), im Körper verteilt werden und in den diffusen lymphatischen Geweben der Augenoberfläche und anderer Organe verteilt werden [110, 111]. Funktionell ist z.B. nachgewiesen, dass B-Zellen in Follikeln der Konjunktiva durch Antigenexposition zu Plasmazellvorläufern werden [112] und dass nach topischer Applikation von retinalen S-Antigenen eine protektive Toleranz entsteht [113, 114].

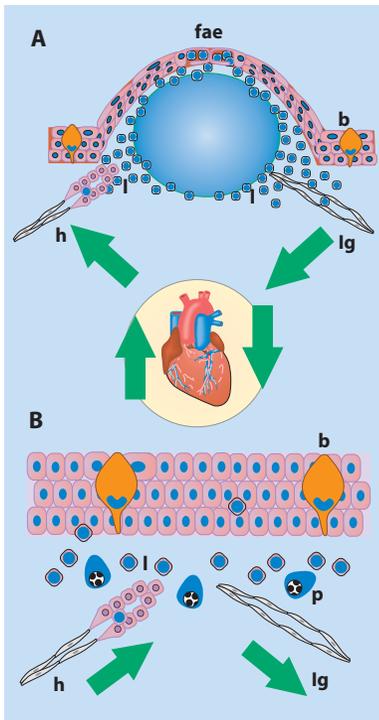


Abb. 3.4: Funktionelle Zusammenarbeit von follikulärem und diffusem lymphatischem Gewebe.

Mukosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe kommt in einer follikulär organisierten Form (A) mit einem follikelassoziierten Epithel (fae) ohne Becherzellen (b) und einer diffusen Form (B) mit Plasmazellen (p), Lymphozyten (l) und anderen Leukozyten (Abb. 3.3) vor. Antigene werden durch spezialisierte M-Zellen im FAE vom Lumen in das Gewebe transportiert und antigen-spezifische Lymphozyten werden später zu Effektorzellen dagegen aktiviert. Lymphozyten (l) können durch hochendotheliale Venulen (h) in das Gewebe einwandern und es durch Lymphgefäße (lg) wieder verlassen, um im Körper zu rezirkulieren. Auf diese Weise können Effektorzellen in den peripheren Immunorganen des Körper verteilt werden (stark schematisierte Darstellung) (nach [110], mit freundlicher Genehmigung des Kaden Verlages).

Inzwischen konnte in Untersuchungen [115-117] kompletter menschlicher Gewebe von Körperspendern und von Tiergeweben durch verschiedene Untersuchungstechniken gezeigt werden, dass sowohl in der Konjunktiva [96] wie auch in den ableitenden Tränenwegen [97] ein reguläres mukosales Immunsystem vorliegt. Dieses Gewebe wird, entsprechend der internationalen englischsprachigen Nomenklatur für das Schleimhautimmunsystem [118], in der Konjunktiva als “Con-

conjunctiva-Associated Lymphoid Tissue” (CALT) [96] und in den ableitenden Tränenwegen als “Lacrimal Drainage-Associated Lymphoid Tissue” (LDALT) [97] bezeichnet. CALT und LDALT gehören in den Kontext des mukosalen Immunsystems des Körper, das als ‘Mukosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe’ oder im englischen als “Mukosa-associated lymphoid tissue” (MALT) bezeichnet wird, und auch in anderen Organen wie dem Darm, den Luftwegen oder dem Urogenitaltrakt vorkommt.

3.2.2.2. Das mukosale Immunsystem der Augenoberfläche bildet ein zusammenhängendes Augen-assoziiertes lymphatisches Gewebe

In weiteren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass das lymphatische Gewebe von Tränen-drüse, Konjunktiva und ableitenden Tränenwegen über verschiedene Mechanismen verbunden ist (Abb. 3.5).

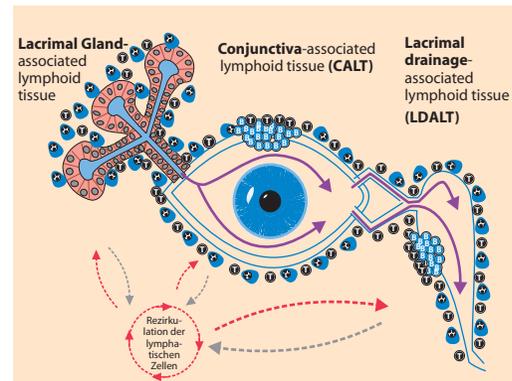


Abb. 3.5: Zusammensetzung des Augen-assoziierten lymphatischen Gewebes (EALT).

Das mukosale Immunsystem der kontinuierlichen Schleimhautoberfläche von Konjunktiva (CALT), ableitenden Tränenwegen (LDALT) und dem anhängenden Drüsen-assoziierten lymphatischen Gewebe der Tränen-drüse bildet zusammen ein Augen-assoziiertes lymphatisches Gewebe (engl.: ‘Eye-Associated Lymphoid Tissue’ (EALT) als funktionelle Einheit. Die einzelnen Teile sind außer durch die Kontinuität des Gewebes durch den Fluss der Tränen (durchgehende Linien) und die Reizkulation der lymphatischen Zellen (punktuierte Linien) durch spezialisierte Gefäße verbunden (nach [47], mit freundlicher Genehmigung des Karger Verlages).

1. CALT und LDALT sind anatomisch kontinuierlich miteinander und über deren Ausführungsgänge [97] auch mit dem Drüsen-assoziierten lymphatischen Gewebe der Tränendrüse verbunden [96, 119]. Dadurch stellt die eigentliche Augenoberfläche und ihre mukosale Adnexe eine kontinuierliche Schleimhautoberfläche dar.

2. In CALT und LDALT kommen spezifische Gefäße vor, einschließlich sogenannter hochendothelialer Venulen (HEV) [120, 121], die spezifische Moleküle (Homingrezeptoren) [122] auf der Endotheloberfläche besitzen zur Vermittlung der regulierten und vermutlich organspezifischen Einwanderung von Lymphozyten aus den Blutgefäßen in das lymphatische Gewebe [111]. Ähnliche Homingrezeptoren befinden sich auch auf den konventionellen flachendothelialen Gefäßen in der Tränendrüse. Dadurch ist ein Austausch von erzeugten protektiven Effektorzellen, z.B. T-Lymphozyten und Plasmazellen möglich.

3. Die Schleimhautoberflächen von der Tränendrüse über die Konjunktiva bis in die ableitenden Tränenwege sind durch den Fluss der Tränen verbunden und teilen sich dadurch protektive Faktoren, aber vermutlich auch pathogene Faktoren, die durch die offene Lidspalte im Bereich von Konjunktiva und Kornea auf die Augenoberfläche gelangen.

Diese Ergebnisse haben zum Konzept geführt, dass das lymphatische Gewebe der eigentlichen Augenoberfläche zusammen mit ihrer mukosalen Adnexe ein Augen-assoziiertes lymphatisches Gewebe, im Englischen "*Eye-Associated Lymphoid Tissue*" (EALT) bildet [97, 119, 123, 124]. EALT fasst das lymphatische Gewebe der Tränendrüse, der Konjunktiva (CALT) und der ableitenden Tränenwege (LDALT) zusammen. EALT gehört als neu entdeckter Teil des Immunsystems des Körpers in eine Reihe mit den anderen bisher bekannten Teilen des Schleimhautimmunsystems des Körpers, z.B. mit dem '*gut-associated lymphoid tissue*' (GALT) im Darm und dem '*bronchus-associated lymphoid tissue*' (BALT) der Luftwege. Die Erkenntnis, dass die Augenoberfläche ein reguläres Schleimhautimmunsystem mit üblichen Charakteristika besitzt, hat das Verständnis der normalen Homöostase an der Augenoberfläche, ihrer Immunabwehrmechanismen und auch der Entstehung möglicher immunmodulierter inflammatorischer

Störungen, z.B. bei weit verbreiteten Erkrankungen wie dem Trockenen Auge oder der okulären Allergie, erleichtert [1, 16, 17, 125-128].

3.3. Einfluss des Schleimhautimmunsystems auf das Trockene Auge

In späteren Stadien des Trockenen Auges können entzündliche Veränderungen auftreten, die bei längerem Bestehen selbstverstärkend sind und sich dann mit konventioneller Therapie durch Tränenersatzmittel nicht mehr zufriedenstellend behandeln lassen. Der Grund dafür liegt in einem zuerst subklinischen und dann klinischen Entzündungsprozess, der durch eine Deregulation des Schleimhautimmunsystems der Augenoberfläche, also lokal vor allem des CALT der Konjunktiva, bedingt ist.

Wenn dieses System durch verschiedene Faktoren, die auch beim Trockenen Auge eine Rolle spielen, dereguliert wird, ergibt sich eine Überreaktion, die durch einen Verlust der normalen Immuntoleranz gekennzeichnet ist und sich dann gegen nicht-pathogene Umweltantigene richtet oder sogar gegen Bestandteile des eigenen Gewebes (Autoimmunreaktion). Diese Vorgänge gehen mit einer immunologisch modulierten Entzündungsreaktion einher und können in schweren Fällen eine immunsuppressive Therapie erfordern.

3.3.1. Die normale Funktion des EALT ist protektiv

Die normale Funktion des mukosalen Immunsystems der Augenoberfläche (EALT) besteht darin, eine Immuntoleranz gegen die Vielzahl der nicht-pathogenen Antigene herzustellen, die ständig durch die offene Lidspalte auf die Schleimhaut der Konjunktiva und Kornea gelangen. Da diese Antigene zwar fremd für den Körper aber nicht pathogen sind, ist es notwendig eine Abwehrreaktion, die Entzündungsmechanismen enthält, zu vermeiden, um die damit einhergehende Zerstörung der empfindlichen Struktur der Augenoberfläche, vor allem der für die optische Funktion wichtigen Hornhaut, zu verhindern. Dass diese Nicht-Reaktion eine erwünschte und notwendige Maßnahme ist, zeigt sich z.B., wenn bei einer okulären Allergie unnötige und überschießende Entzündungsreaktionen gegen eigentlich unschädliche

Antigene wie Blütenpollen oder Hausstaub ausgelöst werden, die zu erheblichen Symptomen und Schädigungen der Augenoberfläche führen.

Weiterhin dürfen natürlich auch die normalen Gewebestandteile keine Abwehrreaktionen auslösen. Ein Ausfall dieser Schutzfunktion äußert sich in Autoimmunreaktionen, wie sie z.B. beim Pemphigoid auftreten, bei dem durch einen Defekt in der Immuntoleranz Autoantikörper gegen die Haftstrukturen (Hemidesmosomen) der Epithelzellen auf ihrer Basalmembranunterlage gebildet werden.

Da andererseits auch eine Vielzahl von gefährlichen Pathogenen auf die Augenoberfläche gelangen kann, ist es natürlich trotzdem notwendig das mukosale Immunsystem ständig alarmbereit zu halten. Daher ist die Balance zwischen einer Immuntoleranz und der Abwehr von Pathogenen durch eine "kurative" Entzündung die Hauptfunktion des mukosalen Immunsystems (Abb. 3.6). Dieses Gleichgewicht wird durch den Modus der Präsentation von Antigenen reguliert.

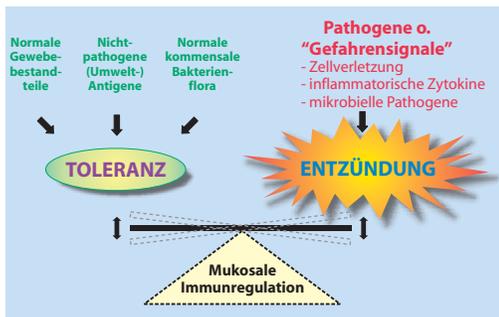


Abb. 3.6: Balance des mukosalen Immunsystems zwischen Toleranz und Immunität.

Die Balance zwischen der Immuntoleranz gegen nicht-pathogene Antigene sowie Autoantigene des eigenen Gewebes und der Auslösung von meist entzündlichen Abwehrreaktionen gegen gefährliche Pathogene ist die wichtigste Funktion des mukosalen Immunsystems. Der Schwerpunkt liegt auf der Erhaltung der Immuntoleranz mit der Vermeidung unnötiger entzündlicher Reaktionen, die das Gewebe schädigen können.

3.3.2. Deregulation des mukosalen Immunsystems durch chronische Oberflächenirritation beim Trockenen Auge kann zum Verlust der Immuntoleranz führen

Beim Trockenen Auge kommt es zu verschiedenen chronischen Irritationen und Verletzungen des Epithels der Augenoberfläche [129, 130]. Diese bestehen z.B. in einer chronischen mechanischen Irritation [131], in einer chemischen Irritation durch Hyperosmolarität [132] oder in Verletzungen der Epitheloberfläche (Abb. 3.7). Hierdurch kommt es zu einer Aktivierung der Epithelzellen. Diese reagieren mit verschiedenen Veränderungen, die mit der normalen immunologischen Homöostase nicht vereinbar sind und die physiologische Immuntoleranz durchbrechen. Dadurch kommt es zu einer Überreaktion des mukosalen Immunsystems der Augenoberfläche (EALT), die einen entzündlichen Gewebeumbau einleitet [17].

Die Epithelzellen erwerben durch die Aktivierung im Rahmen dieser Störungen die Fähigkeit zur Bildung pro-inflammatorischer Zytokine (z.B. Interferon-gamma, $\text{IFN-}\gamma$; die Interleukine 1, 6, 8, 17; Tumornekrose Faktor alpha, $\text{TNF-}\alpha$) [133, 134], die als Botenstoffe in das Gewebe und in den Tränenfilm abgegeben werden und weitere Zellen im Umfeld aktivieren. Außerdem zeigen sie an ihrer Zelloberfläche ein Molekül zur Antigenpräsentation (MHC-II) sowie Moleküle zur Kostimulation (z.B. *intercellular adhesion molecule* 1, ICAM-1; CD40; CD40L) [135, 136], die als Gefahrensignale wirken, die Präsentation der Antigene beeinflussen und eine effektive, typischerweise entzündliche Aktivierung von Lymphozyten [137] des ortsfestigen mukosalen Immunsystems bewirken [125]. Die Epithelzellen gewinnen dadurch die Eigenschaft einer abnormalen Präsentation von Antigenen.

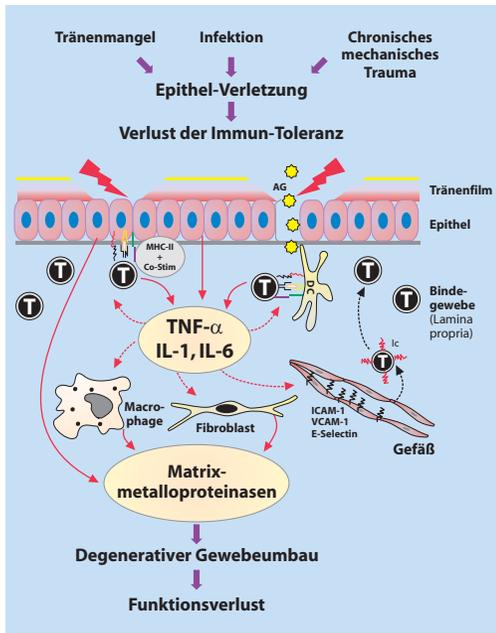


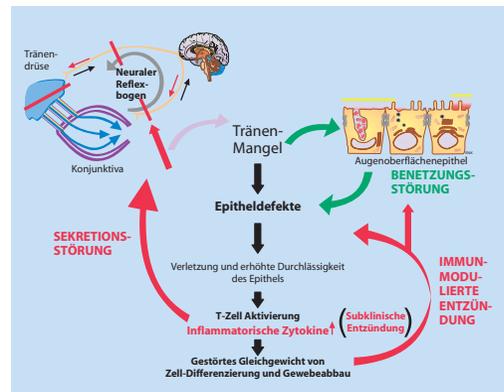
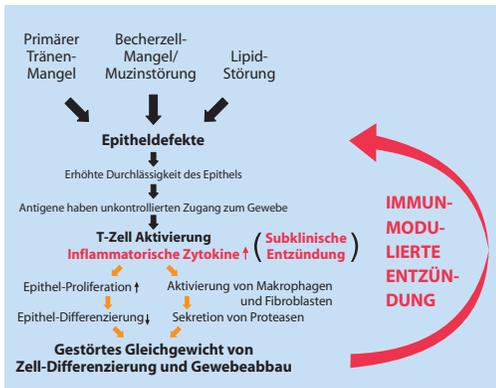
Abb. 3.7: Mechanismus der entzündlichen Deregulation.

Tränenmangel bei trockenem Auge, chronische mechanische Irritationen oder Infektionen führen zu Verletzungen und Defekten des Oberflächenepithels und können durch Epithelaktivierung zum Verlust der Immuntoleranz führen. Es kommt zum Aufbau eines entzündlichen Zytokinmilieus (z.B. mit den inflammatorischen Zytokinen $TNF\alpha$, IL-1, IL-6 etc.) als zentralem Mechanismus. Durch Zytokinstimulierung können nicht nur die professionellen antigenpräsentierenden dendritischen Zellen (DC) aktiviert werden, sondern auch die Epithelzellen erwerben über die Ausbildung des Antigenpräsentationsmoleküls MHC Klasse II (MHC-II) auf ihrer Oberfläche die Fähigkeit zur Antigenpräsentation. Dies kann zu einer abnormalen Präsentation von nicht-pathogenen und auch körpereigenen Antigenen in einem entzündlichen Kontext durch Epithelzellen und dendritische Zellen (DC) führen. Weiterhin kommt es zur Bildung und Aktivierung von Matrixmetalloproteinasen durch die Zellen des Epithels sowie durch Leukozyten und stromale Zellen im lockeren Bindegewebe (Lamina propria) der Konjunktiva. Matrixmetalloproteinasen zerstören das Gewebe und tragen wesentlich zu einem degenerativen Gewebeumbau und Funktionsverlust bei. Inflammatorische Zytokine aktivieren auch die Endothelzellen der Gefäße mit Ausbildung von Adhäsionsmolekülen, die die weitere Einwanderung von Leukozyten in das Gewebe begünstigen und somit die Entzündungsausbreitung fördern.

Verletzungen des Epithels erlauben einen unkontrollierten Eintritt von externen luminalen Antigenen, und Zellzerstörungen bewirken auch die Freisetzung von internen Zellbestandteilen (Autoantigene) mit einer Gefahr der Erzeugung von Autoimmunreaktionen gegen eigene Gewebebestandteile der Augenoberfläche. Tatsächlich ist gezeigt worden, dass in experimentellen Tiermodellen des trockenen Auges autoreaktive T-Zellen vorkommen [137]. In diesem entzündlichen Kontext entstehen durch die Präsentation von Antigenen bevorzugt T-Helfer (Th) Lymphozyten der inflammatorischen Subtypen Th-1 und Th-17 [137, 138], die weitere inflammatorische Zytokine bilden und so zur Verstärkung eines entzündlichen Mikromilieus im Gewebe und im Tränenfilm beitragen. Bei einer okulären Allergie werden auch B-Zellen gegen nicht-pathogene Antigene aus der Umwelt, die in das Gewebe eingetreten sind, aktiviert und bilden dann die bekannten IgE-Antikörper.

Makrophagen und Fibrozyten des Bindegewebes und auch die Epithelzellen bilden in einem inflammatorischen Gewebemilieu verstärkt Enzyme (wie z.B. Matrixmetalloproteinasen, MMP) [130]), die das Bindegewebe auflösen, wie es zu einer eigentlich protektiven Entzündungsreaktion mit effektiver Mikrobenzerstörung notwendig wäre, aber im Fall der chronischen entzündlichen Deregulation beim trockenen Auge zu einem degenerativen Gewebeumbau führen (Abb. 3.8). Blockierung von MMPs kann dies zum Teil verhindern [139].

Durch ein entzündliches Milieu im Gewebe werden auch die Endothelzellen der kleinen Gefäße im lockeren Bindegewebe (Lamina propria) der Schleimhaut aktiviert und zur Bildung von Adhäsionsmolekülen angeregt (z.B. interzelluläres Adhäsionsmolekül 1, ICAM-1; vaskuläres Adhäsionsmolekül 1, VCAM-1, E-Selektin) [135]. Diese erlauben eine verstärkte Bindung und massive Einwanderung von weiteren Leukozyten aus dem Gefäßlumen in das Gewebe und können so die inflammatorische Reaktion verstärken und zum histologischen Bild einer Entzündung führen [140].



a

Abb. 3.8: Verschiedene Störungen des Tränenfilms beim Trockenen Auge lösen eine chronische Entzündung mit degenerativem Gewebeumbau aus.

Die beschriebenen Mechanismen (Abb. 3.7) führen zuerst zu einer subklinischen Entzündung. Diese unterhält ein gestörtes Gleichgewicht von Zeldifferenzierung und Gewebeabbau und führt in der Folge zur weiteren Degeneration des Epithels. Dies stellt einen selbstverstärkenden Mechanismus der immunmodulierten Entzündung dar, der als Circulus vitiosus zur Progredienz des Trockenen Auges führen kann (nach [1], mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlages).

3.3.3. Der Verlust der Immuntoleranz führt zu einer chronisch progredienten immunmodulierten Entzündung mit Zerstörung der Augenoberfläche

Durch ein entzündliches Mikromilieu entstehen verschiedene Circuli vitiosi, die als selbstverstärkende Mechanismen die Störung der Augenoberfläche fördern und zu einer progredienten Entzündung der Augenoberfläche führen können (Abb. 3.9) [1, 16, 17, 138] [125].



b

Abb. 3.9: Selbstverstärkende Circuli vitiosi der immunmodulierten Augenoberflächen-Entzündung können zu einem schweren Trockenen Auge führen. Die immunmodulierte Augenoberflächen-Entzündung beim schweren entzündlichen Trockenen Auge enthält verschiedene selbstverstärkende immunmodulierte Circuli vitiosi, wie einen degenerativen Umbau der Augenoberfläche mit Zerstörung der normalen Epithelmorphologie, Plattenepithelmetaplasie und Benetzungsstörung der Oberfläche und eine entzündungsbedingte Sekretionsstörung der Tränen-drüse mit sekundärem Tränenmangel. Bei ungenügenden kompensatorischen Faktoren oder unzureichender Therapie können diese zum Vollbild (b) eines schwer entzündeten Trockenen Auges führen (Schema (a) nach [1] sowie Foto (b) aus [127], mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlages).

Die Epithelzellen werden durch den Einfluss des inflammatorischen Zytokinmilieus zu verstärkter Proliferation angeregt, während ihre Reifung vermindert ist, was zum Bild einer Plattenepithelmetaplasie mit Verminderung der Becherzellen führt [141] und so den degenerativen Gewebeumbau durch die Matrixmetalloproteinasen weiter ver-

stärkt. Da auch die oberflächlichen Muzine bei diesen Störungen unreif sind [142] wird hierdurch die Benetzungstörung der Epitheloberfläche weiter verstärkt und auch die Durchlässigkeit des Epithels im Sinne einer Verletzung erhöht. Im Rahmen der gestörten Zelldifferenzierung wird weiterhin eine erhöhte Rate des programmierten Zelltodes der Epithelzellen (Apoptose) als wichtiger Pathomechanismus des Trockenen Auges diskutiert [143]. Störungen der peripheren Hormonwirkung, vor allem ein Mangel an Androgenwirkung, die nicht nur die Drüsenfunktion in verschiedenen Aspekten fördert, sondern auch anti-entzündlich auf die Drüsen und die Augenoberfläche wirkt [20, 76, 144], sind ein weiterer negativer Einflussfaktor. Dies ist einer der Gründe die dazu beitragen, dass allgemein die Prävalenz des Trockenen Auges bei Frauen und im Allgemeinen im Alter erhöht ist [44, 145].

Es gibt weiterhin Hinweise darauf, dass Oberflächenverletzungen mit einem entzündlichen Zytokinmilieu zu einer Innervationsstörung der Augenoberfläche führen, was die Generierung und Fortleitung sekretorischer Impulse zu den Tränenrüsen, die vermutlich einen Regelkreis bilden (*lacrimo-functional unit*), hemmt. Dies führt zu einem sekretorischen Tränenmangel oder verstärkt diesen [146-148]. Durch eine verminderte Tränenproduktion oder durch eine vermehrte Evaporation bei der relativ häufigen Dysfunktion der Meibomdrüsen wird beim Trockenen Auge die Tränenmenge an der Augenoberfläche vermindert und dadurch auch ihr Austausch (*tear clearance*) reduziert, was in einer vermehrten Akkumulation entzündlicher Wirkstoffe in der relativ verminderten Tränenflüssigkeit resultiert [149].

Wenn diese Circuli vitiosi nicht rechtzeitig und in geeigneter Weise unterbrochen werden, z.B. durch Verbesserung der Umgebungsbedingungen am Arbeitsplatz (Klimaanlage, Zugluft, Bildschirmarbeit mit reduzierter Lidschlagfrequenz), durch eine ausreichende Substitution der wässrigen oder der fettigen Tränenphase oder durch die Therapie einer relativ weit verbreiteten Dysfunktion der Meibomdrüsen durch physikalische Maßnahmen (wie regelmäßige Lidrandhygiene und feuchte Wärmeanwendung [82]), kann auf die beschriebene Weise eine schwere immunmodulierte Entzündung der Augenoberfläche entstehen (Abb. 3.9). Diese ist dann mit konventionellen Maßnah-

men allein oft nicht mehr zufriedenstellend therapierbar und kann in ausgewählten Fällen den vorübergehenden Einsatz von topischer immunmodulatorischer Therapie z.B. mit den Lymphozytenaktivierungshemmern Cyclosporin oder Tacrolimus (FK506) notwendig machen [150].

3.4. Literatur

1. Knop E, Knop N, Brewitt H. [Dry eye disease as a complex dysregulation of the functional anatomy of the ocular surface. New impulses to understanding dry eye disease] Das trockene Auge als komplexe Fehlregulation der funktionellen Anatomie der Augenoberfläche. Neue Impulse zum Verständnis des trockenen Auges. *Ophthalmologie* 2003;100:917-928
2. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J* 1995;21:221-232
3. Schargus M, Geerling G. Das feuchte trockene Auge. *Der Ophthalmologe* 2009;106:235-241
4. Rüfer F, Brewitt H. Das Trockene Auge. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2004;R51-R70
5. Stolze HH. Diagnostik des Trockenen Auges in der Praxis. In: Brewitt H, Zierhut M, eds. *Trockenes Auge*. Heidelberg: Kaden Verlag, 2001:63-79
6. Brewitt H. Das "trockene Auge". *Z Allg Med* 1997;73:729-735
7. Brewitt H, Höh H, Kaercher T, Stolze HH. Das "Trockene Auge" - Diagnostik und Therapie. Empfehlungen der Arbeitsgruppe Trockenes Auge im BVA. *Z prakt Augenheilkd* 1997;18:371-379
8. Luo L, Li DQ, Pflugfelder SC. Hyperosmolarity-induced apoptosis in human corneal epithelial cells is mediated by cytochrome c and MAPK pathways. *Cornea* 2007;26:452-460
9. Li DQ, Chen Z, Song XJ, Luo L, Pflugfelder SC. Stimulation of Matrix Metalloproteinases by Hyperosmolarity via a JNK Pathway in Human Corneal Epithelial Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4302-4311
10. Rolando M, Baldi F, Zingirian M. The effect of hyperosmolarity on tear mucus ferning. *Fortschr Ophthalmol* 1986;83:644-646
11. Gilbard JP, Farris RL. Tear osmolarity and ocular surface disease in keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol* 1979;97:1642-1646
12. Knop N, Knop E. Immune modulated inflammation of the ocular surface - A change of paradigm in the understanding of dry eye disease. *Spektrum der Augenheilkunde* 2004;18:164
13. Stern ME, Pflugfelder SC. Inflammation in dry eye. *Ocul Surf* 2004;2:124-130

14. Dana MR, Hamrah P. Role of immunity and inflammation in corneal and ocular surface disease associated with dry eye. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:729-738
15. Dursun D, Wang M, Monroy D, Li DQ, Lokeshwar BL, Stern M, Pflugfelder SC. Experimentally induced dry eye produces ocular surface inflammation and epithelial disease. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:647-655
16. McDermott AM, Perez V, Huang AJ, Pflugfelder SC, Stern ME, Baudouin C, Beuerman RW, Burns AR, Calder VL, Calonge M, Chodosh J, Coster DJ, Dana R, Hazlett LD, Jones DB, Kim SK, Knop E, Li DQ, Mitchell BM, Niederkorn JY, Pearlman E, Wilhelmus KR, Kurie E. Pathways of corneal and ocular surface inflammation: a perspective from the Cullen symposium. *Ocul Surf* 2005;3:S131-S138
17. Knop E, Knop N. Influence of the Eye-associated Lymphoid Tissue (EALT) on Inflammatory Ocular Surface Disease. *The Ocular Surface* 2005;3:S180-S186
18. Bron AJ, Yokoi N, Gafney E, Tiffany JM. Predicted phenotypes of dry eye: proposed consequences of its natural history. *Ocul Surf* 2009;7:78-92
19. Brewitt H, Kaercher T, Rüfer F. [Dry eye and blepharitis] Trockenes Auge und Blepharitis. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2008;225:R15-R36
20. Sullivan DA. Tearful relationships? Sex, hormones, the lacrimal gland, and aqueous-deficient dry eye. *Ocul Surf* 2004;2 :92-123
21. Sullivan DA, Yamagami H, Liu M, Steagall RJ, Schirra F, Suzuki T, Krenzer KL, Cermak JM, Sullivan RM, Richards SM, Schaumberg DA, Dana MR, Sullivan BD. Sex steroids, the meibomian gland and evaporative dry eye. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:389-399
22. Erb C. Psychosomatische Betrachtung der Keratokonjunktivitis sicca. In: Brewitt H, Zierhut M, eds. *Trockenes Auge*. Heidelberg: Kaden Verlag, 2001:97-101
23. Nepp J, Tsubota K, Goto E, Schauersberger J, Schild G, Jandrasits K, Abela C, Wedrich A. The effect of acupuncture on the temperature of the ocular surface in conjunctivitis sicca measured by non-contact thermography: preliminary results. *Adv Exp Med Biol* 2002;506: 723-726
24. Nepp J, Wedrich A, Akramian J, Derbolav A, Mudrich C, Ries E, Schauersberger J. Dry eye treatment with acupuncture. A prospective, randomized, double-masked study. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:1011-6.: 1011-1016
25. Uchiyama E, Aronowicz JD, Butovich IA, McCulley JP. Increased evaporative rates in laboratory testing conditions simulating airplane cabin relative humidity: an important factor for dry eye syndrome. *Eye Contact Lens* 2007;33:174-176
26. Barabino S, Shen L, Chen L, Rashid S, Rolando M, Dana MR. The controlled-environment chamber: a new mouse model of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2766-2771
27. Ousler GW, III, Abelson MB, Nally LA, Welch D, Casavant JS. Evaluation of the time to natural compensation in normal and dry eye subject populations during exposure to a controlled adverse environment. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:1057-1063
28. Tsubota K, Nakamori K. Dry eyes and video display terminals [letter]. *N Engl J Med* 1993;328 :584
29. Franck C. Fatty layer of the precorneal film in the 'office eye syndrome'. *Acta Ophthalmol Copenh* 1991; 69:737-743
30. Hanne W, Brewitt H. Veränderungen von Sehfunktionen durch Arbeit am Datensichtgerät [Changes in visual function caused by work at a data display terminal]. *Ophthalmologie* 1994;91:107-112
31. Toda I, Fujishima H, Tsubota K. Ocular fatigue is the major symptom of dry eye. *Acta Ophthalmol Copenh* 1993;71:347-352
32. Goto E, Ishida R, Kaido M, Dogru M, Matsumoto Y, Kojima T, Tsubota K. Optical aberrations and visual disturbances associated with dry eye. *Ocul Surf* 2006;4: 207-213
33. Lemp MA. Contact lenses and associated anterior segment disorders: dry eye, blepharitis, and allergy. *Ophthalmol Clin North Am* 2003;16:463-469
34. Begley CG, Caffery B, Nichols KK, Chalmers R. Responses of contact lens wearers to a dry eye survey. *Optom Vis Sci* 2000;77:40-46
35. Farris RL. Contact lenses and the dry eye. *Int Ophthalmol Clin* 1994;34:129-136
36. Roth HW. Dry Eye in Wearers of Contact Lenses [Zur Problematik des Trockenen Auges beim Kontaktlinsenträger]. In: Lemp M, Marquardt R, eds. *The Dry Eye. A Comprehensive Guide / Das trockene Auge in Klinik und Praxis*. Springer Verlag: Berlin, Heidelberg, 1991:221-242
37. Farris RL. Contact lens wear in the management of the dry eye. *Int Ophthalmol Clin* 1987;27:54-60
38. Bron AJ. Diagnosis of dry eye. *Surv Ophthalmol* 2001; 45 Suppl 2:S221-6.:S221-S226
39. Bron AJ. The Doyne Lecture. Reflections on the tears. *Eye* 1997;11 (Pt 5):583-602
40. Bron AJ. Non-Sjogren dry eye: pathogenesis diagnosis and animal models. *Adv Exp Med Biol* 1994;350:471-488
41. Tomlinson A, Thai LC, Doane MG, McFadyen A. Reliability of measurements of tear physiology. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:1097-1105

42. Ruprecht KW, Schirra F. Epidemiologie des Trockenen Auges. In: Brewitt H, Zierhut M, eds. *Trockenes Auge*. Heidelberg: Kaden Verlag, 2001:57-60
43. Brewitt H. Das Trockene Auge. Was war ? Was ist? Was wird? *Z prakt Augenheilkd* 2000;21:52-58
44. Schaumberg DA, Sullivan DA, Dana MR. Epidemiology of dry eye syndrome. *Adv Exp Med Biol* 2002;506: 989-998
45. Caffery BE, Richter D, Simpson T, Fonn D, Doughty M, Gordon K. CANDEES. The Canadian Dry Eye Epidemiology Study. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:805-6.:805-806
46. Lemp MA. Epidemiology and classification of dry eye. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:791-803
47. Knop E, Knop N. Anatomy and Immunology of the Ocular Surface. In: Niederkorn JY, Kaplan H J, eds. *Immune Response and the Eye*. Karger, Basel, 2007:36-49
48. Dilly PN. Contribution of the epithelium to the stability of the tear film. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1985;104: 381-389
49. Tiffany JM. The normal tear film. *Dev Ophthalmol* 2008;41:1-20.:1-20
50. Sack RA, Nunes I, Beaton A, Morris C. Host-defense mechanism of the ocular surfaces. *Biosci Rep* 2001;21: 463-480
51. Wolff E. The mucocutaneous junction of the lid margin and the distribution of the tear fluid. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1946;66:291-308
52. King-Smith PE, Fink BA, Hill RM, Koelling KW, Tiffany JM. The thickness of the tear film. *Curr Eye Res* 2004;29:357-368
53. Knop E, Knop N. New Techniques in Lacrimal Gland Research. The magic juice and how to drill for it. *Ophthalmic Res* 2008;40:2-4
54. Jacob JT, Ham B. Compositional Profiling and Biomarker Identification of the Tear Film. *Ocul Surf* 2008;6: 175-185
55. Sack RA, Conradi L, Krumholz D, Beaton A, Sathe S, Morris C. Membrane Array Characterization of 80 Chemokines, Cytokines, and Growth Factors in Open- and Closed-Eye Tears: Angiogenin and Other Defense System Constituents. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46: 1228-1238
56. Inada K, Baba H, Okamura R. Studies of human tear proteins: 4. Analysis by crossed immunoelectrophoresis of tears in various diseases. *Jpn J Ophthalmol* 1985;29: 212-221
57. McGill J, Liakos G, Seal D, Goulding N, Jacobs D. Tear film changes in health and dry eye conditions. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1983;103:313-317
58. Haggerty CM, Larke JR. Human tear protein fractions during waking hours. *Ophthalmic Physiol Opt* 1982;2:187-191
59. Argueso P, Gipson IK. Epithelial mucins of the ocular surface: structure, biosynthesis and function. *Exp Eye Res* 2001;73:281-289
60. Holly FJ, Lemp M. Wettability and wetting of corneal epithelium. *Exp Eye Res* 1971;11:239-250
61. Greiner JV, Henriquez AS, Covington HI, Weidman TA, Allansmith MR. Goblet cells of the human conjunctiva. *Arch Ophthalmol* 1981;99:2190-2197
62. Gipson IK, Hori Y, Argueso P. Character of ocular surface mucins and their alteration in dry eye disease. *Ocul Surf* 2004;2:131-148
63. Adams A. Conjunctival surface mucus. In: Holly FJ (Ed), *Proc 1 Int Tear Film Symposium*, Lubbock, Texas, 1985;304-310
64. Bron AJ, Tiffany JM, Gouveia SM, Yokoi N, Voon LW. Functional aspects of the tear film lipid layer. *Exp Eye Res* 2004;78:347-360
65. Knop E, Knop N. Anatomical and Developmental Background of the Meibomian Gland. In: Tiffany JM, ed. *Proceedings of the Meibom 2000 Workshop*, Boca Raton, Fl in *The Meibomian Glands and their Secretion*. 2000:
66. Knop N, Knop E. [Meibomian glands. Part I: Anatomy, embryology and histology of the Meibomian glands] *Meibom-Drüsen Teil I: Anatomie, Embryologie und Histologie der Meibom-Drüsen*. *Ophthalmologie* 2009;106:872-883
67. Butovich IA. On the Lipid Composition of Human Meibum and Tears: Comparative Analysis of Nonpolar Lipids. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:3779-3789
68. King-Smith PEP, Nichols JJO, Nichols KKO, Fink BAO, Braun RJP. Contributions of Evaporation and Other Mechanisms to Tear Film Thinning and Break-Up. *Optometry & Vision Science* 2008;85:623-630
69. McCulley JP, Uchiyama E, Aronowicz JD, Butovich IA. Impact of evaporation on aqueous tear loss. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2006;104:121-8.:121-128
70. Mathers WD, Lane JA. Meibomian gland lipids, evaporation, and tear film stability. *Adv Exp Med Biol* 1998; 438:349-360
71. Mishima S, Maurice D. The Oily Layer of the Tear Film and Evaporation from the Corneal Surface. *Exp Eye Res* 1961;1:39-45
72. Knop E, Knop N. [Meibomian glands. Part II: Physiology, characteristics, distribution and function of meibomian oil] *Meibom-Drüsen Teil II: Physiologie, Eigenschaften, Verteilung und Funktion des Meibom-Öls*. *Ophthalmologie* 2009;106:884-892

73. Korb DR, Henriquez AS. Meibomian gland dysfunction and contact lens intolerance. *J Am Optom Assoc* 1980;51:243-251
74. Shimazaki J, Sakata M, Tsubota K. Ocular surface changes and discomfort in patients with meibomian gland dysfunction. *Arch Ophthalmol* 1995;113:1266-1270
75. Foulks GN, Bron AJ. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *Ocul Surf* 2003;1:107-126
76. Sullivan DA, Sullivan BD, Evans JE, Schirra F, Yamagami H, Liu M, Richards SM, Suzuki T, Schaumberg DA, Sullivan RM, Dana MR. Androgen deficiency, Meibomian gland dysfunction, and evaporative dry eye. *Ann N Y Acad Sci* 2002;966:211-222
77. Driver PJ, Lemp MA. Meibomian gland dysfunction. *Surv Ophthalmol* 1996;40:343-367
78. Mathers WD, Shields WJ, Sachdev MS, Petroll WM, Jester JV. Meibomian gland dysfunction in chronic blepharitis. *Cornea* 1991;10:277-285
79. Hom MM, Martinson JR, Knapp LL, Paugh JR. Prevalence of Meibomian gland dysfunction. *Optom Vis Sci* 1990;67:710-712
80. Ong BL, Larke JR. Meibomian gland dysfunction: some clinical, biochemical and physical observations. *Ophthalmic Physiol Opt* 1990;10:144-148
81. Heiligenhaus A, Koch JM, Kemper D, Kruse FE, Waubke TN. [Therapy in Tear Film Deficiencies] Therapie von Benetzungsstörungen. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1994;204:162-168
82. Knop E, Knop N, Brewitt H, Pleyer U, Rieck P, Seitz B, Schirra F. [Meibomian Glands. Part III. Meibomian gland dysfunction (MGD) - plaidoyer for a discrete disease entity and as an important cause of dry eye] Meibomdrüsen. Teil III. Meibomdrüsen Dysfunktionen (MGD) - Plädoyer für ein eigenständiges Krankheitsbild und wichtige Ursache für das Trockene Auge. *Ophthalmologie* 2009;106:966-979
83. Knop E, Knop N. [Meibomian glands. Part IV: Functional interactions in the pathogenesis of meibomian gland Dysfunction (MGD)] Meibom-Drüsen Teil IV: Funktionelle Interaktionen in der Pathogenese der Dysfunktion (MGD). *Ophthalmologie* 2009;106:980-987
84. Gutgesell VJ, Stern GA, Hood CI. Histopathology of meibomian gland dysfunction. *Am J Ophthalmol* 1982;94:383-387
85. Obata H. Anatomy and histopathology of human Meibomian gland. *Cornea* 2002;21 (Suppl. 2):S70-S74
86. Arita R, Itoh K, Inoue K, Amano S. Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. *Ophthalmology* 2008;115:911-915
87. Juppner H, Bialasiewicz AA, Hesch RD. Autoantibodies to parathyroid hormone receptor. *Lancet* 1978;2:1222-1224
88. Bialasiewicz AA, Jahn GJ. [Ocular findings in Chlamydia psittaci-induced keratoconjunctivitis in the human]. *Fortschr Ophthalmol* 1986;83:629-631
89. Allansmith MR. Defense of the ocular surface. *Int Ophthalmol Clin* 1979;19:93-109
90. Huang LC, Jean D, Proske RJ, Reins RY, McDermott AM. Ocular surface expression and in vitro activity of antimicrobial peptides. *Curr Eye Res* 2007;32:595-609
91. McDermott AM. Defensins and other antimicrobial peptides at the ocular surface. *Ocul Surf* 2004;2:229-247
92. Paulsen FP, Pufe T, Schaudig U, Held-Feindt J, Lehmann J, Thale AB, Tillmann BN. Protection of human efferent tear ducts by antimicrobial peptides. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:547-553
93. McIntosh RS, Cade JE, Al Abed M, Shanmuganathan V, Gupta R, Bhan A, Tighe PJ, DUA HS. The Spectrum of Antimicrobial Peptide Expression at the Ocular Surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:1379-1385
94. Allansmith MR, Radl J, Haaijman JJ, Mestecky J. Molecular forms of tear IgA and distribution of IgA subclasses in human lacrimal glands [published erratum appears in *J Allergy Clin Immunol* 1986 Jan;77(1 Pt 1):58]. *J Allergy Clin Immunol* 1985;76:569-576
95. Sullivan DA, Allansmith MR. Source of IgA in tears of rats. *Immunology* 1984;53:791-799
96. Knop N, Knop E. Conjunctiva-Associated Lymphoid Tissue in the Human Eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1270-1279
97. Knop E, Knop N. Lacrimal drainage associated lymphoid tissue (LDALT): A part of the human mucosal immune system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;566-574
98. Knop E, Knop N, Claus P. Local Production of Secretory IgA in the Eye-Associated Lymphoid Tissue (EALT) of the Normal Human Ocular Surface. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2008;49:2322-2329
99. Dana MR, Qian Y, Hamrah P. Twenty-five-year panorama of corneal immunology: emerging concepts in the immunopathogenesis of microbial keratitis, peripheral ulcerative keratitis, and corneal transplant rejection. *Cornea* 2000;19:625-643
100. Virchow H. Mikroskopische Anatomie der äusseren Augenhaut und des Lidapparates. In: Saemisch T, ed. *Graefe-Saemisch Handbuch der gesamten Augenheilkunde, Band 1, 1. Abteilung, Kapitel II.* Leipzig: Verlag W. Engelmann, 1910:431
101. Osterlind G. An investigation into the presence of lymphatic tissue in the human conjunctiva, and its biolo-

- gical and clinical importance. *Acta Ophthalmol Copenh* 1944;Suppl. 23:1-79
102. Kessing SV. Mucous gland system of the conjunctiva. A quantitative normal anatomical study. *Acta Ophthalmol Copenh* 1968;Suppl 95:1-133
103. Allansmith MR, Greiner JV, Baird RS. Number of inflammatory cells in the normal conjunctiva. *Am J Ophthalmol* 1978;86:250-259
104. Allansmith MR, Kajiyama G, Abelson MB, Simon MA. Plasma cell content of main and accessory lacrimal glands and conjunctiva. *Am J Ophthalmol* 1976;82:819-826
105. Wieczorek R, Jakobiec FA, Sacks EH, Knowles DM. The immunoarchitecture of the normal human lacrimal gland. Relevancy for understanding pathologic conditions. *Ophthalmology* 1988;95:100-109
106. Sacks EH, Wieczorek R, Jakobiec FA, Knowles DM. Lymphocytic subpopulations in the normal human conjunctiva. A monoclonal antibody study. *Ophthalmology* 1986;93:1276-1283
107. Dua HS, Gomes JA, Donoso LA, Laibson PR. The ocular surface as part of the mucosal immune system: conjunctival mucosa-specific lymphocytes in ocular surface pathology. *Eye* 1995;9:261-267
108. Hingorani M, Metz D, Lightman SL. Characterisation of the normal conjunctival leukocyte population. *Exp Eye Res* 1997;64:905-912
109. Paulsen FP, Paulsen JI, Thale AB, Schaudig U, Tillmann BN. Organized mucosa-associated lymphoid tissue in human naso-lacrimal ducts. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:873-876
110. Knop E, Knop N. Mucosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe der Konjunktiva. In: Brewitt H, Zierhut M, eds. *Trockenes Auge*. Heidelberg: Kaden Verlag, 2001: 23-32
111. Knop E, Knop N. Lymphocyte Homing in the Mucosal Immune System to the Eye-Associated Lymphoid Tissue (EALT). In: Zierhut M, Sullivan D A, Stern M E, eds. *Immunology of the Ocular Surface and Tearfilm*. Amsterdam: Swets & Zeitlinger, 2004:35-72
112. Franklin RM, Remus LE. Conjunctival-associated lymphoid tissue: evidence for a role in the secretory immune system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1984;25:181-187
113. Dua HS, Donoso LA, Laibson PR. Conjunctival instillation of retinal antigens induces tolerance. *Ocular Immunology and Inflammation* 1994;2:29-36
114. Gormley PD, Powell-Richards AO, Azuara-Blanco A, Donoso LA, Dua HS. Lymphocyte subsets in conjunctival mucosa-associated-lymphoid-tissue after exposure to retinal-S-antigen. *Int Ophthalmol* 1998;22:77-80
115. Knop E, Knop N. Conjunctiva-associated lymphoid tissue (CALT) in the human eye – Morphometric analysis of lymphoid follicles. *Ophthalmic Research* 1999;31: 63
116. Knop N, Knop E. The MALT tissue of the ocular surface is continued inside the lacrimal sac in the rabbit and human. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:S126
117. Knop N, Knop E. Mucosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe in Konjunktiva und nasolacrimalen System des Kaninchens. *Der Ophthalmologe (Suppl 1)* 1996;93:62
118. Brandtzaeg P, Pabst R. Let's go mucosal: communication on slippery ground. *Trends in Immunology* 2004; 25:570-577
119. Knop E, Knop N. [Eye-associated lymphoid tissue (EALT) is continuously spread throughout the ocular surface from the lacrimal gland to the lacrimal drainage system] Augen-assoziiertes lymphatisches Gewebe (EALT) durchzieht die Augenoberfläche kontinuierlich von der Tränendrüse bis in die ableitenden Tränenwege. *Der Ophthalmologe* 2003;100:929-942
120. Knop E, Knop N. Fine Structure of high endothelial venules in the human conjunctiva. *Ophthalmic Res* 1998;30:169
121. Knop E, Knop N. High endothelial venules are a normal component of lymphoid tissue in the human conjunctiva and lacrimal sac. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S 548
122. Haynes RJ, Tighe PJ, Scott RA, Dua HS. Human Conjunctiva Contains High Endothelial Venules That Express Lymphocyte Homing Receptors. *Experimental Eye Research* 1999;69:397-403
123. Knop E, Knop N. A functional unit for ocular surface immune defense formed by the lacrimal gland, conjunctiva and lacrimal drainage system. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:835-844
124. Knop E. Konzept eines Augen-assoziierten lymphatischen Gewebes als funktionelle Einheit zur Immunabwehr der Augenoberfläche. *Habilitationsschrift, Medizinische Hochschule Hannover*, 2001
125. Knop E, Knop N. Conjunctiva immune surveillance. In: Dartt DA, Edelhauser H F, eds. *Encyclopedia of the Eye*. Oxford: Elsevier, 2010
126. Knop E, Knop N. The role of Eye-Associated Lymphoid Tissue in Corneal Immune Protection. *J Anat* 2005; 206:271-285
127. Knop E, Knop N, Pleyer U. Clinical Aspects of MALT. In: Pleyer U, Mondino B, eds. *Uveitis and Immunological Disorders*. Berlin: Springer Verlag, 2004:67-89
128. Knop E, Knop N. Eye associated lymphoid tissue (EALT) and the ocular surface. *Proceedings of the 5th*

- International Symposium on Ocular Pharmacology and Therapy. Bologna, Italy: Medimond, 2004:91-98
129. Pflugfelder SC, De Paiva CS, Tong L, Luo L, Stern ME, Li DQ. Stress-activated protein kinase signaling pathways in dry eye and ocular surface disease. *Ocul Surf* 2005; 3:S154-S157
130. Luo L, Li DQ, Doshi A, Farley W, Corrales RM, Pflugfelder SC. Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4293-4301
131. Pflugfelder SC. Tear fluid influence on the ocular surface. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:611-617
132. Luo L, Li DQ, Corrales RM, Pflugfelder SC. Hyperosmolar saline is a proinflammatory stress on the mouse ocular surface. *Eye Contact Lens* 2005;31:186-193
133. Solomon A, Dursun D, Liu Z, Xie Y, Macri A, Pflugfelder SC. Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2283-2292
134. Barton K, Nava A, Monroy DC, Pflugfelder SC. Cytokines and tear function in ocular surface disease. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:461-469
135. Gao J, Morgan G, Tieu D, Schwalb TA, Luo JY, Wheeler LA, Stern ME. 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;78:823-835
136. Brignole F, Pisella PJ, Goldschild M, De Saint JM, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41:1356-1363
137. Niederkorn JY, Stern ME, Pflugfelder SC, De Paiva CS, Corrales RM, Gao J, Siemasko K. Desiccating stress induces T cell-mediated Sjogren's Syndrome-like lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol* 2006;176:3950-3957
138. Yoon KC, De Paiva CS, Qi H, Chen Z, Farley WJ, Li DQ, Pflugfelder SC. Expression of Th-1 chemokines and chemokine receptors on the ocular surface of C57BL/6 mice: effects of desiccating stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48:2561-2569
139. Pflugfelder SC, Farley W, Luo L, Chen LZ, de Paiva CS, Olmos LC, Li DQ, Fini ME. Matrix Metalloproteinase-9 Knockout Confers Resistance to Corneal Epithelial Barrier Disruption in Experimental Dry Eye. *Am J Pathol* 2005;166:61-71
140. Stern ME, Gao J, Schwalb TA, Ngo M, Tieu DD, Chan CC, Reis BL, Whitcup SM, Thompson D, Smith JA. Conjunctival T-cell subpopulations in Sjogren's and non-Sjogren's patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:2609-2614
141. De Paiva CS, Villarreal AL, Corrales RM, Rahman HT, Chang VY, Farley WJ, Stern ME, Niederkorn JY, Li DQ, Pflugfelder SC. Dry eye-induced conjunctival epithelial squamous metaplasia is modulated by interferon-gamma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:2553-2560
142. Pflugfelder SC, Liu Z, Monroy D, Li DQ, Carvajal ME, Price-Schiavi SA, Idris N, Solomon A, Perez A, Carraway KL. Detection of sialomucin complex (MUC4) in human ocular surface epithelium and tear fluid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1316-1326
143. Yeh S, Song XJ, Farley W, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC. Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44: 124-129
144. Krenzer KL, Dana MR, Ullman MD, Cermak JM, Tolls DB, Evans JE, Sullivan DA. Effect of androgen deficiency on the human meibomian gland and ocular surface. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4874-4882
145. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol* 2003;136:318-326
146. Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, Gao J, Mircheff AK, Pflugfelder SC. The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea* 1998;17:584-589
147. Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004;78: 409-416
148. Bourcier T, Acosta MC, Borderie V, Borrás F, Gallar J, Bury T, Laroche L, Belmonte C. Decreased corneal sensitivity in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2341-2345
149. Pflugfelder SC, Solomon A, Dursun D, Li DQ. Dry eye and delayed tear clearance: "a call to arms". *Adv Exp Med Biol* 2002;506:739-743
150. Pflugfelder SC. Anti-inflammatory therapy of dry eye. *Ocul Surf* 2003;1:31-36