



# tfos DEWS II™

## Informe sobre fisiopatología de DEWS II

Traducción a **ESPAÑOL** con el apoyo de



Publicado originalmente en *La superficie ocular*:

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

A la TFOS le gustaría agradecer el apoyo de los socios del sector en la publicación original:





Lista del contenido disponible en ScienceDirect

La superficie ocular  
 página de inicio de la publicación: [www.theocularsurface.com](http://www.theocularsurface.com)



## Informe de fisiopatología de TFOS DEWS II

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### INFORMACIÓN SOBRE EL ARTÍCULO

#### Historial del artículo:

Recibido el 26 de mayo de 2017

Aceptado el 26 de mayo de 2017

#### Palabras clave:

TFOS  
 DEWS II  
 Taller sobre el ojo seco  
 Enfermedad del ojo seco Fisiopatología  
 Glucocálic  
 Hiperosmolaridad  
 Inflamación  
 Círculo vicioso

### RESUMEN

El Subcomité de Fisiopatología del II Taller sobre Ojo Seco (DEWS II, por sus siglas en inglés) de la Sociedad para la Película Lagrimal y la Superficie Ocular (TFOS, por sus siglas en inglés) ha pasado revista a los mecanismos involucrados en el inicio y perpetuación de la enfermedad del ojo seco. Su mecanismo central es una pérdida de agua evaporativa que produce daños por hiperosmolaridad en los tejidos. Las investigaciones realizadas sobre esta enfermedad en seres humanos y en modelos animales han revelado que esto, ya sea de forma directa o por inducir inflamación, genera una pérdida tanto de células epiteliales como caliciformes. El consiguiente descenso de la humectabilidad de la superficie provoca una ruptura precoz de la película lagrimal y amplifica la hiperosmolaridad a través del círculo vicioso. El dolor en el ojo seco se debe a la hiperosmolaridad lagrimal, a la pérdida de lubricación, a los mediadores inflamatorios y a factores neurosensoriales, mientras que los síntomas visuales provienen de la irregularidad de la superficie lagrimal y ocular. El aumento de la fricción produce daños en los párpados y en la superficie ocular, lo que desemboca en una queratitis epitelial puntiforme característica, queratoconjuntivitis del limbo superior, queratitis filamentaria, pliegues conjuntivales paralelos al párpado y epitelopatía en limpiaparabrisas del párpado. El ojo seco híbrido, con rasgos tanto de deficiencia de la capa acuosa como de aumento de la evaporación, es un trastorno frecuente y debe hacerse un esfuerzo por determinar la contribución relativa de cada una de sus formas al cuadro general. Por este motivo se necesitan métodos prácticos para medir la evaporación lagrimal en la clínica, e igualmente hacen falta métodos para medir la osmolaridad a escala tisular y determinar mejor la gravedad del ojo seco. Entre los campos de investigación futura se encuentran el papel de los mecanismos genéticos en el ojo seco no asociado al síndrome de Sjögren, el tratamiento del conducto terminal en la disfunción de las glándulas de Meibomio y la influencia de la dinámica de la mirada y del estado del ojo cerrado sobre la estabilidad lagrimal y la inflamación de la superficie ocular.

© 2017 Elsevier Inc. Todos los derechos reservados.

### 1. Objetivos

Hacer un resumen de los conocimientos actuales sobre la fisiología lagrimal en relación con la enfermedad del ojo seco (EOS).

Proporcionar una clasificación etiológica de la EOS.

Identificar los mecanismos esenciales de la EOS, especialmente la hiperosmolaridad de la superficie ocular, la inestabilidad lagrimal y la respuesta inflamatoria.

Considerar el círculo vicioso de la EOS y de la EOS crónica como una enfermedad que se perpetúa a sí misma.

\* Autor para correspondencia. Nuffield Department of Clinical Neurosciences, University of Oxford, Oxford, Reino Unido.

Dirección de correo electrónico: [anthony.bron@eye.ox.ac.uk](mailto:anthony.bron@eye.ox.ac.uk) (A.J. Bron).



Debatir sobre la EOS asintomática y sintomática y la base de los síntomas de la EOS.

Pasar revista al papel del entorno en la precipitación de la EOS en los sujetos de riesgo y su influencia en la gravedad de la EOS.

## 2. Definición de la enfermedad del ojo seco

El ojo seco es una enfermedad multifactorial de la superficie ocular caracterizada por una pérdida de la homeostasis de la película lagrimal y acompañada por síntomas oculares, donde la inestabilidad e hiperosmolaridad de dicha película, la inflamación y deterioro de la superficie ocular y las anomalías neurosensoriales desempeñan papeles etiológicos (véase el informe del Subcomité de Definición y clasificación).

## 3. Introducción

La finalidad de este informe consiste en pasar revista a nuestros conocimientos sobre la fisiopatología de la EOS y destacar los avances que se han producido desde la publicación del informe TFOS DEWS [1]. Nuestra tesis general es que la EOS se inicia a causa de un estrés desecante y se perpetúa mediante un círculo vicioso de inflamación de la superficie ocular.

La razón de ser del ojo es la visión, y la película lagrimal precorneal y la córnea constituyen el primer elemento refractivo del ojo que enfoca una imagen del mundo visual sobre la retina. Para mantener la calidad óptica, la película lagrimal debe reponerse continuamente mediante el parpadeo y la secreción de lágrima. Sin ello, la película lagrimal se desestabilizaría y la superficie del ojo quedaría expuesta a una desecación perjudicial. Existen varios mecanismos para lograr la homeostasis.

## 4. Anatomía y fisiología de la superficie ocular y del sistema lagrimal

### 4.1. Superficie ocular

La superficie ocular está cubierta por una lámina continua de epitelio que recubre la córnea, la parte anterior del globo y los tarsos, y que se extiende hasta las uniones mucocutáneas (UMC) de los bordes palpebrales. La hidratación de la superficie ocular se mantiene por medio de las lágrimas, que la bañan constantemente y crean una película continua sobre su superficie expuesta. Las lágrimas se segregan principalmente en las glándulas lagrimales, aunque también contribuye a ello la conjuntiva, incluidas las células caliciformes y las glándulas de Meibomio.

El ojo abierto está sometido continuamente a un estrés desecante debido a la evaporación de las lágrimas, pero está protegido de posibles daños por medio de mecanismos homeostáticos que regulan la secreción de lágrimas y su distribución en respuesta a las señales de la superficie ocular. En la EOS, el fallo de estos mecanismos da lugar a una deficiencia cuantitativa o cualitativa de lágrimas que suele provocar inestabilidad de la película lagrimal, defectos de humectación y estrés hiperosmolar, aumento de la fricción e irritación mecánica crónica en la superficie ocular. Esto inicia una cadena de acontecimientos inflamatorios y daños en la

superficie característicos de esta enfermedad.

### 4.2. Glándulas lagrimales principales y accesorias

La glándula lagrimal principal es una glándula tubuloacinar serosa compuesta sobre todo por células acinares, ductales y mioepiteliales, de las cuales las acinares forman el 80 % del total. Se desarrolla mediante un proceso de ramificación en el que intervienen interacciones recíprocas entre el epitelio y el mesénquima circundante [2,3] para generar una red tubular tridimensional [4]. En el ser humano, la glándula principal consta de un lóbulo orbitario más grande y de un lóbulo palpebral más pequeño colindante con el saco conjuntival. Los conductos del lóbulo orbitario atraviesan y se unen a los de la glándula palpebral para abrirse en el fondo de saco superior [5], a través de entre 6 y 12 orificios [6]. Asimismo, existen unas 40 glándulas de Krause accesorias situadas en el fondo de saco superior y de 6 a 8 en el fondo de saco inferior. Las glándulas lagrimales accesorias de Wolfring, localizadas en los párpados superior (de 2 a 5 glándulas) e inferior (de 1 a 3 glándulas), son ligeramente más grandes de las de Krause. Las glándulas lagrimales accesorias son tubulares y no contienen ácidos en el ser humano [7], pero sí en los conejos [8]. Las glándulas accesorias constituyen alrededor del 10 % de la masa tisular lagrimal total [9], y su inervación es similar a la de la glándula principal [10]. Por tanto, se supone que responden de manera similar a la estimulación refleja.

#### 4.2.1. Células inmunitarias residentes en la glándula lagrimal

La glándula lagrimal se encuentra bien provista de células inmunitarias que ocupan el espacio intersticial. Aquí se incluyen células plasmáticas, linfocitos B y T, células dendríticas, macrófagos, monocitos derivados de la médula ósea y mastocitos [11], (Tabla 1).

*Predominan las células plasmáticas* (53,9 % del total), sobre todo la inmunoglobulina (Ig) A+ y algunas IgG+, IgM+ o IgD+. Las células de IgA+ sintetizan y segregan IgA, que se transporta hasta las células acinares y ductales combinada con cadena J y componente secretorio (CS), y que se segrega como IgA secretoria dimérica (sIgA) [12,13]. Puede producirse un proceso similar en la conjuntiva y en otros tejidos linfoides asociados al ojo (eye-associated lymphoid tissues, EALT) [14].

*Los linfocitos T* son la siguiente célula más frecuente (40,3 % del total), dispersados con células plasmáticas en el intersticio, en los folículos y agregados y, ocasionalmente, entre las células acinares. Los agregados de linfocitos T suelen estar relacionados con los conductos intralobulillares. En general, los linfocitos T supresores/citotóxicos (T8) son más numerosos que los T cooperadores (T4), distribuidos casi equitativamente entre los ácidos, los conductos y el intersticio. La proporción T4/T8 es de 0,26 en el intersticio. Sin embargo, los linfocitos T4 predominan en los folículos y en los agregados linfocíticos. También están presentes células dendríticas, macrófagos, monocitos derivados de la médula ósea y mastocitos.

*Los linfocitos B* se encuentran exclusivamente en el centro de los folículos primarios y agregados y en folículos secundarios solitarios, rodeados de linfocitos T colaboradores y de un número menor de linfocitos supresores/citotóxicos. No se encuentran en el intersticio. Forman el 5,7 % de la población mononuclear. Los

linfocitos B y las células dendríticas de los folículos y los agregados expresan HLA-DR, al igual que las células que revisten los conductos y el endotelio vascular. Los macrófagos y las células dendríticas son poco frecuentes.

estimulación de la secreción de las glándulas lagrimales se produce en parte mediante un arco reflejo neural procedente de la superficie ocular [13,15,23,25], además de por una contribución del trigémino procedente de la mucosa nasal [26]. Entre los neurotransmisores y

**Tabla 1**  
Células inmunitarias residentes en la glándula lagrimal humana normal.

Capa de tejido	Células plasmáticas	Linfocitos T	Fenotipo de los linfocitos T	Linfocitos B	Mac.	CD	CDp
Acinar Ductal	53,9 %	40,3 %	Generalmente predominan los linfocitos T supresores/citotóxicos	5,7 %	0,01 %	5,6 %	+
Intersticio Folículos y agregados	++++	Espec. periductales	Generalmente predominan los linfocitos colaboradores Linfocitos T activados 0,01 %	++			+
<u>Notas</u>	Sobre todo IgA + algunos IgG, M, D						

#### 4.2.2. Regulación de la secreción lagrimal

Las células acinares están dispuestas en lobulillos alrededor de una luz central, con uniones estrechas rodeando a cada célula en el lado apical (luminal) [12,15]. Esta configuración permite la secreción unidireccional, en sentido de basal a apical, de agua, electrolitos, proteínas y mucinas [12,15]. La porción basal de la célula contiene un gran núcleo, el retículo endoplásmico rugoso, mitocondrias y el aparato de Golgi, mientras que la porción apical está llena de gránulos secretorios [12,15]. Las células acinares sintetizan, almacenan y segregan proteínas y mucinas en respuesta a estímulos neurales y hormonales [13,15]. También segregan electrolitos y agua. Muchas de las proteínas segregadas contienen o factor de crecimiento o bien tienen propiedades bactericidas, que son cruciales para la salud de la superficie ocular. En la glándula lagrimal se han detectado diversas mucinas, tanto segregadas como unidas a la membrana, como MUC1, MUC4, MUC5B, MUC5Ac, MUC6, MUC7 y MUC16 [16-18]. Algunas de ellas desempeñan funciones locales, pero por lo demás sus funciones se desconocen.

Al igual que las células acinares, las ductales están polarizadas por uniones estrechas situadas apicalmente [12]. Cabe destacar que las células ductales modifican el líquido primario que segregan las células acinares absorbiendo o segregando agua y electrolitos [19,20]. Las células ductales segregan una solución rica en KCl, de manera que el líquido que segrega finalmente la glándula lagrimal es rico en iones K<sup>+</sup>. Se ha calculado que hasta un 30 % del volumen del líquido final de las glándulas lagrimales lo segregan las células ductales [19,20].

Las células mioepiteliales se encuentran dispersas entre las células acinares y ductales y la lámina basal, y se hallan interconectadas por uniones comunicantes y desmosomas [21]. Sintetizan lámina basal y sus numerosos procesos forman una red funcional alrededor de las células acinares y ductales, separándolas de la lámina basal y de las células mesenquimales estromales [22]. Las células mioepiteliales contienen proteínas de músculo contráctil (actina de músculo liso  $\alpha$ , miosina, tropomiosina) [21], y se cree que contribuyen a expulsar el líquido de los ácidos y de los conductos.

La glándula lagrimal está innervada por los sistemas nerviosos parasimpático y simpático [23,24]. Existen terminaciones nerviosas muy cerca de las células acinares, ductales y mioepiteliales, así como de los vasos sanguíneos, por lo que pueden controlar una amplia gama de funciones de las glándulas lagrimales [23,24]. La

neuropéptidos que liberan los nervios inervadores se encuentran la acetilcolina, el péptido intestinal vasoactivo (VIP), la noradrenalina, el neuropéptido Y (NPY), la sustancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). Cada uno de estos neuromediadores interactúa con receptores específicos presentes en la superficie de las células de las glándulas lagrimales para desencadenar una respuesta específica [13,15,25]. La acetilcolina y la noradrenalina son los estímulos más potentes de la secreción de proteína, mucina, agua y electrolitos de la glándula lagrimal [13,15].

#### 4.2.3. Células madre de la glándula lagrimal

Las glándulas lagrimales, al igual que las salivales y las mamarias, conservan su capacidad para regenerarse a lo largo de toda la vida. En las células epiteliales de las glándulas salivales el recambio celular descrito se produce cada 40-65 días para los ácidos serosos y cada 95 días para las células ductales [27]. Dado que las glándulas lagrimales comparten muchas características con las salivales, es posible que las células epiteliales lagrimales posean un ritmo de recambio celular similar.

Existen células madre en las glándulas lagrimales de los ratones [28], las ratas [29] y los seres humanos [28], y se ha estudiado en ratones su participación en la reparación [30]. En un modelo de lesión de las glándulas lagrimales, las células madre intervinieron en la regeneración de dichas glándulas [31], y las células que Ackermann et al. aislaron de glándulas murinas pudieron diferenciarse en las tres capas germinales [28].

#### 4.2.4. Mecanismos de daño y reparación glandular

Cuando la glándula lagrimal experimenta una lesión aguda (p. ej., tras una exposición a la radiación) o crónica (p. ej., en el síndrome de Sjögren y otras enfermedades autoinmunes) [32], se infiltran linfocitos y otras células inmunes en la glándula lagrimal, sobre todo en las regiones periductales. Esto da lugar a una pérdida de células acinares, ductales y mioepiteliales, probablemente tanto por apoptosis como por autofagia.

La remodelación tras una lesión suele recapitular los acontecimientos que rigen el desarrollo del tejido embrionario, por lo que no es sorprendente que la muerte celular programada y una serie de factores de crecimiento y citocinas que se sabe regulan el desarrollo tisular desempeñen un papel durante la regeneración lagrimal [30,32]. Un mecanismo esencial en la glándula murina es la transición *epiteliomesenquimal* (TEM), la cual, durante la

embriogénesis, ayuda a las células epiteliales a adquirir propiedades migratorias o invasivas [33]. Durante la TEM, las células epiteliales pierden las adhesiones célula-célula y célula-matriz, la polaridad y los marcadores específicos epiteliales, se someten a una remodelación citoesquelética y adquieren un fenotipo mesenquimal [33]. La inducción de la TEM genera células con propiedades mesenquimales similares a las de las células madre, lo que puede desempeñar un papel importante en la reparación tisular [34,35].

#### 4.3. Las glándulas de Meibomio

Las glándulas de Meibomio son glándulas sebáceas holocrinas modificadas cuyos ácidos descargan todo su contenido en el proceso de secreción. El producto de su secreción (lípidos de Meibomio o meibo) se envía a un depósito superficial de la piel del borde palpebral, justo anterior a la unión mucocutánea, y se extiende por la película lagrimal preocular con cada parpadeo. Los aspectos embriológicos, anatómicos, histológicos y fisiológicos de estas glándulas se han examinado detenidamente en el informe del Taller sobre las glándulas de Meibomio de la TFOS (2011) [36] y en otros trabajos [37], de manera que aquí solo veremos algunos aspectos concretos.

El desarrollo de las glándulas de Meibomio posee rasgos en común con el de la unidad pilosebácea [38]. Las células luminales de los conductos meibomianos, que se corresponden con el revestimiento queratinizado de la línea de las pestañas, expresan gránulos queratohialinos y se han considerado como un epitelio queratinizado modificado [39]. Las glándulas de Zeis, que satisfacen las necesidades sebáceas de los cilios, son análogas a las glándulas de Meibomio. Parece que la capacidad de las células del conducto meibomiano para queratinizarse se ve incrementada en determinadas afecciones, como en la disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM), donde la queratinización del conducto terminal es una característica clave; en la triquiasis metaplásica, cuando pueden surgir cilios distópicos de los orificios meibomianos; en la distiquiasis, donde una hilera de pestañas aberrantes sustituye a la de las glándulas de Meibomio; y en la ictiosis folicular, en la que tanto las glándulas de Meibomio como las unidades pilosebáceas de la piel se ven afectadas.

La glándula de Meibomio humana cuenta con numerosos nervios sensitivos, simpáticos y parasimpáticos [40,41]. Estas fibras nerviosas expresan sustancia P (SP), péptido intestinal vasoactivo (VIP), dopamina β-hidroxilasa, acetilcolinesterasa, óxido nítrico sintasa, tirosina hidroxilasa, somatostatina, neuropéptido Y (NPY) y péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) [40,41]. Las células epiteliales de las glándulas de Meibomio humanas también expresan receptores funcionales muscarínicos y VIP, y responden a un análogo de la acetilcolina, la carbamilcolina o a las alteraciones del VIP con alteraciones del monofosfato de adenosina (AMP) cíclico y de los niveles intracelulares  $[Ca^{2+}]$  y la proliferación celular [42]. Durante la diferenciación, estas células también experimentan un aumento de la expresión de genes que codifican proteínas con actividades de remodelación neuronal y guiado axonal (p. ej., netrinas 4 y colágeno de tipo V α2) [43]. Además de en los seres humanos, la glándula de Meibomio murina contiene ARNm de receptores colinérgicos, adrenérgicos, de NPY, de serotonina, de CGRP, de dopamina, de ácido γ-aminobutírico, de glutamato, de

Translated into Spanish by Allergan

neurotensina y de somatostatina [36,44].

Se sabe que son numerosos los factores que regulan la glándula de Meibomio. La glándula de Meibomio *in vivo* [36] (véase el informe del Subcomité de Sexo, género y hormonas) y las células epiteliales de estas glándulas en el ser humano *in vitro* [42,43,45-61] responden a numerosos agentes con alteraciones en la proliferación, diferenciación, acumulación de AMPc, vías de señalización, expresión génica o lipogénesis. Entre estos compuestos se encuentran los andrógenos, los estrógenos, la progesterona, los glucocorticoides, la insulina, las hormonas hipofisarias, los mineralocorticoides, los factores de crecimiento, las toxinas bacterianas, los antibióticos, los fármacos anfílicos catiónicos, los ácidos grasos ω, el ácido retinoico, la hiperglucemia, la ciclosporina A, un antagonista del receptor de IL-1, la rebamipida, el bimatoprost, la pilocarpina y el timolol [42,43,45-54,56-60,62,63].

El análisis químico del lípido meibomiano expresado indica que está compuesto por cerca de un 95 % de lípidos no polares (sobre todo ésteres de cera y de colesterol, con una pequeña cantidad de triglicéridos) y un 5 % de lípidos polares, (el lípido anfipático O-acilo hidroxilácido graso ω [OAHFA] [64] y fosfolípidos [FL]) [65]. La concentración de OAHFA es superior a la de FL en el meibo, pero la proporción se invierte en la película lagrimal [66]. La composición lipídica del meibo y de las lágrimas se explica detalladamente en el informe del Subcomité de Película lagrimal.

El bloque de construcción primordial para la síntesis del colesterol y de los ácidos grasos es la acetil-CoA citosólica, un producto del metabolismo de carbohidratos, ácidos grasos o aminoácidos [67]. La biosíntesis del colesterol implica la conversión sucesiva de la acetil-CoA en acetoacetil-CoA, 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) y mevalonato, catalizados respectivamente por la acetoacetil-CoA-sintasa, la HMG-CoA sintasa 1 y la HMGCoA reductasa. El propio colesterol se utiliza en la síntesis de hormonas esteroideas sexuales, y las enzimas que regulan este proceso se encuentran en la glándula de Meibomio humana [68].

La biosíntesis de ácidos grasos implica la conversión inicial de la acetil-CoA citosólica en malonil-CoA, catalizada por la enzima limitadora de la velocidad, la acetil-CoA carboxilasa. A continuación, el malonil-CoA se transforma en palmitoil-CoA en presencia de la enzima ácido graso sintasa y, en último término, el palmitoil-CoA se elonga en ácidos grasos saturados de cadena más larga mediante la adición de 2 unidades de carbono. La producción de ácidos grasos insaturados requiere la acción de ácido graso desaturasas. Los ácidos grasos se utilizan para crear lípidos neutros y polares. Se ha observado la presencia de ARN mensajero de cada una de las enzimas antes mencionadas y de otras involucradas en la síntesis de colesterol y ácidos grasos en la glándula de Meibomio murina, además de ARNm de las proteínas de unión a elementos reguladores de esteroides (SREBP) 1 y 2, que desempeñan un papel crítico a la hora de regular su actividad a escala transcripcional [69]. También se ha detectado SREBP 1 en células epiteliales de la glándula de Meibomio humana [52].

Las SREBP, junto con las proteasas del factor de transcripción de unión a membrana (MBTP) de los sitios 1 y 2 (también denominadas proteasas de los sitios 1 y 2 - S1P y S2P), son unos reguladores esenciales de la síntesis de colesterol y de ácidos grasos y de la homeostasis [70].

La SREBP-1 y la SREBP-2 son factores de transcripción unidos a

la membrana situados en el retículo endoplásmico (RE). Cuando aumenta la demanda celular de lípidos, las SREBP, formando complejo con la proteína acompañante, SCAP, son transportadas dentro de vesículas recubiertas hasta el aparato de Golgi, donde experimentan una activación dentro de la membrana de Golgi. Esto se produce en dos etapas. En el primer paso, la proteasa serina del sitio 1, SIP, escinde la proteína SREBP en la membrana de Golgi. En el segundo paso, la proteasa del sitio 2 libera rápidamente el fragmento del extremo N que contiene el factor de transcripción y el fragmento migra hacia el núcleo celular, donde activa la transcripción de los genes necesarios para la captación y síntesis del colesterol, así como los involucrados en el metabolismo de los ácidos grasos [67,71,72].

Existen otros factores de transcripción unidos a la membrana dentro del RE que actúan como los denominados “sensores de estrés” del RE. Una deficiencia en cualquiera de las dos funciones, la de biosíntesis de esteroides o la de respuesta al estrés del RE, pueden constituir la base del síndrome de *ictiosis foliular, atriquia y fotofobia* (síndrome IFAF) ligado al cromosoma X, en el que existe un desarrollo pilosebáceo insuficiente de la piel y de los párpados producido por mutaciones en el gen MBTPS2 [73].

Por su importancia para el papel de las hormonas sobre el funcionamiento y las disfunciones de las glándulas de Meibomio, cabe destacar que se ha observado que los ARNm de cada uno de los genes antes mencionados están regulados al alza por la testosterona en modelos murinos castrados, lo que incluye la ATP-citrato liasa y la acetil-CoA sintasa, enzimas fundamentales para el inicio de la lipogénesis [44,69]. Schirra et al. han indicado que la mejora de la expresión de los genes de SREBP 1 y 2 en respuesta a la exposición a andrógenos puede explicar la inducción hormonal de lípidos meibomianos [68]. Se sabe que SREBP 1 está controlada por los andrógenos en otros lugares [72].

#### 4.4. La conjuntiva

La conjuntiva es una mucosa con una lámina propia (estroma) de tejido conjuntivo suelto cubierta por un epitelio que se mantiene húmedo permanentemente. La conjuntiva sirve de barrera frente al entorno exterior y segrega diversas sustancias en la película lagrimal. Asimismo, capta selectivamente antígenos para una protección inmunitaria. Se pueden identificar varias regiones en la conjuntiva [74,75]. La zona “marginal” se extiende desde el pliegue subtarsal hasta las UMC del borde palpebral [76] e incluye la mucosa de la zona limpiaparabrisas del párpado [36]. Proximal a esto, la conjuntiva tarsal se halla fuertemente adherida a la placa tarsal y después continúa como una zona orbitaria suelta hacia el fondo de saco.

##### 4.4.1. Epitelio conjuntival

Las células epiteliales conjuntivales se hallan fuertemente conectadas mediante las *uniones adherentes*, que proporcionan resistencia contra las fuerzas de cizallamiento, y las células más superficiales (es decir, la capa 1) están selladas mediante *uniones herméticas* que actúan como una barrera frente al mundo exterior. Esta barrera es menos hermética que la del epitelio corneal [77]. Las alteraciones de la integridad conjuntival y corneal se asocian a enfermedades de la superficie ocular [78]. Entre las células epiteliales conjuntivales existen unos espacios intercelulares

considerables [79] que se cree que desempeñan alguna función en el transporte de agua a través del epitelio. El epitelio conjuntival contiene dos tipos de células, las epiteliales y las caliciformes, ambas derivadas de la misma célula madre conjuntival [80].

Las células epiteliales conjuntivales producen, aparte de agua, electrolitos y mucinas [81], proteínas funcionales como la lubricina [82]. Las células de la capa 1 producen mucinas de membrana integrales que constituyen el glucocáliz superficial de la célula, necesario para la humectación que realizan las lágrimas acuosas [83]. Las células epiteliales conjuntivales contienen canales de agua transmembranales (acuaporinas) relacionados con el movimiento del agua entre la conjuntiva y la fase acuosa de la película lagrimal [84]. Otra función epitelial puede ser una transición de IgA mediada por el componente secretor (CS) desde las células plasmáticas de la lámina propia, pero esto aún está por confirmar [85].

##### 4.4.2. Células madre epiteliales conjuntivales

Las células madre se pueden definir como células progenitoras con una elevada capacidad de división celular y de generar una progenie diferenciada terminalmente [86,87]. Las células madre del epitelio corneal se encuentran en el limbo, y este tema se ha revisado abundantemente [88-91]. La localización de las células madre conjuntivales en el ser humano es más controvertida. Wei et al., utilizando timidina tritiada en conejos, concluyeron que el fondo de saco era una localización importante de células madre conjuntivales [92,93]. Sin embargo, Pellegrini et al., utilizando un análisis clonal de células de diversos lugares, indicaron que las células madre conjuntivales se distribuyen uniformemente por la conjuntiva bulbar humana [80]. Pe'er y sus colaboradores, empleando ratones y un marcador de timidina tritiada, identificaron células progenitoras conjuntivales tanto en el limbo como en la unión mucocutánea (UMC), de la cual surgen las células que discurren hacia el fondo de saco [94]. Wirtschafter et al. declararon haber encontrado hallazgos similares en conejos, centrándose en unas células que retenían marcador situadas en la UMC del borde palpebral, cuya progenie amplificada transitoria migraba con el tiempo hacia el fondo de saco [95].

Dedujeron que las células madre conjuntivales se hallaban principalmente en la UMC. Más recientemente, en tejido cadavérico humano, Stewart et al. han descrito la expresión de marcadores de células madre dispersos a lo largo de la conjuntiva, aunque los niveles más elevados se localizaban en las regiones cantal medial y forniceal inferior [96].

##### 4.4.3. Células caliciformes conjuntivales

Las células caliciformes conjuntivales humanas están presentes como células individuales dispersas por el epitelio conjuntival, salvo por un pequeño parche perilimbal temporal. Su número se incrementa a medida que vamos desde la región temporal superior hacia la región nasal inferior del saco conjuntival [97]. Almacenan y segregan la mucina formadora de gel MUC5AC [83], la cual, cuando se halla totalmente glucosilada, posee una masa de hasta 40 MDa [98,99].

Los geles de mucina poseen una enorme capacidad para unirse al agua y, por tanto, transforman las lágrimas acuosas en un gel mucoacuoso que forma el mayor volumen de la película lagrimal

preocular y mantiene la humedad en la superficie ocular [100]. Las mucinas poseen igualmente una función lubricante en la interfaz párpado-globo que es importante para los movimientos del globo ocular con respecto a los párpados. Esta función lubricante es necesaria en particular en el labio epitelial elevado del *limpiaparabrisas del párpado*, donde el borde posterior de cada párpado entra en contacto estrecho con el globo. Aquí, las células caliciformes se encuentran en criptas mucosas [101] similares a las de la conjuntiva tarsal [102]. La mucina de la capa mucoacuosa posee otras propiedades protectoras, ya que se fija a los microorganismos e inhibe su unión al epitelio, además de fijarse a la sIgA y a diversas proteínas y péptidos antimicrobianos [103]. De este modo, constituye un componente integrado en el sistema de vigilancia de la superficie ocular [104]. El papel de las citocinas de los linfocitos T colaboradores (Th1 y Th2) en la homeostasis de las células caliciformes [105] se examinará en una sección posterior.

La liberación de la mucina secretoria, MUC5AC, se puede inducir mediante la estimulación de los nervios simpáticos o parasimpáticos [106-108]. En la rata, los neurotransmisores parasimpáticos acetilcolina y péptido intestinal vasoactivo (VIP) estimulan la secreción de las células caliciformes conjuntivales *in vivo* tanto en células como en cultivos de órganos [108-110]. Asimismo, los nucleótidos que activan el receptor P2Y<sub>2</sub>, como el ATP y el trifosfato de uridina (UTP), y también los agonistas de los receptores P2Y<sub>2</sub>, pueden estimular la secreción de mucina en las células caliciformes de la conjuntiva de rata y humana [111,112]. Igualmente, los factores de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor neurotrófico derivado del encéfalo (BDNF) estimulan una liberación lenta de MUC5AC por parte de células caliciformes conjuntivales cultivadas de rata [110,113].

#### 4.4.4. Células inmunitarias residentes en la conjuntiva

Un estudio de los leucocitos residentes en la conjuntiva humana realizado por Hingorani et al. mostró un mayor número de ellos en la conjuntiva bulbar que en la tarsal [114], aunque se han descrito otras distribuciones [115].

Los linfocitos T (CD3<sup>+</sup>) eran la población linfocítica dominante, de los cuales el 75 % eran linfocitos T de memoria o acondicionados (CD45Ro<sup>+</sup>), cifra que se elevaba al 75-100 % en el epitelio. Los linfocitos T CD8<sup>+</sup> eran más frecuentes que los CD4<sup>+</sup> en el epitelio, mientras que sus números eran aproximadamente iguales en el estroma. Los macrófagos (CD68<sup>+</sup>) eran el segundo leucocito conjuntival más frecuente que se encontraba en el epitelio y en el estroma, y constituyen, junto con las células de Langerhans, las células que expresan antígeno leucocitario humano relacionado con el locus D del cromosoma de clase II (HLA-DR). El número exacto de leucocitos en general y de linfocitos en particular varía en función del estudio [114,116,117], pero los autores coinciden en que los linfocitos T predominan sobre los B y en que, de las células plasmáticas, aquellas que producen IgA son muy superiores en número a las que producen IgM. Se observaron neutrófilos y, ocasionalmente, linfocitos B en el epitelio tanto de la conjuntiva bulbar como tarsal, mientras que las células plasmáticas, los linfocitos citolíticos naturales (NK) y los mastocitos, presentes en números reducidos, se hallaban confinados en el estroma. Como concluyen Hingorani et al., los linfocitos T, los macrófagos y, ocasionalmente, los linfocitos B y los neutrófilos en el epitelio, y los linfocitos T, los linfocitos B, los macrófagos, las células plasmáticas,

los linfocitos NK, los mastocitos y los neutrófilos en el estroma se pueden considerar normales. En numerosos lugares se puede encontrar una revisión más completa del sistema de defensa inmunitaria de la superficie ocular [117-119].

Hingorani et al. encontraron únicamente un ejemplo de agregado linfoide compatible con la presencia de TLAC (tejido linfoide asociado a la conjuntiva), incluido en el sistema TLAM de tejido linfoide asociado a las mucosas, pero no examinaron el tejido forniceal, donde es más probable encontrar agregados de TLAC [120]. Wotherspoon et al. [121], que examinaron la totalidad de la conjuntiva forniceal humana superior e inferior en material de autopsia, solo encontraron tejido linfoide organizado en el 31 % de los casos. Las células inmunitarias residentes de la conjuntiva aparecen resumidas en la [Tabla 2](#), y las de la córnea en la [Tabla 3](#).

#### 4.5. El glucocáliz de los epitelios de las superficie ocular

Las membranas apicales de las células de la capa 1 de los epitelios de la superficie ocular presentan microvellosidades y micropliegues que se proyectan hacia las lágrimas e incrementan la zona de superficie interactiva en la interfaz lágrima/célula. Las células contiguas de la capa 1 están conectadas mediante uniones herméticas que restringen la entrada de solutos hidrosolubles en el epitelio, y otra barrera la constituye el denso glucocáliz apical [122], rico en mucinas transmembranales [83]. La intensa glucosilación de los exodominios de las mucinas convierte las membranas plasmáticas de una superficie hidrófoba a una hidrófila, lo que confiere *humectabilidad* al epitelio [123-125]. El glucocáliz también actúa como un lubricante que reduce la fricción en la superficie ocular [126,127] y como un desadhesivo que combate la colonización microbiana [128,129].

##### 4.5.1. Las mucinas transmembranales

Las mucinas transmembranales del glucocáliz epitelial corneal y conjuntival humano [130] son MUC1 [131], MUC4 [132] y MUC16 [133]; la galectina-3 desempeña funciones adicionales [134]. Las mucinas asociadas a las membranas poseen colas citoplásmicas cortas, un único dominio transmembranal y ectodominios extracelulares enormemente O-glucosilados, con un número variable de repeticiones en tándem (NVRT) [135,136] que se extienden al menos 200-500 nm por encima de la membrana plasmática, mucho más allá de otras glucoproteínas de la superficie celular [137,138], por lo que se proyectan hacia dentro de la película lagrimal.

MUC1 es la más pequeña de las tres mucinas del glucocáliz, con un peso molecular de aproximadamente 120-300 kDa, y su tamaño casi se dobla tras su glucosilación completa [139]. MUC1 exhibe propiedades antiadhesivas y de la matriz celular-celular y celular-extracelular [140,141]. La cola citoplásmica de MUC1 (MUC1-CT) interviene en actividades de señalización donde participan residuos fosforilados de serina y tirosina que actúan como lugares de unión para moléculas como NF-κB [142]. Estos pueden regular la transcripción de citocinas proinflamatorias, anular la interacción de la β-catenina con la E-cadherina y regular al alza la expresión de los transductores mesenquimales epiteliales (TME) [143].

MUC4 posee una masa molecular de 900 kDa, varias veces mayor que la de MUC1 [139]. Se expresa sobre todo en el epitelio conjuntival y en menor medida en el epitelio del limbo y de la

córnea periférica. En el centro de la córnea se expresa en cantidades muy pequeñas [132,144].

MUC16 es la mucina más grande que se ha identificado en el cuerpo humano, con una masa molecular de 2,5 MDa y una masa potencial glucosilada de aproximadamente 20 MDa [136,145,146]. El ectodominio de MUC16 se halla enormemente O-glucosilado y es más largo que el de las demás mucinas transmembranales. Su cola citoplásmica se une a la familia de proteínas ezrina/radixina/moesina (ERM), que *anclan la mucina* al citoesqueleto de actina de las microvellosidades [128]. La atenuación de la expresión de MUC16 en las células limbales del epitelio corneal humano dio lugar a una mayor penetración de la tinción de rosa de Bengala, una mayor unión de *Staphylococcus aureus* al epitelio [128] y una disrupción de las uniones herméticas [147]. Estas y otras pruebas [148] confirman a MUC16 como un componente esencial de la barrera de glucocáliz del epitelio humano que contribuye también a la barrera paracelular de la unión hermética en la superficie ocular. Por el contrario, la atenuación de MUC1 no conduce a una menor funcionalidad de la barrera; es más, aumenta significativamente la barrera frente a la penetrancia de la tinción y la invasión bacteriana [149].

pérdida similar de la función de barrera en ausencia de expresión de galectina-3 [134]. Estos hallazgos indican que la interacción del O-polisacárido mucínico con la galectina-3 crea una barrera de entramado protector dentro del glucocáliz apical [134,154]. La concentración de galectina-3 en las lágrimas puede ser de interés en el futuro como marcador de la gravedad de la EOS, dado que su afinidad por los polisacáridos del glucocáliz puede verse reducida por alteraciones de la glucosilación, o bien puede ser liberada por células inflamatorias de la superficie ocular [155].

4.5.2. Otras especies de mucina

La mucina formadora de gel MUC5AC es la principal mucina secretoria de la superficie ocular humana [132,156,157], aunque la mucina soluble MUC7 se detecta en la glándula lagrimal y en el epitelio conjuntival [17,158]. En las lágrimas humanas están presentes MUC1, MUC4, MUC16 y MUC5AC, y también se detecta MUC2<sup>59</sup> en niveles muy reducidos en la conjuntiva [157]. MUC20, que es la mucina que más se expresa en la conjuntiva humana [150], se localiza a lo largo de las membranas celulares de las capas

**Tabla 2**  
Células inmunitarias residentes en la conjuntiva humana normal.

Capa	Linfocitos T	Mac.	CL	PMN	Linfocitos B	Células plasmáticas	Linfocitos NK	Mastocitos
Epitelio	++++ Linfocitos T CD8 <sup>+</sup> > CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> /CD4 <sup>+</sup> = 3,3	+++	+	+	±			
Estroma	++++ Linfocitos T CD8 <sup>+</sup> y CD4 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> = 1,3	+++			±	+	+	+

Mac. = macrófagos; CL = células de Langerhans; PMN = neutrófilos; NK = linfocitos citolíticos naturales; datos extraídos de la bibliografía. [114,121,1104,1105].

**Tabla 3**  
Células inmunitarias residentes en la córnea humana normal.

Capa corneal	Tipo de célula (fenotipo) <sup>a</sup>	Córnea periférica <sup>b</sup>	Centro de la córnea
Estroma del epitelio	<b>Células de Langerhans</b> (CD45 <sup>+</sup> CD11c <sup>+</sup> CD11b <sup>lo</sup> MHC II <sup>+</sup> langerina <sup>+</sup> )	++++	++
	<b>CD derivadas de la médula ósea</b> <sup>a</sup> (CD45 <sup>+</sup> CD11c <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> CD8α <sup>+</sup> MHCII <sup>+</sup> CD80/86 <sup>+</sup> )	++++	++
	<b>CD no CL</b> <sup>a</sup> (CD11c <sup>+</sup> langerina <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> CD103 <sup>lo</sup> )	+++	++
	<b>Macrófagos</b> (CD45 <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> CD11c <sup>-</sup> )	+++	++
	<b>Células monocíticas precursoras</b> CD14 <sup>+</sup> MHCII <sup>+</sup> B7 <sup>+</sup> CD40 <sup>+</sup> GR1 <sup>-</sup> CD3 <sup>-</sup> )	+++	+++
	<b>PMN tisulares</b> (CD45 <sup>+</sup> Ly6G <sup>+</sup> )	+	-

<sup>a</sup> CD, células dendríticas; CL, células de Langerhans; PMN, linfocitos polimorfonucleares.

<sup>b</sup> Includida la región limbal; datos procedentes de la bibliografía. [474,1106-1111].

La lectina soluble galectina-3, la proteína de unión a carbohidratos más expresada en el epitelio conjuntival humano [150] es un componente del glucocáliz epitelial. Sus dominios de reconocimiento de carbohidratos (DRC) [151] se unen a los polisacáridos que contienen β-galactósido [152,153], MUC1 y MUC16, para formar un *entramado de galectina-glucoproteína* polimérico que desempeña diversas funciones biológicas, como la regulación del recambio de receptores y la modulación de las interacciones célula-célula, célula-matriz y célula-patógeno [153]. Asimismo, contribuye a la función de barrera del glucocáliz. La regulación a la baja de la síntesis de O-polisacáridos por parte de las células epiteliales corneales humanas en cultivos disminuye la barrera para la penetración del rosa de Bengala al reducir la unión de la galectina-3 dentro del glucocáliz [134] y se produce una

celulares intermedias de los epitelios corneal y conjuntival [160]. Se han identificado transcritos de ARNm de las mucinas transmembranales MUC13, MUC15 y MUC17 en la conjuntiva humana [150,158,160]. Aún se desconocen las funciones que desempeñan aquí, al igual que la de MUC20.

4.6. Los compartimentos lagrimales

Cuando los ojos están abiertos, las lágrimas se distribuyen en 3 compartimentos. El *compartimento forniceal* ocupa el fondo de saco y el espacio retrotarsal, y los *meniscos lagrimales* y la *película lagrimal* forman las *lágrimas preoculares*. Se cree que el compartimento forniceal es el más estrecho de la región *limpiaparabrisas del párpado* del borde palpebral, que se halla en yuxtaposición directa con el globo. La película lagrimal preocular queda sobre la conjuntiva y la

córnea expuestas [161]. La película lagrimal precorneal sigue los contornos de la córnea, tiene unos 3  $\mu\text{m}$  de espesor y es muy estable [162]. La película prebulbar sigue los contornos variables de la conjuntiva bulbar, pero se desconoce su grosor.

#### 4.6.1. Los meniscos lagrimales

Los meniscos lagrimales son franjas de líquido lagrimal acuoso que se encuentran en el ángulo situado entre el globo y los bordes palpebrales yuxtapuestos, que se forman debido a las fuerzas de tensión superficial al separarse los párpados, en unos pocos cientos de milisegundos, en el movimiento ascendente del parpadeo. La presión hidrostática negativa dentro de los meniscos nacentes extrae agua de la película lagrimal que se forma y hace que los dos compartimentos se separen a lo largo de una región de adelgazamiento inducido por el menisco. [163,164] Esto se puede observar como una línea negra de fluorescencia reducida en la película lagrimal teñida con fluoresceína, donde la capa acuosa tiene un espesor mínimo, mientras que la capa lipídica permanece intacta (Fig. 1) [165]. No existen indicios de que exista una capa gelatinosa en los meniscos. La instilación de una gota acuosa expande el volumen del menisco y de la película lagrimal y suprime transitoriamente la línea negra [166].

La presión hidrostática negativa dentro de los meniscos es la responsable de su superficie externa cóncava y se opone al flujo de salida de acuoso hacia los puntos lagrimales, por lo que el drenaje se limita aproximadamente a los primeros 2 s del intervalo del parpadeo [167,168]. Este efecto se ve potenciado al disminuir el volumen del menisco, y puede desempeñar un papel de conservación en la EOS por deficiencia acuosa (OSDA).

4.6.1.1. *Volumen y secreción lagrimales.* El volumen de los meniscos guarda una relación directa con el volumen total de líquido lagrimal [169] y con el ritmo de secreción lagrimal [170]. Dado que la altura y el radio de curvatura de los meniscos lagrimales está reducido en la OSDA, su medición es valiosa para el diagnóstico de la EOS [168,171,172]. Se ha calculado que el volumen de las lágrimas es de unos 7  $\mu\text{l}$  [173] y la velocidad de secreción de  $1,03 \pm 0,39 \mu\text{l}/\text{min}$ , con un recambio lagrimal (VRL) de  $16,19 \pm 5,10 \%/ \text{min}$  [174]. La glándula lagrimal (GL) es la responsable del grueso del volumen y del flujo de lágrima [170], y la conjuntiva segrega una parte más pequeña [81].

El líquido lagrimal se distribuye en y se mezcla con la película preocular durante el parpadeo y después se pierde por drenaje de los meniscos lagrimales a través del sistema nasolagrimal. También se pierde por evaporación en las lágrimas preoculares expuestas [175-177].

#### 4.6.2. La película lagrimal precorneal

La película lagrimal precorneal posee una capa lipídica superficial y otra mucoacuosa que ocupa el grueso del espesor de la lágrima e interactúa directamente con el glucocáliz del epitelio (véase el informe del Subcomité de Película lagrimal). También existe una capa acuosa delgada superficial. La película lagrimal es muy estable y sus capas se cohesionan durante los movimientos del ojo [178].

#### 4.6.3. La capa lipídica de la película lagrimal

Translated into Spanish by Allergan

La capa lipídica de la película lagrimal (CLPL) se deriva del depósito de meibo situado en los bordes palpebrales y se distribuye por la película lagrimal con cada parpadeo, impulsada por fuerzas de tensión superficial. Su espesor medio es de 42 nm (15-157 nm) [179]. Desempeña un papel significativo en la estabilización de la película lagrimal y hasta hace poco se ha considerado que ofrecía una barrera frente a la evaporación lagrimal [36,180,181]. Sin embargo, algunos estudios pasados y más recientes indican que reduce la evaporación de la subfase mucoacuosa como máximo en un 10 % [182]. Esta cuestión es crítica para la designación de ciertas formas de EOS como evaporativas (OSE), es decir, dependientes de una pérdida evaporativa excesiva de la superficie ocular, y se estudiará más adelante en el informe del Subcomité de Película lagrimal.

Las glándulas de Meibomio segregan una mezcla lipídica (meibo) que es líquida a la temperatura corporal, con un intervalo de fusión entre 19,5 y 32,9  $^{\circ}\text{C}$  según Tiffany [181], o de 10 a 40  $^{\circ}\text{C}$  según Butovich et al. [183] Este aceite transparente se puede exprimir de los orificios meibomianos presionando sobre las glándulas a través de los párpados cerrados. La expresibilidad es mayor en el extremo nasal y menor en el temporal [184]. La emisión de aceite en el borde palpebral se produce en parte por secreción y en parte por expresión de pequeñas alícuotas con cada parpadeo. El depósito del párpado contiene al menos 30 veces la cantidad de lípido presente en la superficie de la película lagrimal (aproximadamente 300  $\mu\text{g}$  frente a 10  $\mu\text{g}$ , respectivamente) [185,186].

Es probable que la excreción de meibo se produzca mediante un flujo de lípido desde los depósitos situados sobre la piel de los bordes palpebrales y las pestañas. Esto serviría para resistir la contaminación de la película lagrimal por los lípidos sebáceos de la piel (sebo).

En consonancia con la propuesta anterior de Holly [187] y los estudios posteriores de McCulley [188], se considera que la CLPL está organizada en una capa profunda de algunas moléculas de espesor, rica en lípidos polares y en algunos ácidos grasos de cadena larga, y una capa superficial de lípidos no polares.

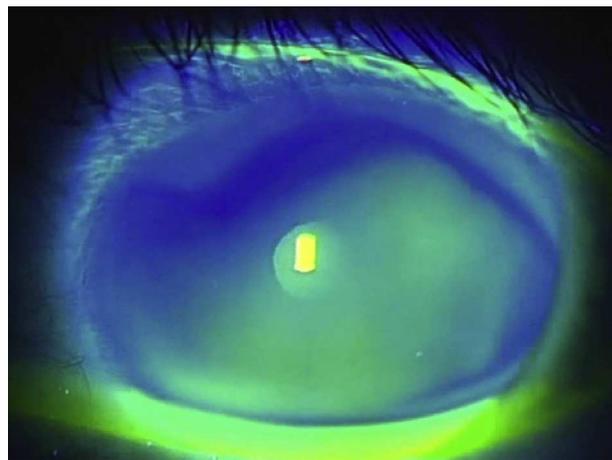


Fig. 1. Un menisco lagrimal inferior con tinción de fluoresceína después de instilar las gotas. El menisco es ancho y pleno y se segrega de la película lagrimal precorneal teñida mediante una línea negra de adelgazamiento inducido por el menisco.

Se cree que ciertas proteínas y glucoproteínas, como las lipocalinas, la lisozima y la mucina, están intercaladas con la capa lipídica y

mejoran su estabilidad [189-191].

**4.6.3.1. Dispersión de la capa lipídica.** La capa lipídica de la película lagrimal se forma en el movimiento ascendente de cada parpadeo, cuando el lípido del depósito meibomiano inferior se extiende hacia arriba sobre la subfase acuosa de la película lagrimal preocular [192,193]. Se ha propuesto que el adelgazamiento de la capa lipídica en la parte superior crea un aumento local de la tensión superficial, que es la fuerza motora para la dispersión [193]. Se ha apuntado que la dispersión inicialmente implica una interacción entre los lípidos meibomianos polares y la fase acuosa de la película lagrimal [190], y que la capa de lípidos polares actúa entonces como portadora para la fracción lipídica no polar. En el ojo normal, la dispersión de la capa lipídica de la película lagrimal se puede observar clínicamente mediante microscopía de vídeo de interferencia, cuando se observa como un frente de flecos de colores dispuestos horizontalmente que se desplaza hacia arriba. La película lipídica se dispersa rápidamente al principio (unos 10 mm/s) y se retrasa pronunciadamente detrás del párpado superior, cuyo recorrido finaliza al cabo de algunos cientos de milisegundos [194]. La dispersión se ralentiza y estabiliza después de 1 s o más, y el patrón de interferencia muestra una estabilidad considerable a lo largo del resto del intervalo del parpadeo [194,195].

La dispersión de la CLPL es más lenta en los pacientes con deficiencia lipídica en la película lagrimal (Goto 2003) y también en la deficiencia lagrimal acuosa [194], lo cual se atribuye a la delgadez de la fase acuosa. Asimismo, en la primera afección mencionada, el patrón de dispersión de la CLPL adopta una disposición más vertical [195].

El patrón de flecos coloreados que muestra la interferometría se debe a las variaciones topográficas en el espesor de la capa lipídica a lo largo de la película y refleja su organización intermolecular. Se puede observar que esto es considerablemente estable durante el parpadeo y los movimientos oculares. A lo largo de una serie de parpadeos el patrón puede conservar sus rasgos principales entre un parpadeo y otro, y solo se va perdiendo unos grados de forma progresiva hasta que cambia bruscamente y el proceso comienza de nuevo [197]. En esta situación, parece que la CLPL está desprovista de la capa mucoacuosa y se comprime durante el movimiento descendente del parpadeo y se recupera en el ascendente, con solo una perturbación moderada de su organización intermolecular entre dos parpadeos consecutivos. El periodo durante el cual se puede observar esto se puede reducir considerablemente en los pacientes con deficiencia de la capa lipídica lagrimal, lo que indica que se ha perdido la estabilidad intermolecular [198]. En esto se basa un análisis clínico [199].

De modo similar, el patrón de interferencia muestra una gran estabilidad durante una serie de movimientos oculares rápidos horizontales, lo que muestra de nuevo solo una degradación progresiva moderada a lo largo de una serie de movimientos oculares rápidos. En este caso, la CLPL y la subfase mucoacuosa se comportan como una corteza de líquido que se mueve dentro de la córnea durante cada movimiento ocular [197]. Sería conveniente estudiar la influencia de un estado de EOS sobre este comportamiento.

#### 4.6.4. La capa acuosa y la subfase mucoacuosa

Translated into Spanish by Allergan

En la región profunda de la CLPL se encuentra una capa rica en mucina que recibe el adecuado nombre de subfase mucoacuosa [200]. La presencia de una capa acuosa en su superficie, como propone Wolff (Wolff 1946) ha sido objeto de debate [201], pero es razonable suponer que en el proceso de formación de la película lagrimal, dado que las lágrimas acuosas son arrastradas hacia el interior de los meniscos, algo de líquido residual se conservará en la superficie de la capa mucoacuosa. (Véase el informe del Subcomité de Película lagrimal). Esta capa de líquido se puede expandir de forma transitoria mediante la instilación de una gota de solución salina [166].

La observación de la película lagrimal teñida mediante fluoresceína indica que la capa mucoacuosa de la *película precorneal* se vuelve a depositar con cada parpadeo y posee las propiedades físicas de un gel, debido a la presencia de la mucina de las células caliciformes [197]. Se cree que su componente mucínico es producto principalmente de las células caliciformes tarsales, mientras que el de la *película prebulbar* probablemente se deba a una mezcla de mucinas de las glándulas tarsales y bulbares. La córnea periférica recibe un revestimiento adicional al pasar por detrás de los párpados durante los movimientos oculares en cualquier dirección de la mirada [197].

La subfase mucoacuosa lleva a cabo una función lubricante entre los párpados y el globo [99], y es posible que mantenga la humectabilidad de la superficie ocular donde el glucocáliz esté defectuoso, por ejemplo después de una abrasión [201]. También atrapa las células epiteliales desprendidas, las células inflamatorias, los residuos y los microorganismos, que se recogen en una hebra mucosa en el saco conjuntival inferior y se acaban perdiendo a través del punto lagrimal [202,203].

La capa mucoacuosa contiene sales y numerosas proteínas procedentes de las GL, de la conjuntiva y de la glándula de Meibomio. Las proteínas incluyen factores de crecimiento como los factores de crecimiento epidérmico y de hepatocitos, que son esenciales para el mantenimiento del epitelio [204,205]. También existen proteínas de defensa, como la lisozima, la lactoferrina, la proteína D tensioactiva y el péptido trébol, involucrados en la inmunidad innata, y la sIgA [205,206]. Estas proteínas de origen lagrimal, como la lisozima y la lactoferrina, están disminuidas en la OSDA, lo que hace que el ojo sea más vulnerable a la infección. Se ha pronosticado que el nivel de estas proteínas será normal en la OSE, donde la funcionalidad lagrimal es normal, y sería interesante confirmar este pronóstico [207].

Las proteínas plasmáticas, como la albúmina, pueden filtrarse en las lágrimas en la EOS como consecuencia de la inflamación, debido a un aumento de la permeabilidad capilar vascular conjuntival [205,208,209] y, probablemente, también de la permeabilidad epitelial conjuntival. La GL no se puede excluir como fuente adicional.

#### 4.7. Lágrimas con los ojos cerrados

El cierre de los ojos durante la noche provoca una serie de cambios fisiológicos en la superficie ocular. El pO<sub>2</sub> desciende y se produce un cambio hacia un metabolismo tisular anaerobio [210,211]. El pH y la osmolaridad de la lágrima descienden [212,213], la córnea anterior se vuelve relativamente hipóxica, aumenta la permeabilidad epitelial y se produce un edema corneal

[214,215]. No existen cambios en los niveles de glucosa de la lágrima [216].

Jordan y Baum han propuesto que, en estado de vigilia, la secreción de lágrima proviene en parte de los estímulos sensoriales de la superficie ocular, y se prevé que se encontrará en su punto más bajo cuando el estrés ambiental se halle en el mínimo [217]. Esto se deriva de los estudios de Sack y sus colaboradores, que demostraron que la secreción lagrimal era insignificante después de un periodo prolongado de sueño o de cierre de los ojos, cambio que iba acompañado de un brusco incremento del nivel de sIgA en la lágrima, desde alrededor de un 2 % en las muestras de lágrima refleja, en comparación con el 58 % en las lágrimas con los ojos cerrados [218]. Por el contrario, los niveles de lisozima, lactoferrina y lipocalina, proteínas de origen lagrimal que constituyen cerca del 85-88 % de las proteínas totales en las muestras de lágrima basal y refleja, descienden en las lágrimas con los ojos cerrados hasta menos del 30 % del total [218]. El aumento de la concentración de sIgA puede indicar que, a diferencia de las proteínas específicamente lagrimales, la lisozima, la lactoferrina, la lipocalina y la peroxidasa [219], la secreción de sIgA, de origen celular plasmático, no está asociada directamente a la secreción lagrimal. Por tanto, el aumento se puede explicar mediante la emisión continua de IgA al mismo ritmo en un líquido lagrimal de un volumen muy reducido. Este descenso del volumen de secreción también explica en parte, el aumento de la concentración de ciertas proteínas plasmáticas en la lágrima, como la vitronectina, la fibronectina, la antiproteasa  $\alpha 1$ , la antiplasmina  $\alpha 2$ , la antiqumotripsina  $\alpha 1$  y la IgG [220,221], que entran en las lágrimas por difusión a través de las barreras conjuntivales capilar y epitelial. Estas proteínas están presentes en las lágrimas con los ojos cerrados a un 2-4 % del nivel sérico, muy por encima del nivel encontrado en las lágrimas reflejas. Sack también hace referencia a un incremento en la permeabilidad vascular cuando se está con los ojos cerrados [209].

Una característica llamativa de las lágrimas con los ojos cerrados es la acumulación masiva de PMN activados dentro del líquido lagrimal varias horas después de cerrar los ojos [218]. Su aparición viene precedida 1-2 h antes [222] por niveles muy elevados de dos potentes mediadores leucotáxicos, IL-8 y LTB<sub>4</sub>. Hasta un 70 % de esta actividad leucotóxica desaparece con la inmunoprecipitación con anticuerpos contra la IL-8, lo que indica que no es principalmente de origen PMN. La desgranulación de los PMN libera varias proteasas potentes, como la proteasa-3, la elastasa, la catepsina G, la MMP-9 y la urocinasa, que, debido a la presencia simultánea de una gran variedad de antiproteasas, no conduce a una digestión autolítica. Además, a pesar de la presencia del potente angiogénico ácido 12 (R)- hidroxieicosatrienoico [223], y de IL-8, que puede estimular la neovascularización corneal, una acumulación de macroglobulina  $\alpha 2$  (M $\alpha$ 2) y la conversión del plasminógeno en angioestatina parecen prevenir este desenlace.

Las lágrimas con los ojos cerrados también son extremadamente ricas en productos reactivos del complemento, normalmente ausentes [224] en las lágrimas de los ojos abiertos. Las lágrimas con los ojos cerrados contienen todos los componentes del complemento necesarios para las vías clásica y alternativa de activación del complemento en una concentración de cerca del 2-4 % de la del suero. Sin embargo, los factores B y C3 llegan a niveles próximos a un tercio en el suero, lo que indica un origen local [224].

Translated into Spanish by Allergan

Una proporción significativa del C3 en la lágrima de los ojos cerrados se convierte en C3c, y Sack et al. han inferido que, dado que este tipo de lágrimas contienen dos inhibidores de la conversión del complemento (lactoferrina y sIgA), es probable que la conversión del C3 se produzca a través de la vía alternativa o por escisión de la plasmina [218]. También se ha propuesto que los moduladores de la activación del complemento desvían el sistema del complemento de la formación de complejos de ataque a la membrana hacia la opsonización.

En resumen, durante el cierre prolongado de los ojos entran en juego potentes mecanismos de defensa y depuración que sirven para eliminar las amenazas microbianas para la superficie ocular. Estos acontecimientos se hallan enormemente regulados, de manera que no se produzca daño alguno a la propia superficie del ojo. Sin embargo, esta estrategia puede resultar arriesgada, ya que se puede desestabilizar en la EOS, y el Subcomité recomienda la investigación de las lágrimas con los ojos cerrados y de muestras de citología de impresión conjuntival subsiguientes a un periodo prolongado con los ojos cerrados en pacientes con EOS. A esto se añade el interés por estudiar a los pacientes con síndrome de Sjögren, ya que una respuesta disfuncional determinada genéticamente frente a desencadenantes inflamatorios puede dar lugar a una respuesta también disfuncional en la lágrima con los ojos cerrados.

#### 4.8. ADN extracelular y NET en el ojo seco

Se ha detectado un nuevo mecanismo que provoca daños en los tejidos en la EOS después de publicarse el informe TFOS DEWS [1], relacionado con la liberación en las lágrimas de ADN procedente de células epiteliales descamadas de la superficie ocular y neutrófilos invasores. Este ADN extracelular (ADNe) puede, por sí solo o combinado con componentes moleculares de origen neutrofílico, causar daños directos en la superficie ocular.

##### 4.8.1. ADN extracelular de origen epitelial

Una de las fuentes de ADNe son las células epiteliales de la superficie ocular descamadas de origen conjuntival [114,225] y, presumiblemente, corneal. El ADN extracelular, facilitado por la unión de la catelicidina [226], es capaz de entrar en las células y de estimular una vía de señalización inflamatoria [227] uniéndose al TLR9 dentro de la célula e iniciando una cascada de señalización a través del MyD88. Esto tiene dos consecuencias: a) el inicio de una respuesta del IFN de tipo 1 [228], y b) la emisión de una potente señal de reclutamiento de neutrófilos [229-231]. En favor de esta idea, la aplicación tópica de un imitador sintético de ADN bacteriano al epitelio corneal dañado produce el reclutamiento de neutrófilos hacia las córneas de ratones normales, pero no de los TLR9  $-/-$  [232]. Se ha observado un aumento de la expresión de ARNm de los genes de las vías de TLR9, de MyD88 y del IFN de tipo I en células conjuntivales exfoliadas de pacientes con OSDA grave [114,225] y de pacientes con síndrome de Sjögren primario [233], lo que indica que las células epiteliales contribuyen directamente a la respuesta inflamatoria y también intervienen en el reclutamiento de PMN.

Los IFN de tipo 1 (IFN- $\alpha/\beta$ ) aumentan la maduración de las células dendríticas y activan el sistema inmunitario adaptativo. El

incremento de la expresión de ARNm de IL-6 y TNF- $\alpha$  se ha percibido también en células conjuntivales exfoliadas. La expresión de estas citocinas inflamatorias en los epitelios corneal y conjuntival se eleva en ciertas formas de EOS experimental [234,235].

#### 4.8.2. ADN extracelular de origen neutrofílico

Los neutrófilos desempeñan un papel crucial en la respuesta inmunitaria innata del anfitrión y constituyen una primera línea de defensa. Aunque están presentes solo en reducidas cantidades en la conjuntiva normal [114], se los recluta hacia la superficie ocular profusamente en caso de inflamación y abundan en la superficie ocular y en las lágrimas de los pacientes con OSDA grave [114,225].

Una estrategia que adoptan los neutrófilos en su defensa contra los microorganismos consiste en liberar contenido celular al espacio extracelular para formar trampas extracelulares de neutrófilos o NET [236]. Estas se componen de unas mallas o andamios extracelulares que contienen cromatina descondensada, histonas, elastasa de neutrófilos y péptidos antimicrobianos como la catelicidina, cada uno de los cuales puede ser tóxico individualmente para las células epiteliales [237]. Las histonas extracelulares son importantes mediadores de muerte celular en la septicemia [238], se considera que fragmentos de catelicidina provocan eritema, inflamación y telangiectasia en los pacientes con rosácea [239], y la elastasa de neutrófilos induce la apoptosis de las células epiteliales [240]. Se han encontrado NET con todos sus componentes moleculares en películas mucoides de la superficie ocular en la EOS [114,225] (Fig. 2). Se ha propuesto que su asociación con la mucina está relacionada con la acción de la elastasa de neutrófilos en la escisión de los dominios extracelulares de las mucinas asociadas a las membranas [241]. En otros estudios se ha visto que las mucinas pueden provocar la activación de los neutrófilos [242].

En el ojo sano, las NET pueden desempeñar un papel fisiológico en la defensa contra los microbios patógenos gracias a su acción antimicrobiana y a que confinan estos microorganismos a un punto de infección local [243]. Asimismo, la inmovilización de los gránulos de neutrófilos dentro de las NET puede evitar la difusión de proteasas y proteínas potencialmente nocivas hacia la superficie ocular. Sin embargo, en los pacientes con OSDA grave aparecen ADN<sub>e</sub> y NET en la superficie ocular en cantidades excesivas [225], y las pruebas indican que intervienen en la patogenia de la

enfermedad [225]. Existen dos explicaciones para estos altos niveles:

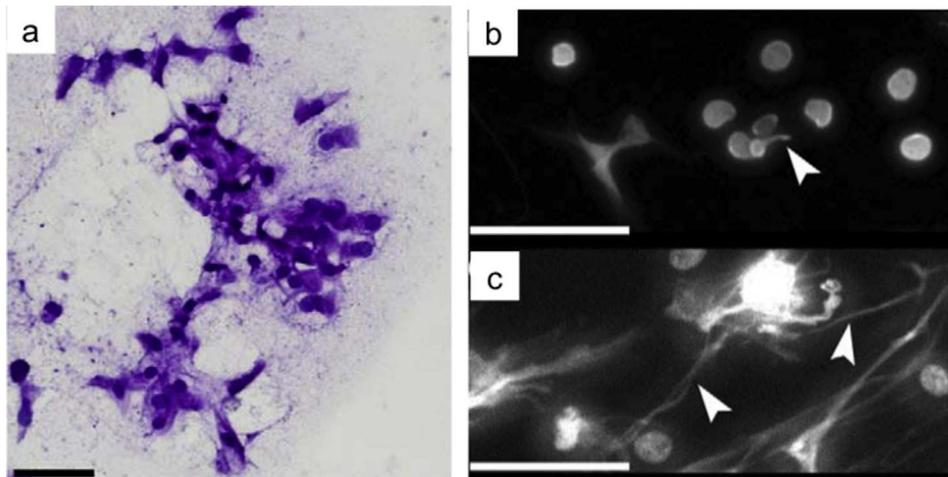
- i. La exposición de los neutrófilos a un estrés hiperosmolar estimula la formación de NET, y la liberación cuantitativa de NET aumenta exponencialmente al incrementarse la hiperosmolaridad. Esto es relevante para la situación de la EOS grave, donde, por motivos que se explican en otros lugares, se pueden alcanzar altos niveles de osmolaridad en la lágrima [244]. El estrés hiperosmolar también ejerce un efecto inhibitorio sobre ciertas funciones críticas de los neutrófilos, como la migración y la desgranulación. Así, en un entorno hiperosmolar pueden verse afectados los clásicos mecanismos de defensa innatos relacionados con los neutrófilos.
- ii. En condiciones fisiológicas, el nivel de ADN<sub>e</sub> y de NET en la lágrima se regula a través de nucleasas de origen lagrimal, la desoxirribonucleasa (ADNasa) I y la lipocalina (una endonucleasa con menor nivel de actividad). Las nucleasas hidrolizan el ADN<sub>e</sub> y permiten su eliminación de la superficie ocular. La concentración de ADNasa I en el líquido lagrimal es similar a la del suero y la saliva. Cabe destacar que se ha observado que la actividad de las nucleasas del líquido lagrimal era baja o inexistente en pacientes con OSDA [114,225], lo que también da pie a una mayor presencia de ADN<sub>e</sub> y NET en las lágrimas en la EOS, incluidas la asociada al síndrome de Sjögren (OSSS), la no asociada al síndrome de Sjögren (OSNS) y la enfermedad de injerto contra el hospedador (EICH) [245].

Así pues, parece que en la EOS la producción de NET se ve estimulada por la hiperosmolaridad, y la eliminación tanto del ADN<sub>e</sub> como de las NET se ve dificultada por la deficiencia de nucleasas en la lágrima. Ambos pueden intervenir en el ulterior reclutamiento de neutrófilos [225,244]. Se está estudiando el uso de tratamientos tópicos con ADNasa I para la EOS [245].

El Subcomité recomienda tener esto en cuenta como un área importante de investigación futura para explorar su participación en grados menores de EOS y también cualquier interacción con la respuesta de los PMN en la lágrima con los ojos cerrados.

#### 4.9. La homeostasis de la lágrima en la superficie ocular

##### 4.9.1. La unidad funcional lagrimal (UFL)



**Fig. 2.** a. Tinción con HyE de células superficiales exfoliadas. b. Imagen obtenida mediante microscopía de fluorescencia de campo amplio después de una tinción con DAPI del material de impresión conjuntival que revela la presencia de hebras dispersas de ADN<sub>e</sub> (punta de la flecha) en sujetos normales y c. numerosas hebras largas de ADN<sub>e</sub> en pacientes con EOS (puntas de las flechas). (Extraído de Sonawane, S., et al. (2012). "Ocular surface extracellular DNA and nuclease activity imbalance: a new paradigm for inflammation in DED". Invest Ophthalmol Vis Sci 53(13): 8253-8263. - con permiso) [225].

La producción de lágrima acuosa se regula para mantener la osmolaridad dentro de unos límites estrechos en todo momento [246]. La homeostasis de la lágrima se consigue de manera refleja a través de la *unidad funcional lagrimal* (UFL), formada por la superficie ocular, sus anejos secretores y la innervación conectora (Fig. 3) [247]. La innervación trigémina de los epitelios de la superficie ocular, lo que incluye la córnea, la conjuntiva y los bordes palpebrales, proporciona la rama aferente del circuito de retroalimentación. La innervación secretomotora parasimpática de los anejos oculares, lo que incluye la glándula lagrimal (principal, palpebral y accesoria), las glándulas de Meibomio y las células caliciformes conjuntivales, proporciona la rama eferente de este circuito. También se considera que la vía nasolagrimal contribuye a este sistema reflejo [248]. Otro arco reflejo que sirve para proteger la superficie ocular es el que produce el parpadeo.

#### 4.9.2. El arco reflejo secretor

La rama aferente del arco reflejo surge del nervio trigémino, cuyas terminaciones centrales forman sinapsis con las neuronas del núcleo salival superior en el tronco encefálico, probablemente situadas de forma caudal al núcleo del VII par craneal [77]. En el conejo, la innervación sensorial del centro de la córnea es entre 10 y 20 veces mayor que la de la pulpa dental, mientras que la de la conjuntiva generalmente presenta un grado menor [249]. Sin embargo, la sensibilidad del borde palpebral posterior es similar a la del centro de la córnea [250], lo cual es importante para los síntomas de blefaritis.

La rama eferente del arco reflejo es una vía parasimpática cuyas fibras secretomotoras preganglionares provienen del núcleo salival superior. Estas fibras salen de la protuberancia por el *nervio intermedio* del VII par craneal y llegan al *ganglio esfenoopalatino* a través del nervio del conducto pterigoideo. Desde aquí transmiten la información y las fibras posganglionares llegan a la glándula lagrimal a través del nervio lagrimal. Se ha descrito una vía posganglionar alternativa que llega a la glándula a través del plexo nervioso retroorbitario [251].

Se desconoce la naturaleza de la transmisión entre las fibras aferentes y eferentes, en el núcleo salival superior, la participación de las interneuronas y la interacción con otras entradas y vías supranucleares, al igual que tampoco se conoce totalmente el nivel de la conectividad cruzada central entre las entradas ipsilaterales y las salidas contralaterales. Los estudios actuales no han descartado su existencia [252]. Esto contrasta con las observaciones relativas al tono de secreción lagrimal desde la mucosa nasolagrimal donde se ha constatado conectividad cruzada [26]: la anestesia ipsilateral de la mucosa nasal reduce la secreción lagrimal a ambos lados.

#### 4.9.3. Entradas aferentes desde la superficie ocular

4.9.3.1. *La secreción lagrimal y el parpadeo.* Las aferentes del trigémino desde la córnea sirven para una serie de modalidades sensoriales que incluyen el dolor, la mecanorrecepción y la temperatura; todos los detalles figuran en el informe del Subcomité de Dolor y sensación. Aquí podemos señalar que las entradas sensoriales de la superficie ocular regulan la producción de lágrima y la respuesta de parpadeo, y constituyen la base de las sensaciones de molestia en la EOS.

4.9.3.2. *Tono sensorial de secreción lagrimal.* Las pruebas indican que en condiciones normales la secreción lagrimal se origina por los impulsos sensoriales de los termorreceptores corneales del frío. Asimismo, parece que, en la EOS, la desecación de la superficie, al estimular este subconjunto de receptores en respuesta a la hiperosmolaridad y al enfriamiento de la superficie, determina el incremento compensatorio de secreción lagrimal, el aumento de la frecuencia de parpadeo y la sensación de notar el ojo, lo que eleva el nivel de molestia. Esta respuesta compensatoria a la desecación que se produce en la EOS relacionada con la DGM, donde la glándula lagrimal está sana, podría explicar por qué algunos pacientes con EOS experimentan epífora y parecen tener el “ojo húmedo y seco” [253].

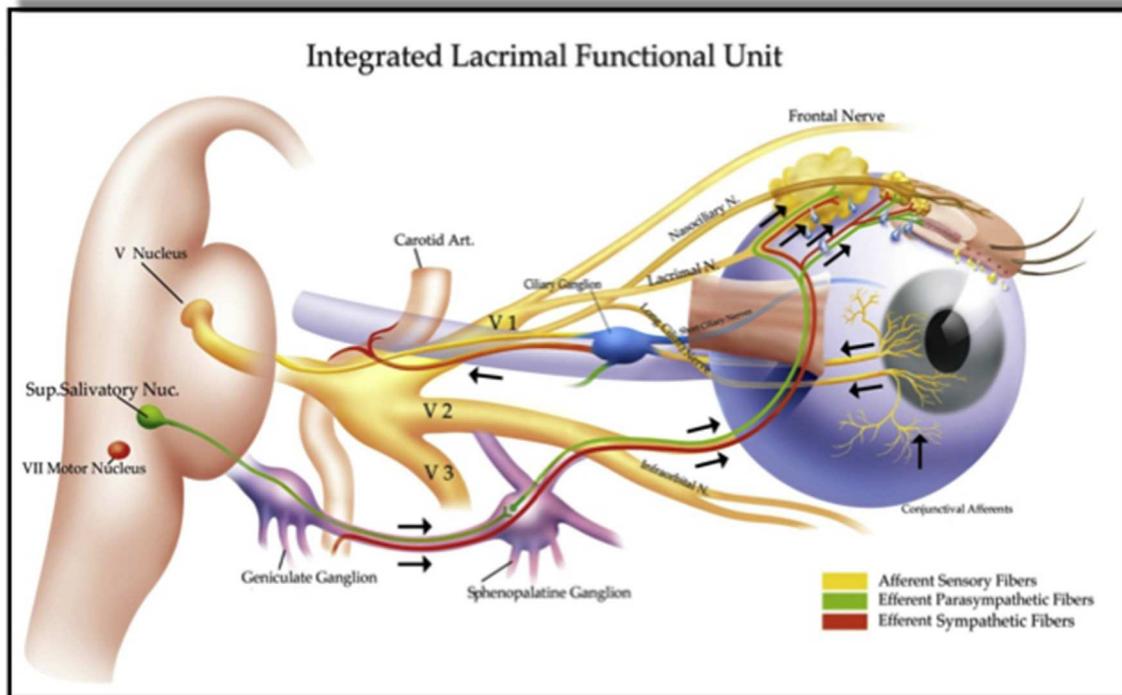


Fig. 3. Representación de la unidad funcional lagrimal. En estado de vigilia, el flujo de lágrima acuosa está modulado por impulsos reflejos procedentes de la superficie ocular y de las fosas nasales que viajan por el nervio trigémino hasta la sinapsis del núcleo salival superior. (Extraído de Dry Eye and Ocular Surface Disorders, Pflugfelder, Beuerman, Stern, 2004 - con permiso) [1102].

La anestesia tópica bilateral provoca una reducción de la secreción refleja de lágrima de hasta dos tercios [217], lo que proporciona un valor que en ocasiones se denomina “secreción lagrimal basal”. Se trata de un término razonable, siempre y cuando se tenga en cuenta que hace referencia a una medición realizada en determinadas condiciones ambientales y que no excluye las señales de entrada para la secreción lagrimal de fuentes no oculares. Jordan y Baum [217] han propuesto que la tasa de secreción lagrimal se ajusta en respuesta a las condiciones ambientales y que, según se ha mencionado, la producción de lágrima se encuentra en su punto más bajo tras permanecer un periodo prolongado con los ojos cerrados, como sucede durante el sueño nocturno [218]. Asimismo, como observaron Cross y Krupin en sujetos con ojos normales, la secreción lagrimal basal medida después de administrar anestesia tópica (promedio en la prueba de Schirmer: 12,8 mm) disminuye considerablemente después de 1 h de anestesia general (hasta 1,2 mm), lo cual indica supresión de una señal de entrada procedente de centros superiores del sistema nervioso central [254]. Heigle et al. concluyen: “Quizás la estimulación de las glándulas lagrimales provenga de la suma de señales de entrada sensoriales procedentes de la piel de los anejos ipsilaterales, la córnea, la mucosa nasal, el ojo contralateral e incluso la estimulación central” [255].

Existen otras señales de entrada sensoriales para la vía del flujo de salida, desde la mucosa nasal, la retina y la piel, que surgen del dolor y de otros estímulos nocivos (como el frío intenso o la luz brillante) cuya naturaleza cuantitativa se desconoce. El hecho de que la estimulación unilateral de la fosa nasal de un lado produce un aumento de la humectación en la prueba de Schirmer de los dos ojos sin anestesiar (reflejo nasolagrimal) no puede tomarse como una demostración de que existan una respuesta refleja o conexiones cruzadas entre las señales de entrada del trigémino desde la

cavidad nasal hasta el núcleo salival superior. Podrían indicar una respuesta de centros superiores ante el estímulo doloroso. El lagrimeo en respuesta a una lesión dolorosa o a la estimulación retiniana con luces brillantes podría tener un fundamento similar. El lagrimeo emocional se halla bajo el control de los centros superiores [256], y existe una influencia del hipotálamo sobre los centros autonómicos del tronco encefálico [257]. En situación de equilibrio, la mayoría del volumen de lágrima proviene de la glándula lagrimal, y su osmolaridad por tanto refleja la de la secreción lagrimal, modificada por la exposición al entorno cuando los ojos están abiertos. Se prevé que un intervalo de parpadeo más prolongado dará lugar a un mayor aumento de la osmolaridad de la película lagrimal preocular y del menisco que un intervalo de parpadeo más breve.

4.9.3.3. *Tono sensorial de parpadeo.* Se cree que los parpadeos espontáneos surgen de la actividad de un “generador de parpadeo” del tronco encefálico, modificada por las señales de entrada reflejas de la superficie ocular y las de los centros superiores. No se conocen plenamente los detalles del generador de parpadeo, pero puede encontrarse en la formación reticular bulboprotuberancial y en el núcleo reticular bulbar, que sirven tanto al núcleo del nervio facial como a los núcleos del III par craneal. La frecuencia de parpadeo disminuye después de administrar anestesia ocular bilateral tópica [258] y después de las intervenciones de cirugía LASIK [259].

4.9.3.4. *El ciclo de parpadeo y la dinámica de la lágrima.* La película lagrimal se renueva regularmente con el parpadeo espontáneo [258,260], cuya frecuencia se adapta a las condiciones ambientales y varía según la conducta de cada persona. El parpadeo desempeña un papel esencial en la dinámica de la lágrima al dispersar, mezclar

y distribuir las lágrimas y eliminar los residuos celulares y de otros tipos. El ciclo del parpadeo consta del parpadeo propiamente dicho (alrededor de 200-300 ms) y del intervalo de parpadeo, durante el cual se produce una pérdida de agua evaporativa [261]. La frecuencia de parpadeo se expresa en parpadeos por minuto.

*4.9.3.5. La frecuencia de parpadeo.* Se han descrito grandes variaciones en la frecuencia de parpadeo de adultos normales, lo que probablemente refleje las variaciones individuales y la influencia de las condiciones ambientales y experimentales. Esto se ve influido enormemente por el estado mental, la atención, la actividad física, la exposición del ojo y el entorno. Los factores ambientales importantes son la humedad relativa, la temperatura y el flujo de aire que pase sobre el ojo. La frecuencia de parpadeo aumenta cuando la humedad es baja, hace frío y sopla viento a gran velocidad.

En condiciones ambientales estándar (p. ej., a 22 °C con una humedad del 40,0 %), la frecuencia de parpadeo en adultos normales oscila entre 15 y 20 por minuto [261-263]. La frecuencia de parpadeo aumenta en la EOS, donde se cree que desempeña un papel compensatorio en la renovación de la película lagrimal con más frecuencia [264,265]. La frecuencia de parpadeo disminuye durante una serie de tareas visuales comunes que requieren concentración mental, y se considera que este aumento de la pérdida evaporativa puede ser un desencadenante de EOS [261].

#### *4.10. Rendimiento óptico de la película lagrimal*

Los estudios de aberrometría de frente de onda revelan que, en los ojos sanos, la calidad óptica de la película lagrimal disminuye uniformemente durante el intervalo de parpadeo. El periodo durante el cual se produce esto es más breve en la EOS, donde el mínimo de aberración precede inmediatamente a la ruptura de la película lagrimal [266].

#### *4.11. Osmolaridad de la lágrima*

##### *4.11.1. Introducción*

La osmolaridad de la película lagrimal es un factor esencial en la patología tanto de la OSDA como de la OSE. La hiperosmolaridad de la lágrima resultante del descenso del flujo lagrimal o de la ruptura de la película lagrimal contribuye a dañar la superficie ocular tanto directa como indirectamente a través de una cascada de acontecimientos inflamatorios. Este entorno inflamatorio hiperosmolar favorece la apoptosis de las células caliciformes y epiteliales corneales y conjuntivales, lo que contribuye aún más a la inestabilidad de la película lagrimal. La inflamación que producen la inestabilidad y la hiperosmolaridad de la película lagrimal contribuyen también a una inflamación crónica neurogénica y a agravar la enfermedad [267,268].

En sujetos con ojos normales y en condiciones estándar, la osmolaridad de la lágrima medida en muestras de meniscos inferiores se sitúa dentro de unos límites estrechos y se mantiene considerablemente estable en los ojos sanos [269]. La evaporación durante el intervalo de parpadeo provoca un adelgazamiento medible de la película lagrimal y se prevé un incremento subsiguiente en la osmolaridad de la película lagrimal [177]. Tomlinson describió un valor de  $302 \pm 9,7$  mOsm/l según datos de varios estudios [270] y, lo que es importante, la variación entre el

ojo derecho y el izquierdo es reducida ( $6,9 \pm 5,9$  mOsm/l) [271]. El estrecho margen de valores existente en los individuos refleja la influencia de mecanismos homeostáticos, siendo el intervalo de parpadeo el principal modificador de la evaporación, lo que probablemente determine el punto de ajuste de la osmolaridad de la lágrima entre los dos ojos [79].

Los modelos matemáticos indican que existe un pequeño diferencial osmolar entre las lágrimas y los meniscos, de manera que, en situación de equilibrio, la osmolaridad de la película lagrimal es mayor que la de los meniscos [176]. Esto puede guardar relación con la proporción del grosor de la película lagrimal con respecto a su superficie en comparación con la de los meniscos, y con la mezcla y flujo de lágrima en los meniscos en la fase inicial del intervalo entre parpadeos [272]. Las consideraciones de los modelos también indican que en la EOS es mayor este diferencial. Así, una muestra de lágrima obtenida del menisco puede subestimar la de la lágrima situada sobre la superficie del ojo y, por tanto, la de los tejidos subyacentes [176].

Aunque los mayores valores de osmolaridad del menisco lagrimal medidos en la EOS son inferiores a 500 mOsm/l, es probable que los niveles alcanzados en la superficie ocular sean mucho más altos que este, particularmente en el punto de ruptura de la película lagrimal. Begley y sus colaboradores han estudiado la relación entre la ruptura de la película lagrimal y la EOS, y han propuesto que las fluctuaciones locales del espesor de la película lagrimal inducirán "puntos críticos" de hiperosmolaridad con concentraciones significativamente superiores a las del valor lagrimal medio [273-275]. Liu et al. [276] han comparado el carácter y la intensidad de los síntomas asociados a la ruptura de la película lagrimal con los inducidos por las soluciones hiperosmolares instiladas. Estos estudios apuntaban a un umbral de 450 mOsm/l para la inducción de síntomas, necesiéndose un valor de 800-900 mOsm/l para imitar los síntomas provocados por la ruptura de la película lagrimal, es decir, muy superior al detectado en el menisco de los pacientes con EOS. Modelos matemáticos recientes también pronostican picos importantes en la osmolaridad dentro de las regiones de ruptura de la lágrima [277-279].

El espesor de la película lagrimal se ha estudiado utilizando la autodesactivación de la fluoresceína (FL), y se ha observado a concentraciones elevadas una reducción de la eficiencia fluorescente al aumentar la concentración [280]. Una coincidencia cercana entre las imágenes de FL y un modelo matemático que incorporaba la evaporación y la ósmosis ha pronosticado la osmolaridad de la película lagrimal que adelgazaba uniformemente hasta valores tan altos como 3000 mOsm. Los valores máximos de osmolaridad oscilaban en función de la tasa de evaporación aplicada en el modelo. El modelo matemático simuló la osmolaridad dentro y alrededor de las zonas de ruptura de la lágrima, lo que arrojó un valor máximo de osmolaridad de aproximadamente 1900 mOsm, cercano a los resultados de los modelos de Peng et al. [279] (Fig. 4). Estos picos locales de hiperosmolaridad dentro de las zonas de ruptura de la lágrima se consideran una fuente importante de estrés reiterado sobre la superficie ocular.

##### *4.11.2. La osmolaridad de la lágrima en el ojo seco*

Los valores umbral de osmolaridad de la lágrima que permiten

distinguir a un ojo sano de otro con EOS oscilan en la bibliografía entre 308 mOsm/l y 316 mOsm/l [269,270]. Uno de los motivos apuntados para la variabilidad en los valores de osmolaridad de la lágrima es la inestabilidad de la película lagrimal, una característica de la enfermedad. Los ojos normales y los secos en grado leve/moderado y grave muestran unos valores medios de osmolaridad lagrimal de aproximadamente  $302 \pm 8$  mOsm/l,  $315 \pm 10$  mOsm/l y  $336 \pm 022$  mOsm/l, respectivamente [281]. Actualmente se propone 308 mOsm/l como umbral sensible para discriminar entre los ojos normales y los que presentan estadios iniciales de EOS. Por el contrario, el umbral de 316 mOsm/l discriminaría mejor entre la EOS leve y la moderada/grave. Además del nivel absoluto de osmolaridad lagrimal, la variabilidad a lo largo del tiempo y, particularmente, la variabilidad entre ambos ojos, puede ser un indicador diagnóstico y parece incrementarse a la par que la gravedad de la EOS [269,282].

#### 4.11.3. Factores que influyen en la osmolaridad lagrimal

La osmolaridad lagrimal se ve influida por los siguientes factores intrínsecos y extrínsecos: a) La hidratación corporal; b) Las características de la capa lipídica de la película lagrimal (CLPL); c) El ancho de apertura palpebral; d) El intervalo de parpadeo; e) La estabilidad de la película lagrimal; y f) Las condiciones ambientales.

#### 4.11.4. La hidratación corporal

Las lágrimas al despertar son ligeramente hipotónicas, y su tonicidad va aumentando a lo largo del día debido a la evaporación de la película lagrimal. Existe una relación positiva entre la hidratación de todo el organismo, medida por la osmolaridad plasmática, y la osmolaridad lagrimal; ambas aparecen elevadas en los pacientes con EOS. Asimismo, la osmolaridad lagrimal sigue a la plasmática en los sujetos con deshidratación sistémica impuesta [283-285]. Por consiguiente, se ha propuesto la medición de la osmolaridad lagrimal como un posible indicador sustitutivo de la osmolaridad plasmática, con un uso potencial en la detección rápida de deshidratación en ancianos o en medicina deportiva [283].

#### 4.11.5. La capa lipídica de la película lagrimal

La tasa de pérdida de agua del ojo se ve influida por la calidad y el espesor de la CLPL. La expresión de meibo en los ojos normales da lugar a un engrosamiento de la capa lipídica de la película lagrimal [286] y a una reducción de la evaporación tanto en

individuos sanos como en pacientes con EOS [287]. Cuando la calidad o la integridad de la CLPL son deficientes según la interferom

etría, puede aumentar la pérdida evaporativa y elevarse la osmolaridad lagrimal [175]. Puede pronosticarse un resultado similar cuando se retarda la dispersión de la CLPL por una deficiencia acusada de lágrima acuosa [194].

#### 4.11.6. Ancho de apertura palpebral

Como cabía esperar, la pérdida evaporativa del ojo se ve influida por la zona de la película lagrimal. Tsubota y Nakamori han examinado el efecto de la posición de la mirada sobre la tasa de evaporación (a una humedad del 40 % y una frecuencia de parpadeo de 30 por minuto), y han observado que la pérdida evaporativa es 3,4 y 2,5 veces mayor al mirar hacia arriba y de frente que al mirar hacia abajo, no solo por ojo, sino también por zona unitaria de la superficie ocular [288], lo que tal vez sugiera que, a medida que aumenta la zona que hay que cubrir, adelgaza la CLPL.

#### 4.11.7. Intervalo de parpadeo

La película lagrimal se renueva con el parpadeo [258], cuya frecuencia se adapta a las circunstancias ambientales y sociales y a la conducta personal. El intervalo de parpadeo y, por tanto, la frecuencia de parpadeo, es un determinante de la osmolaridad lagrimal, y es previsible que la prolongación del intervalo (una frecuencia de parpadeo más lenta) la eleve. La conducta de parpadeo puede verse limitada al realizar determinadas tareas visuales de maneras que influyan en la estabilidad de la lágrima y la pérdida evaporativa. Se ha documentado un descenso de la frecuencia de parpadeo durante las tareas visuales cotidianas, como trabajar en un videoterminal, leer mirando hacia abajo [289], manejar videojuegos con monitor y con consolas portátiles y realizar intervenciones quirúrgicas [290,291]. En estas situaciones, tanto la posición de la mirada como la dificultad de la tarea visual son determinantes de la frecuencia de parpadeo.

El efecto del descenso de la frecuencia de parpadeo con el estrés por evaporación al realizar tareas mirando hacia abajo resulta difícil de pronosticar según unos principios básicos. Tanto la frecuencia de parpadeo como la zona de apertura palpebral disminuyen; la primera tiende a aumentar y la segunda a reducir la evaporación lagrimal. Asimismo, al mirar ordenadores con los ojos en posición primaria, la cabeza puede inclinarse hacia atrás, lo que estrecha la apertura palpebral.

#### 4.11.8. Ruptura de la película lagrimal

La importancia de una película lagrimal estable para formar la imagen en la retina es bien conocida [292], y se han adoptado numerosos planteamientos para estudiar su influencia en el funcionamiento visual. La ruptura de la película lagrimal dentro del intervalo de parpadeo es una causa de degradación visual, y su carácter y evolución temporal se han investigado detenidamente en los usuarios de lentes de contacto [293]. El efecto de la ruptura de la película lagrimal precorneal sobre la visión se debe a las variaciones en el espesor de la película, a la ruptura de esta última y, en la EOS, a las irregularidades epiteliales expuestas en el punto de ruptura y a la presencia de opacidades epiteliales que dispersan la luz.

Aunque la agudeza visual es la medida clínica estándar de la funcionalidad visual, no indica plenamente el rendimiento visual, y se utilizan otras medidas más amplias de la funcionalidad visual, como la sensibilidad al contraste [292], la discapacidad por

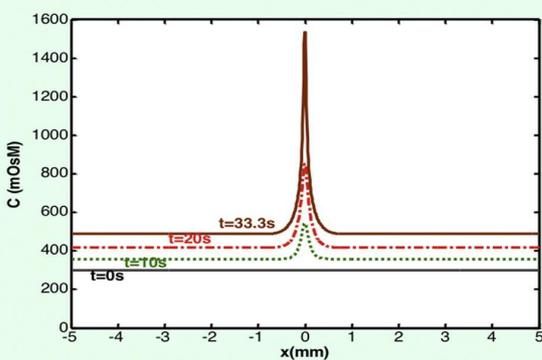


Fig. 4. Evolución pronosticada de un pico de hiperosmolaridad durante un intervalo de parpadeo prolongado según las consideraciones de los modelos. La osmolaridad de la superficie aumenta de 300 mOsm a 545 y a 850 después de 10 y de 20 s, respectivamente, y se dispara hasta 1534 mOsm al cabo de un intervalo entre parpadeos de 33 s, lo que corresponde a la ruptura de la película lagrimal. (Extraído de Peng, C. C., et al. (2014). "Evaporation-driven instability of the precorneal tear film." *Advances in colloid and interface science* 206: 250-264. - con permiso) [279].

deslumbramiento [294] y el índice de dispersión [295], todo lo cual se ha visto que aparece alterado en la EOS [296]. Asimismo, se ha desarrollado una medida funcional de la agudeza visual [297,298].

El tiempo de ruptura de la película lagrimal (TBUT) es la medida más utilizada para la estabilidad de la película lagrimal y adquiere importancia patológica cuando se encuentra por debajo del intervalo de parpadeo. En la mayoría de los individuos sanos, la película lagrimal es extremadamente estable y los valores descritos para el TBUT se hallan muy por encima del intervalo de parpadeo normal [299]. Sin embargo, en algunos individuos sanos se produce ruptura de la lágrima en el intervalo de parpadeo.

La relación entre el intervalo de parpadeo y el tiempo de ruptura se puede plasmar mediante el Índice de Protección Ocular (IPO), el tiempo de ruptura dividido por el intervalo de parpadeo [300]. Un IPO  $\geq 1$  indica que el tiempo de ruptura supera al intervalo de parpadeo y, por tanto, que el ojo está protegido de la desecación a lo largo del ciclo de parpadeo. Un IPO  $< 1$  indica que se está produciendo ruptura durante el intervalo de parpadeo y que el ojo está expuesto a una desecación perjudicial. Al principio de la EOS, el IPO es inicialmente  $> 1$  y se va a aproximando a 1 a medida que aumenta la gravedad de la enfermedad, independientemente de cuál sea su causa. Posteriormente, al ir avanzando la enfermedad y descender el IPO por debajo de 1, la hiperosmolaridad se amplifica localmente en el epitelio subyacente a la ruptura por el aumento local de la evaporación. En un intervalo de parpadeo determinado, cuanto más bajo sea el IPO, mayor será la imposición de la hiperosmolaridad evaporativa sobre la superficie ocular. En las regiones situadas fuera de la ruptura, la osmolaridad también aumenta por difusión y mezcla de la lágrima, pero de una manera más modesta.

Es evidente que la medición de la osmolaridad lagrimal en muestras de menisco lagrimal subestima el nivel de estrés hiperosmolar ejercido sobre la superficie ocular en un ojo seco determinado, y el Subcomité ha señalado la necesidad de desarrollar técnicas para la medición de la osmolaridad a escala tisular. Se han descrito algunos éxitos en ratones, donde se han medido los niveles de cationes de la superficie mediante imágenes de proporción de fluorescencia [301] y se han hecho intentos en el entorno clínico midiendo la conductividad de la lágrima [302] y de los tejidos [303], pero en este momento no existe ningún instrumento clínico disponible.

La inestabilidad local de la lágrima, iniciada por la pérdida de humectabilidad de la superficie ocular, como sucede en la xeroftalmia y con el uso crónico de conservantes tópicos, puede ser un punto de partida independiente para la hiperosmolaridad de la lágrima y la EOS, actuando a través del mecanismo descrito anteriormente. La EOS resultante se ha calificado más arriba como una forma "extrínseca" de OSE, pero un término más adecuado sería OSE relacionada con la superficie ocular.

#### 4.11.9. Efecto del entorno ambiental

Ciertas condiciones ambientales incrementan la pérdida evaporativa y constituyen factores de riesgo para la EOS. La evaporación aumenta en condiciones de baja humedad y flujo de aire elevado sobre la superficie del ojo [261,304,305]. Estas condiciones se pueden combinar y también se pueden dar al aire libre, en la naturaleza. El efecto del entorno sobre la evaporación es

la base para proporcionar gafas protectoras o que conservan la humedad para la prevención o el tratamiento de los estados de EOS. Se ha observado que la exposición a ambientes con una baja humedad durante tan solo 90 minutos incrementa la frecuencia de parpadeo, las molestias oculares y la presencia de citocinas y de metaloproteinasas de la matriz (MMP) en la lágrima [264,306].

#### 4.12. Disrupción de la barrera epitelial corneal

##### 4.12.1. Las metaloproteinasas de la matriz y EMMPRIN

La disrupción de la barrera epitelial en la superficie ocular es un rasgo característico de la EOS. La exposición del epitelio corneal a una mayor osmolaridad promueve la inflamación, la diferenciación anormal, la muerte celular programada (p. ej., la apoptosis) y la descamación acelerada [307], con una activación precoz de las vías de señalización de estrés de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) y del factor nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) [308,309]. Estas vías inician una cascada de acontecimientos, lo que incluye la activación transcripcional de genes que codifican metaloproteinasas de la matriz inflamatorias (particularmente MMP-9) y factores proapoptóticos [310-312].

Las metaloproteinasas de la matriz (MMP) son enzimas proteolíticas involucradas en la cicatrización e inflamación de las heridas, y desempeñan un papel esencial en la patogenia de la EOS al causar una disrupción en las uniones herméticas epiteliales intercelulares, lo que conduce a una descomposición de la barrera epitelial. La expresión y producción de MMP-1, -3, -9 y -13 por parte de las células epiteliales corneales humanas guarda una correlación positiva con el aumento de la osmolaridad [310-312] y actúan, al menos en parte, a través de la vía de la cinasa c-Jun N-terminal (JNK) [308]. Esta actividad queda inhibida por la doxiciclina [313]. Entre estas proteasas, se considera que MMP-9 posee una importancia central en la respuesta al estrés hiperosmolar [311,314]. La ocludina, un componente de la unión hermética, es un sustrato conocido de esta proteasa, y en un modelo murino de EOS el aumento de los niveles de MMP-9 en la lágrima se asoció a una pérdida de funcionalidad de la barrera epitelial y de la regularidad epitelial de la superficie [314,315]. También se observó aumento de los niveles de MMP-9 en el líquido lagrimal de pacientes con EOS, y la concentración de MMP-9 en la lágrima estaba correlacionada con la gravedad de la EOS. Por tanto, se ha propuesto su cuantificación como marcador biológico de actividad de la enfermedad [316-318]. Cabe señalar que los ratones knockout MMP-9 expuestos a estrés desecante son más resistentes a las alteraciones de la barrera epitelial corneal que los animales normales [315].

La molécula integral de membrana EMMPRIN (inductor de las metaloproteinasas de matriz extracelular; también denominada CD\*147) induce la expresión de MMP que participa en la patogenia de la EOS a través de una escisión de la ocludina mediada por MMP [314]. Esta molécula también está implicada en la patogenia de las úlceras corneales y en la fusión y remodelación estromales [314,319]. La expresión de EMMPRIN aumenta en la superficie ocular de los pacientes con EOS y está correlacionada con los niveles de MMP-9 en la lágrima y en los cultivos de células epiteliales corneales [314]. El incremento de la osmolaridad o la adición de EMMPRIN recombinante a un medio acondicionado de células epiteliales corneales fue responsable del aumento de la producción tanto de EMMPRIN como de MMP-9 y dio lugar a la

disrupción de las uniones epiteliales por escisión de la ocludina. Por el contrario, la inhibición selectiva de EMMPRIN mediante ARN interferente pequeño (ARNip) en este sistema conduce a la inhibición tanto de la inducción de MMP-9 como de la disrupción de la barrera epitelial. Asimismo, la existencia de una relación inversa entre la distribución de la ocludina y de EMMPRIN en función de la diferenciación y estratificación de las células epiteliales, tanto en cultivos como en el epitelio corneal estratificado *in vivo*, apunta hacia una función fisiológica de esta molécula en la homeostasis de la barrera de células epiteliales. Curiosamente, se ha observado que las lágrimas artificiales sin conservantes reducen la expresión de EMMPRIN en la superficie celular de los pacientes con EOS, y la adición de ciclosporina a un medio acondicionado de células epiteliales corneales inhibió selectivamente la expresión en la superficie celular de EMMPRIN en un modelo *in vitro* de toxicidad de conservantes para la superficie ocular [314,320].

Se necesita galectina-3 para mantener la funcionalidad de la barrera del glucocáliz epitelial [321]. Sus niveles se hallan elevados en la lágrima de los pacientes con EOS, asociados a niveles incrementados de MMP-9 [155]. En un sistema de células epiteliales corneales *in vitro*, se considera que el desprendimiento célula-célula y la redistribución de la ocludina inducida por la galectina-3 exógena implica la inducción de MMP-9, un proceso dependiente de la agrupación e interacción de la galectina-3 con EMMPRIN sobre la superficie celular [321].

#### 4.13. Acontecimientos friccionales en la superficie del ojo

La fricción entre los párpados y el globo al moverse el uno con respecto al otro durante el parpadeo y los movimientos oculares se consideran causantes de los síntomas de la EOS, y sus orígenes han sido estudiados por Pult [322]. Solo se producirán síntomas friccionales en los momentos en que se produzcan dichos movimientos relativos entre los párpados y el globo.

Cuando dos superficies yuxtapuestas se hallan en movimiento relativo, el grado de fricción entre ellas dependerá del carácter de las superficies, de la velocidad del movimiento, de la carga aplicada y de la presencia de lubricación. Cuando las superficies se encuentran separadas por una capa de líquido, se dice que la lubricación es hidrodinámica, mientras que si están en contacto directo se denomina *lubricación límite* [101,323-325]. También existe un estado mixto intermedio [326]. Una lubricación adecuada puede disminuir el grado de deterioro o de desgaste que generan las fuerzas de fricción.

##### 4.13.1. Lubricación límite

La *lubricación límite* suele darse cuando el movimiento relativo entre las superficies yuxtapuestas es lento, lo que, en la superficie ocular, es durante el intervalo de parpadeo cuando los ojos están fijos o se dirigen hacia objetos que se mueven lentamente. Esto tal vez se produzca también en los puntos de inicio, final y retorno del ciclo de parpadeo [325]. En este momento, los glucocáliz epiteliales yuxtapuestos del tarso y del globo están en contacto, con la intervención de una cantidad variable de fase mucoacuosa. En estas circunstancias, los exodomios de mucina entrelazados del glucocáliz sano actúan como unos cepillos de polímero hidrófilo que reducen enormemente el coeficiente de fricción entre las

superficies yuxtapuestas del párpado y el globo y minimizan el daño friccional [327,328].

##### 4.13.1.1. Lubricina

La lubricina o proteoglicano 4 es una glucoproteína anfifílica que se expresa en las células sinoviales y en los condrocitos de las articulaciones, así como en las vísceras grandes, los músculos, los tendones, los huesos, el ojo y el cerebro [82]. En las articulaciones, en colaboración con el ácido hialurónico, actúa como un lubricante límite eficiente, ya que reduce la fricción entre las superficies articulares yuxtapuestas [82,329-331]. En otros tejidos puede ejercer otras funciones fisiológicas que intervienen en la proliferación y acoplamiento celular y en la unión a la matriz.

En el ojo, la lubricina se expresa en las células de la malla trabecular y en el epitelio corneal y conjuntival. También se encuentra ARN mensajero de lubricina en las glándulas lagrimales y en las de Meibomio [82,330]. Ciertos estudios de laboratorio indican que la lubricina puede funcionar como un lubricante límite entre la superficie yuxtapuesta de la córnea y la región limpiaparabrisas del párpado [82]. La ausencia de lubricina en los ratones knockout PRG4 se asocia a un incremento significativo de la tinción de fluoresceína corneal. Se ha sintetizado con éxito lubricina recombinante [332] y se ha probado recientemente en un ensayo clínico para el tratamiento de la EOS [333].

##### 4.13.2. Lubricación hidrodinámica

La *lubricación hidrodinámica* se aplica a aquellas condiciones de velocidad relativamente alta en las que una capa de líquido separa las superficies yuxtapuestas. En el tarso y el globo, esto se produce durante el parpadeo y los movimientos oculares rápidos. En la fase descendente del parpadeo, el párpado superior se mueve sobre todo en sentido vertical, pero también ligeramente nasal a lo largo del globo expuesto con una velocidad media de 17-28 cm s<sup>-1</sup> y una velocidad máxima de unos 40 cm s<sup>-1</sup> [322,334]. El párpado inferior se mueve nasalmente unos 4,5 ± 0,9 mm y ligeramente hacia arriba. El ancho de la abertura palpebral también se reduce [322]. Durante los movimientos rápidos, estos se realizan entre el tarso y las superficies no expuestas del globo. En la mirada vertical existe un movimiento relativo más limitado entre el párpado superior y el globo.

La relación entre fricción y velocidad, carga y viscosidad, se describe mediante la curva de Stribeck [200,335,336]. Esta relación empírica se caracterizó originalmente para los cojinetes lisos de acero que utilizaban lubricación de aceite, con el coeficiente de fricción en el eje de las ordenadas y el número de Hersey (viscosidad\*velocidad de deslizamiento/presión normal) en el eje de las abscisas. Muchas superficies biológicas son materiales suaves, complejos y con una hidratación heterogénea (como la córnea y el tejido del párpado), y por tanto tal vez su comportamiento no sea como el clásico de Stribeck [337], aunque la curva siga proporcionando un marco de debate e interpretación.

De acuerdo con la curva de Stribeck, si el volumen de lágrima es suficiente, la fricción durante el parpadeo dependerá de la velocidad del movimiento relativo de las superficies yuxtapuestas y de la viscosidad de la lágrima. Tenemos que  $S = (v \cdot \eta) / t$  donde  $S$  = fricción de cizallamiento,  $v$  es la velocidad del párpado superior durante el parpadeo,  $\eta$  es la viscosidad de la lágrima y  $t$  es el espesor de la capa de lágrima entre las superficies yuxtapuestas.

La ecuación anterior indica que, para una viscosidad determinada de la lágrima, cuanto más espesa sea la película lagrimal, menor será la fricción. En un fluido newtoniano cuya viscosidad sea independiente de la velocidad de cizallamiento,

la fricción hidrodinámica aumenta a la par que la viscosidad, y esto puede ser relevante para los acontecimientos de la EOS (véase a continuación), pero las lágrimas normales se comportan como un líquido no newtoniano [338-340] cuya viscosidad disminuye al aumentar la velocidad de cizallamiento (es decir, que es pseudoplástica), por lo que esta consideración no se aplica. Por tanto, según esta relación, reconociendo que la curva de Stribeck se aplica clásicamente a materiales rígidos no porosos, con una fricción durante el parpadeo/los movimientos rápidos que depende de la velocidad del movimiento relativo y de la viscosidad de la lágrima, cuando el volumen de lágrima es suficiente se puede considerar que el coeficiente de fricción entre el párpado y el globo es bajo. Se ha propuesto que existe una transición rápida desde la lubricación cepillo-cepillo o límite hacia la lubricación hidrodinámica al aumentar la velocidad durante el parpadeo [322]. El perfil del borde palpebral también puede ser importante en la transición desde una lubricación límite a una hidrodinámica [322].

La fricción aumenta considerablemente en los estados de EOS debido a un fallo de lubricación [341], con pérdida de gel de mucina y de glucocáliz o, en la OSDA, de volumen de líquido. Esto puede provocar daños en ese lugar específico, como en la epitelopatía en limpiaparabrisas del párpado (ELP) [342], los pliegues conjuntivales paralelos al párpado (LIPCOF) [343] y la queratoconjuntivitis del limbo superior (QLS).

#### 4.13.3. Fuerzas friccionales en la región limpiaparabrisas del párpado

La región limpiaparabrisas del párpado se describió originalmente como la porción del párpado superior que entra en contacto íntimo con el globo y lo barre durante el parpadeo [342,344]. Esta función había sido concebida anteriormente por Parsons [345] y por Ehlers [323], basándose en el reconocimiento de un epitelio "escamoso estratificado" en este lugar. Ahora se considera una característica tanto del párpado superior como del inferior [346].

El limpiaparabrisas del párpado superior consta de una franja elevada de epitelio conjuntival marginal de 100 µm de espesor inicial que oscila en anchura entre 0,3 y 1,5 mm y se extiende a todo lo largo del borde palpebral al nivel del músculo de Riolano. Según Knop, se compone de un epitelio cuboidal estratificado [40] que se aplica estrechamente sobre el globo durante el parpadeo [326,347] y que probablemente sea la región de contacto más estrecho entre el párpado superior y, presumiblemente, el inferior y el globo. En el párpado superior, se cree que la mucosa tarsal situada proximalmente a esta zona, separada del globo por una capa mucoacuosa de espesor desconocido (dentro del "espacio de Kessing") [36,97] se aplica menos estrechamente. Se piensa que la presencia tanto de células caliciformes como de criptas de estas células en el epitelio limpiaparabrisas del párpado [40,101] proporciona un sistema de lubricación mucinosa local en este punto de contacto primario importante durante el parpadeo y, en menor medida, durante los movimientos oculares, donde las fuerzas aplicadas son menores.

#### 4.13.4. Las consecuencias de las fuerzas de cizallamiento en la superficie

#### ocular

Según un cálculo conservador, teniendo en cuenta una frecuencia de parpadeo de 12 veces por minuto durante una jornada de 16 horas, un individuo parpadearía 11 000 veces en el transcurso del día y, suponiendo una apertura palpebral de 10 mm de altura, el limpiaparabrisas del párpado habría recorrido una distancia de al menos 100 m sobre la superficie de la córnea [101]. A pesar de la presencia de un sistema lubricante de alta calidad, esto supone una fuente de fuerza de cizallamiento sobre la superficie ocular. Se cree que desempeña un papel en la descamación epitelial, en la tinción epitelial puntiforme que se encuentra en la superficie ocular en el ojo normal y en la tinción epitelial puntiforme realizada de la EOS. Asimismo, como se ha señalado, contribuye a otras características clínicas de la EOS, como la epitelopatía en limpiaparabrisas del párpado, los LIPCOF y la QLS, cualquiera de las cuales se puede producir, en menor grado, en ausencia de EOS.

#### 4.14. Descamación epitelial

Se puede proponer la situación siguiente, en referencia a la córnea, para el desprendimiento de células epiteliales. Se considera que el proceso es similar en la conjuntiva [348]. Las células epiteliales surgen de la división de células madre en el limbo corneal y aumentan en número mediante la división de las *células amplificadoras transitorias* en la periferia [349]. Las células recién formadas experimentan una diferenciación terminal al migrar de forma centrípeta y hacia la superficie y, tras un periodo de residencia, se someten a un proceso que conduce a su desprendimiento, lo cual puede ir precedido por una apoptosis [350]. La descamación epitelial implica el desacoplamiento de células de la capa 1 para separarse de las células vecinas, con lo que se pierden las uniones, incluidas las herméticas y las adherentes, y se disuelve el glucocáliz apical. En algún punto, después de haber perdido la adherencia con las células circundantes, la célula destinada a desprenderse se ve fácilmente desplazada por fuerzas friccionales. Su lugar se ocupa con una célula más joven, ya equipada con un glucocáliz en maduración, que se integra rápidamente con las células vecinas mediante la formación de una unión hermética, con lo que se restaura la integridad funcional de la superficie. Es este proceso el que explica más probablemente la aparición infrecuente de tinción epitelial puntiforme en el ojo normal.

##### 4.14.1. Tinción epitelial puntiforme fisiológica

Recientemente se ha revisado el tema de la tinción epitelial puntiforme [348]. En la córnea y la conjuntiva normales es habitual encontrar un pequeño grado de tinción epitelial puntiforme después de instilar tinciones como fluoresceína, verde de lisamina y rosa de Bengala, y puede considerarse un fenómeno fisiológico. Según los datos de la literatura especializada, se produce con una frecuencia del 4-78 % [351] dependiendo de los métodos de evaluación utilizados, particularmente del volumen y concentración del colorante instilado y del periodo de observación. El número de puntos teñidos aumenta con el tiempo. La tinción epitelial puntiforme de la córnea y la conjuntiva con un patrón interpalpebral horizontal característico es un rasgo diagnóstico de EOS.

En sujetos normales, una proporción de córneas muestra un nivel bajo de tinción puntiforme inmediatamente después de la instilación de fluoresceína [351-356]. Se ha descrito un grado “clínicamente significativo” de tinción con fluoresceína en alrededor del 12 % de las personas que no usan lentes de contacto [357-359], pero esta cifra asciende si pasamos por alto la “significación clínica” –p. ej., del 37 % al 58 % en el estudio de Korb– [353]. De modo similar, en un estudio con sujetos normales (mediana de 22 años; intervalo de 18-50 años) después de instilar fluoresceína con un dispositivo Fluoret®, el 79 % de los sujetos mostraron algún grado de tinción corneal. Existe menos información sobre la conjuntiva.

Norn ha descrito la frecuencia de la tinción epitelial puntiforme en las córneas normales examinada al cabo de 1-2 minutos tras la instilación de 10 µl de fluoresceína al 0,125 %. Se produjo tinción puntiforme en el 4 % de los sujetos menores de 40 años de edad, cifra que se elevaba hasta el 20 % a partir de los 50 años, tras lo cual se estabilizaba la frecuencia. La frecuencia media del grupo en su conjunto (n = 411 córneas) fue del 17 % [360]. Igualmente, el número de puntos por córnea se incrementaba con la edad, aunque en la mayoría de los sujetos el número de puntos por córnea seguía siendo reducido: solo un 1 % de los sujetos mostró más de 100 puntos por córnea, frente a un 35 % con más de 1000 puntos de tinción entre los pacientes con EOS (Tabla 4).

En general, la prevalencia de la tinción y de la frecuencia de puntos aumenta con la concentración del colorante [360], con el tiempo transcurrido tras la instilación de las gotas (Korb y Korb 1970) y con la edad del sujeto [360,361]. Caffery y Josephson han mostrado que el patrón regional de tinción corneal era individual de cada sujeto, similar en el ojo contrario y, lo que es importante, oscilaba de un día a otro [356], aspecto confirmado por Schwallie et al. [362]. Su conclusión es que estas variaciones pueden guardar relación con el recambio natural del epitelio.

La aparición fisiológica de tinción corneal y conjuntival indica que, en los ensayos clínicos, por ejemplo, de tratamientos contra la EOS, la ausencia total de tinción corneal no constituye un criterio razonable para definir la recuperación plena de la salud corneal. Asimismo, la tinción dependiente del tiempo del epitelio corneal normal y la dependencia de las concentraciones instiladas pone de relieve la necesidad de estandarizar las rutinas de tinción para evaluar los daños en la superficie ocular.

#### 4.14.2. Mecanismo de la tinción epitelial puntiforme en los ojos normales y en los secos

El mecanismo que determina la tinción epitelial puntiforme lleva siendo objeto de debate desde hace más de medio siglo, y se ha abordado en varias revisiones recientes [79]. No parece que existan pruebas directas de que los puntos de tinción representen acumulaciones de colorante localizadas en los espacios que han dejado las células desprendidas, por lo que el término de erosión epitelial puntiforme no resulta adecuado [363-365]. Por el contrario, parece más bien que cada punto de tinción representa la captación de colorante en una célula epitelial de la superficie.

#### 4.14.3. Tinción en el ojo normal

Todos los días se desprenden células epiteliales de la superficie ocular, y cerca del 75 % de las células recogidas son corneales [366]. Las células se desprenden según un patrón diurno, ya que lo hacen más por la mañana y en la última parte del día [367]. Alrededor del

23 % son células fantasma, carentes de núcleo, que se considera se encuentran en un estadio tardío de diferenciación celular [368,369]. Esto encaja con un estudio anterior que mostró la presencia de células epiteliales viables (solo positivas para calceína) y no viables (solo positivas para etidio), así como un tipo de células intermedias que se tiñan tanto con calceína como con etidio [367].

La gran mayoría de las células epiteliales de la capa 1 no captan colorante, mientras que las células epiteliales desprendidas, atrapadas en la hebra de moco forniceal, se tiñen con rosa de Bengala [203], al igual que las células epiteliales corneales inmaduras del limbo humano cultivadas [370,371]. Igualmente, las células epiteliales corneales de conejo cultivadas se tiñen rápidamente con fluoresceína [372,373]. Argüeso et al. zanjaron la cuestión al demostrar que la exclusión del rosa de Bengala de entrar en las células epiteliales de la superficie en el ojo intacto dependía de la presencia de un glucocáliz maduro que expresara las mucinas MUC1 y MUC16, entrecruzadas por galectina-3 [128,134,148]. El glucocáliz maduro forma una barrera frente a la entrada transmembranal de colorante en las células epiteliales de la capa 1, mientras que la entrada en el espacio paracelular se ve restringida por las uniones herméticas intercelulares. Bandamwar et al. [350,374] han presentado pruebas de que las células que se tiñen son las que experimentan apoptosis mientras se preparan para desprenderse. Estas células poseen una capa glucocalicial defectuosa que es permeable a los colorantes de uso clínico. Una vez desprendidas, todas las células epiteliales están revestidas de manera incompleta con glucocáliz, y de ahí que se tiñan rápidamente.

Se ha planteado la hipótesis de que la permeabilidad de una célula que se prepara para desprenderse aumenta a lo largo del tiempo debido a los cambios químicos y estructurales producidos en su glucocáliz, por lo que aquellas células que están a punto de desprenderse captan el colorante casi de inmediato, mientras que las que se hallan en una fase anterior de preparación lo captan más despacio. Se cree que a esto se debe el efecto de la concentración del colorante o del periodo de observación sobre la frecuencia de puntos de tinción fisiológicos.

## 5. Patología de la enfermedad del ojo seco

Estos comentarios introductorios tienen por objeto preparar al lector para comprender los acontecimientos responsables de las numerosas formas de EOS.

### 5.1. Introducción

El informe TFOS DEWS [1] confirmó la hiperosmolaridad de la lágrima, así como su inestabilidad, como los principales promotores de la EOS. Esto permitió establecer dos grandes subtipos: la OSE, donde la hiperosmolaridad lagrimal es consecuencia de una evaporación excesiva de la película lagrimal en presencia de una funcionalidad lagrimal normal, y la OSDA, donde la hiperosmolaridad se debe a una reducción de la secreción lagrimal en presencia de una tasa normal de evaporación lagrimal (Tabla 5). La deficiencia lipídica de la película lagrimal que acompaña a la DGM se cita como una causa típica de OSE, mientras que la secreción lagrimal disminuida causada por daños en las glándulas lagrimales en la EOS relacionada con la edad constituye un ejemplo

típico de OSDA. Se ha reconocido que estos subtipos de EOS pueden coexistir, como sucede en el síndrome de Sjögren, donde con frecuencia hay una deficiencia lagrimal que coexiste con DGM [375,376,1201].

**Tabla 4**

Puntos de tinción micropuntiformes por córnea tras la instilación de fluoresceína.

Puntos por córnea	Porcentaje con fluoresceína al 0,125 %	Porcentaje con fluoresceína al 1,0 %
Cero	83	27
1-4	9	16
5-9	4	2
10-25	3	4
25-99	1/2	0
100-999	1	16
≥1000	0	35

Porcentaje de córneas normales que muestran un número determinado de puntos de tinción micropuntiformes por córnea después de la instilación de 10 ml de fluoresceína al 0,125 % o al 1 % (en combinación con rosa de Bengala al 1 %) (n = 411, incluidos los ojos contrarios). La tinción se examinó más de 1-2 minutos después de la instilación del colorante (extraído de las referencias bibliográficas 348 y 360).

Asimismo, en cualquier forma de conjuntivitis cicatricial, la EOS puede ser secundaria a una deficiencia lagrimal, a una deficiencia de lípidos lagrimales y a la pérdida de humectabilidad de la superficie ocular.

También se pueden concebir otras formas de EOS híbrida en las que la enfermedad orgánica de un tipo se puede combinar con una forma funcional de EOS de otra clase [207]. Por ejemplo, en el OSE grave, la pérdida de sensibilidad corneal puede suprimir el tono compensatorio de secreción lagrimal y conducir a una deficiencia de la capa acuosa funcional secundaria. O bien, en el OSDA, una reducción importante del espesor de la película lagrimal puede impedir la dispersión de la CLPL y dar lugar a un OSE funcional secundario. Además, un hecho importante es que se puede observar que, en cualquier forma de EOS, una vez se ha producido la ruptura de la lágrima dentro del intervalo de parpadeo, se añade un componente evaporativo adicional al ojo seco, independientemente de la causa que lo origine. Consecuencia de ello es que el ojo seco iniciado por deficiencia de lágrima pasa a ser un OSDA + OSE a medida que va evolucionando. De ahí se sigue que, a la hora de comparar la tasa de evaporación lagrimal entre las formas de EOS definidas clásicamente como OSDA y OSE, debe tenerse en cuenta el IPO. Esto también posee implicaciones para el tratamiento y para la selección y análisis de los subgrupos en los ensayos clínicos. Este Subcomité recomienda conservar los términos OSE y OSDA para describir la base *iniciadora* del ojo seco, pero teniendo en cuenta que con la progresión cualquier forma de EOS puede adquirir características evaporativas adicionales.

Hay que considerar que, en cierto sentido, todas las formas de EOS son evaporativas, dado que sin evaporación no puede producirse hiperosmolaridad lagrimal. Por consiguiente, el entorno y la conducta personal contribuyen a la hipermolaridad de la superficie ocular, lo que incluye factores externos como la humedad ambiental, la temperatura y la velocidad del viento, además de factores personales, como la frecuencia de parpadeo y la apertura de los párpados, la posición de la mirada y la influencia de la medicación sistémica sobre la secreción lagrimal. El Subcomité ha debatido sobre el término "ojo seco hiperevaporativo" como una

manera mejor de indicar el papel del aumento de la evaporación en la EOS.

Una contribución importante del informe TFOS DEWS [1] fue la propuesta de que todas las clases de ojo seco, con independencia de cómo se hayan iniciado, entran en una trayectoria común final en la que la hiperosmolaridad lagrimal y una cadena de acontecimientos inflamatorios crea un Círculo Vicioso que perpetúa el estado de EOS [377]. Según este planteamiento, *cualquier etiología de la EOS tendrá uno o más puntos de entrada* en el círculo vicioso. El concepto de círculo vicioso se ilustra en la (Fig. 5) y se desarrolla en el texto siguiente.

### 5.2. El círculo vicioso del ojo seco

En el modelo más sencillo de EOS, con la hiperosmolaridad lagrimal como punto de partida, el proceso patológico se propaga a través de una cadena de acontecimientos que provocan daños en la superficie ocular (Fig. 5). Inicialmente esto da lugar a síntomas y respuestas compensatorias, pero también genera respuestas inflamatorias que en último término desembocan en daños crónicos en la superficie ocular y en la autoperpetuación de la enfermedad [377].

Esto puede resumirse del modo siguiente:

Como ya hemos dicho, la hiperosmolaridad lagrimal estimula una cascada de acontecimientos en las células epiteliales de la superficie ocular en la que participan las vías de señalización de las cinasas MAP y de NFκB [311] y la generación de citocinas inflamatorias (interleucina 1 [IL-1α; IL-1β]; factor de necrosis tumoral α [TNF-α]) y proteasas, como MMP-9 [378]. Esto activa y recluta células inflamatorias hacia la superficie ocular que se convierten en una fuente adicional de mediadores inflamatorios [379]. Estos mediadores, actuando con la propia hiperosmolaridad lagrimal, dan paso a una disminución de la expresión de mucinas en el glucocáliz, a la muerte apoptótica de las células epiteliales de la superficie [380] y a la pérdida de células caliciformes. La hiperosmolaridad induce también la muerte de las células epiteliales corneales a través de procesos no apoptóticos [62]. La pérdida de células caliciformes es una característica de todos los tipos de EOS [381,382], lo que se refleja en la reducción de los niveles lagrimales de MUC5AC [383,384]. La alteración de la expresión de mucinas en el glucocáliz es probablemente uno de los motivos por los que se produce tinción de la superficie ocular en la EOS y, dado que afecta a la humectación de la superficie ocular, conduce a una ruptura precoz de la película lagrimal. Esto amplifica o desencadena hiperosmolaridad en la superficie ocular, con lo que se cierra el círculo vicioso y se establece el mecanismo que perpetúa la enfermedad.

Baudouin et al. han hecho hincapié en que el círculo vicioso ofrece *puntos de entrada* para todas las causas de la EOS [385], y que la hiperosmolaridad lagrimal no tiene por qué ser el punto de partida. Así pues, la cadena de acontecimientos que conduce a la inestabilidad de la película lagrimal se puede iniciar por diversos trastornos distintos, como inflamación de la superficie ocular por una enfermedad ocular alérgica, toxicidad de un conservante tópico y pérdida de células caliciformes conjuntivales o alteración de la expresión de mucina por xeroftalmia.

### 5.3. Acontecimientos compensatorios en el ojo seco

Es inherente a nuestros conocimientos actuales sobre la EOS que la exposición de la superficie ocular a un estrés desecante genera una respuesta lagrimal secretora compensatoria a través de la Unidad Funcional Lagrimal que tiende a provocar un aumento de la osmolaridad lagrimal y a ralentizar la progresión de la enfermedad. Como se resume en el informe del Subcomité de Dolor y Sensación, tanto la hiperosmolaridad lagrimal como el enfriamiento de la superficie pueden poner esto en marcha. Las fibras de la córnea para el frío se ven estimuladas por la hiperosmolaridad y pueden incrementar el tono secretor de la glándula lagrimal y aumentar la frecuencia de parpadeo. El enfriamiento evaporativo del OSE o relacionado con la ruptura precoz de la película lagrimal [279,386] pueden sumarse a este tono sensorial. El hallazgo de un umbral reducido para la estimulación sensorial en ciertos pacientes con EOS [387] podría amplificar estas respuestas. Otros autores han descrito una menor sensibilidad corneal en la EOS [388,389], lo que puede implicar que, a medida que progresa la gravedad de la EOS, la sensación corneal se ve dificultada. De acuerdo con esto, una serie de estudios han comunicado una reducción de la densidad de los haces nerviosos subepiteliales en la EOS [390]. Una secuencia de este tipo podría afectar negativamente a las respuestas compensatorias y contribuir a las discrepancias entre la intensidad de los síntomas y los signos objetivos de EOS. Sin embargo, esta posibilidad, que sería importante para nuestra comprensión de la progresión de la EOS, no se ha abordado en estudios a largo plazo.

#### 5.4. Síntomas

Toda enfermedad sintomática pasa por una fase subclínica en la que las características de la enfermedad no son evidentes y el paciente se muestra asintomático. La EOS no es una excepción. (Véase el informe del Subcomité de Metodología diagnóstica). Pero la carga de la EOS para el paciente guarda relación con los síntomas, y ahora se conocen mejor sus causas. La EOS afecta tanto a la visión como a la comodidad del ojo. En la [Tabla 6](#) se muestran algunas posibles fuentes de síntomas en la EOS.

Existen pruebas en favor de un papel directo de la hiperosmolaridad como uno de los motivos de las molestias oculares en la EOS. Como se ha señalado, la instilación de gotas hiperosmolares causa dolor de una intensidad relacionada con el nivel de hiperosmolaridad, pero a niveles muy superiores a los detectados en las muestras de meniscos lagrimales en pacientes con EOS [276]. Las consideraciones sobre modelos han apuntado a que los niveles de hiperosmolaridad generados en el punto de ruptura de la lágrima son mucho mayores que en el menisco lagrimal [279]. También existen pruebas de que la hiperosmolaridad lagrimal se inicia a medida que adelgaza la película lagrimal, y se amplifica en el momento de la ruptura de la lágrima [391]. Asimismo, se sabe que varios de estos mediadores inflamatorios

#### OJO SECO POR DEFICIENCIA ACUOSA (OSDA)

Ojo seco por síndrome de Sjögren (OSSS)

- enfermedades sistémicas asociadas

- Artritis reumatoide
  - Poliarteritis nudosa
  - Lupus eritematoso sistémico
  - Granulomatosis de Wegener
  - Esclerosis sistémica
  - Cirrosis biliar primaria
  - Enfermedad mixta del tejido conjuntivo
- Ojo seco no por síndrome de Sjögren (OSNS)
- Deficiencia intrínseca de las glándulas lagrimales
  - Ablación de las glándulas lagrimales
  - Alacrimia congénita
  - Síndrome de Allgrove
- Ojo seco OSDA relacionado con la edad
- Infiltración de las glándulas lagrimales inflamatoria o de otros tipos
  - Sarcoidosis
  - Linfoma
  - Infección vírica
  - Lesión por radiación
- Obstrucción de las glándulas lagrimales
- Conjuntivitis cicatricial
  - EICH
  - Síndrome de Stevens-Johnson/necrólisis epidérmica tóxica
  - Penfigoide mucoso
  - Penfigoide cicatricial
  - Penfigo
  - Tracoma
  - Lesión química
- Estados hiposecretorios - insuficiencia de la unidad funcional lagrimal
- Bloqueo aferente del reflejo
  - Anestesia tópica
  - Lesión del trigémino
  - Cirugía refractiva
  - Queratitis neurotrófica
  - Bloqueo secretomotor
  - Lesión parasimpática
  - Inhibición farmacológica
  - Bloqueo combinado aferente y eferente
  - Disautonomía familiar
- Otros trastornos
- Síndrome de Meige
  - Diabetes mellitus
  - Pseudoexfoliación

#### OJO SECO EVAPORATIVO

Enfermedades de las glándulas de Meibomio

Relacionadas con el párpado

Disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM)

- Primaria
  - Seborrea meibomiana
  - DGM obstructiva
  - Cicatricial/no cicatricial
  - Secundaria a una enfermedad local
  - Blefaritis anterior
  - Inflamación de la superficie ocular
  - Uso de lentes de contacto
  - Secundaria a dermatosis sistémicas
  - Rosácea
  - Dermatitis seborreica
  - Dermatitis atópica
  - Ictiosis
  - Psoriasis
  - Secundaria a la exposición a sustancias químicas
  - Ácido 13-cis-retinoico
  - Bisfenoles policlorados
  - Antiandrógenos
- Enfermedades determinadas genéticamente de las glándulas de Meibomio
- Agenesia y distiquiasis meibomianas
  - Displasia ectodérmica anhidrótica
  - Síndrome de ectrodactilia
  - Epidermólisis ampollosa
  - Ictiosis folicular
  - Síndrome de Turner
- Trastornos de la apertura, la congruencia y la dinámica palpebrales
- Relacionados con el parpadeo

Tabla 5

Causas de la enfermedad del ojo seco.

Tabla 5 (continuación)

Enfermedad de Parkinson
Ojo seco evaporativo relacionado con la superficie ocular
Enfermedad del ojo alérgico
Deficiencia de vitamina A
Ojo seco por tiempo de ruptura breve
Enfermedad iatrogénica

cuya presencia se ha demostrado en la lágrima y en la superficie ocular en la EOS, son compuestos algésicos, lo que incluye varios prostanooides, citocinas y neurocininas. (Véase el informe del Subcomité de Dolor y sensación para más información). Se ha propuesto que la pérdida de lubricación entre el globo y los párpados en la EOS es una fuente de síntomas relacionados con la fricción, como la reducción del volumen lagrimal en el OSDA, la pérdida de gel de mucina en las células caliciformes, la degradación de la mucina del glucocáliz [218] y la pérdida del lubricante límite, la lubricina [82]. La queratitis filamentaria constituye una fuente particular de dolor que se atribuye al arrastre de los filamentos sobre las terminaciones nociceptoras de la base del filamento durante el parpadeo. Un proceso similar puede ser el responsable de los síntomas molestos asociados a los LIPCOF [343]. Se cree que el dolor asociado a la epitelopatía en limpiaparabrisas del párpado se debe a una hipersensibilidad sobre la región afectada del limpiaparabrisas del párpado y la región de la queratopatía. En un ojo sano, esta región del borde palpebral posee una sensibilidad mecánica similar a la del centro de la córnea [250].

Así pues, la hiperosmolaridad lagrimal no es más que una de las posibles fuentes de molestias en la EOS, otro motivo por el cual los niveles de osmolaridad lagrimal medidos en los pacientes con EOS y dolor crónico puede que no siempre sean significativamente distintos de la osmolaridad de los pacientes asintomáticos [392].

La hipersensibilidad (reducción del umbral a la estimulación) de los nervios corneales en los pacientes con EOS también puede explicar la aparición de molestias oculares con menores niveles de osmolaridad lagrimal, debido a la exposición de las terminaciones nerviosas corneales con pérdida de la barrera epitelial [267,387,393].

La instilación de gotas hiperosmolares dentro de los intervalos de osmolaridad encontrados en los pacientes con EOS se ha visto que incrementa la sensibilidad de las neuronas nociceptivas del frío e induce signos de EOS en un modelo de rata. En este modelo de rata, estos nociceptores, que normalmente requieren un enfriamiento de más de 2 °C, se activaron con un enfriamiento de menos de 1 °C de la superficie corneal al pretratarlos con líquidos hiperosmolares [394]. Este fenómeno puede explicar las molestias y el dolor que provoca el enfriamiento según los pacientes con EOS. La regulación al alza de los canales de TRPM8 o el control de los canales de potasio activados por voltaje (Kv1.1) tal vez intervengan en este proceso [395]. Ambos canales constituyen sensores de enfriamiento bien establecidos que se pueden regular mediante un estímulo hiperosmolar [396].

### 5.5. Las dianas oculares de la enfermedad del ojo seco

Al margen de cómo se inicie la EOS, sus consecuencias clínicas sobre la superficie ocular son independientes de la etiología. Algunas de ellas pueden ser epitelopatía puntiforme, queratitis filamentaria, queratitis del limbo superior, pérdida de células

caliciformes, modificación del glucocáliz epitelial, LIPCOF, cambios en la línea de Marx y la propia DGM (Tabla 7). Vamos a hablar de ellas a continuación:

#### 5.5.1. La córnea

5.5.1.1. *Epitelopatía puntiforme y tinción en la enfermedad del ojo seco.* Las pruebas indican que las influencias nocivas sobre la superficie ocular en la EOS conducen a un aumento de la muerte de las células epiteliales (p. ej., por apoptosis) y a una elevación de la descamación y recambio epiteliales. Es probable que el incremento de la fricción contribuya a aumentar la descamación. No se han realizado mediciones formales del aumento de la descamación o del recambio en la EOS, lo cual sería muy interesante.

Tabery ha revelado que la tinción epitelial corneal puntiforme en la EOS se puede explicar por la captación del colorante directamente en las células epiteliales individuales y que la fluoresceína se capta en las mismas células que absorben el rosa de Bengala [397,398]. Diversos estudios indican que las células que se tiñen en la córnea y en la conjuntiva poseen un glucocáliz defectuoso, lo que incluye una deficiencia de MUC 16 [399-401] y, también en la queratopatía ampollosa, la exfoliación y la tinción superficiales se asocian a fisuras en la MUC16 [402]. Komuro et al. encontraron, en pacientes con queratoconjuntivitis del limbo superior, que las zonas de la conjuntiva que mostraban tinción positiva con rosa de Bengala carecían de expresión de galectina-3, mientras que en las regiones sanas que mostraron exclusión del rosa de Bengala, la galectina-3 se expresaba normalmente [403].

La tinción de células epiteliales corneales individuales de la capa 1 en los estados de EOS se atribuye pues a la difusión del colorante por el glucocáliz defectuoso de las células apoptóticas antes de desprenderse. La tinción de pequeños cúmulos de células superficiales puede tener una explicación similar, pero otra posibilidad sería que el colorante entrara en el espacio paracelular alrededor de una célula que está a punto de desprenderse a través de una unión hermética defectuosa y se dispersara por las células vecinas a través de sus membranas plasmáticas, es decir, por dispersión transmembranal [79]. La dispersión intercelular del colorante entre las células vecinas a través de las uniones comunicantes es menos probable en el epitelio superficial, ya que están ausentes de la capa 1 en la córnea humana y la conectividad está limitada en la segunda capa [404]. Se ha expresado una idea alternativa [363].

5.5.1.2. *El patrón de tinción en el ojo seco.* La tinción epitelial de la córnea y la conjuntiva expuestas en la EOS posee una distribución interpalpebral horizontal característica con valor diagnóstico (Fig. 6). Hace tiempo que existe interés por el fundamento en que se basa, particularmente en relación con los puntos críticos hiperosmolares generados en el intervalo del parpadeo. McMonnies [405] y otros autores [406] han hecho hincapié en el papel del parpadeo parcial a la hora de prolongar el periodo de exposición de la región inferior del globo al estrés desecante, y han puesto de relieve que el periodo de exposición será un múltiplo del número de parpadeos parciales producidos en la secuencia. El parpadeo parcial es frecuente, tanto en sujetos normales como con ojos secos. Se ha comunicado una cifra de hasta el 22 % en un estudio sobre ojos normales [407], y puede constituir entre el 20 % y más del 50 % de todos los parpadeos [408-410]. Jansen et al. han observado que

en los sujetos que intervienen en tareas que requieren un alto grado de concentración visual aumentan tanto el número de parpadeos incompletos como el intervalo entre parpadeos [290].

También se prevé que la región de adelgazamiento inducido por el menisco (AIM), correspondiente a la posición de la "línea negra" en la película lagrimal teñida con fluoresceína, sea un punto de hiperosmolaridad lagrimal en el intervalo de parpadeo [163,411]. Sin embargo, el riesgo de deterioro hiperosmolar para el epitelio corneal y conjuntival subyacente debido al AIM se minimiza por los movimientos oculares, especialmente en el plano vertical, lo que puede distribuir el efecto sobre una zona más extensa y reducir su potencial nocivo. No obstante, como señala McMonnies, "tal vez no sea este el caso a la hora de leer, ver la televisión o realizar una actividad similar en la que los movimientos oculares ascendentes y descendentes están limitados y la zona de AIM mantiene una localización más estable sobre la superficie ocular. La estabilidad de su localización puede asociarse a un mayor riesgo de epitelopatía relacionada con la hiperosmolaridad" [405]. Este efecto se verá amplificado en aquellas condiciones en las que exista una restricción importante de los movimientos oculares, como en la parálisis supranuclear progresiva [412], la oftalmoplejia externa progresiva [413] y la exoftalmia endocrina [414].

Asimismo, se ha descrito en sujetos normales que, tras breves periodos de mirar hacia arriba o hacia abajo, se marcan franjas de AIM en la córnea que persisten en el intervalo de parpadeo. Estas pueden ir acompañadas de una disrupción secundaria de la película lagrimal subyacente [197]. Estas zonas de adelgazamiento representan regiones de daño hiperosmolar potencial y, por tanto, una fuente de incremento de la tinción.

Las consideraciones anteriores resumen los factores que pueden dirigir el estrés desecante hacia la parte inferior del globo expuesto en cualquier ojo. Estas influencias se amplificarán en aquellas condiciones ambientales que incrementen el estrés desecante, y más aún en los estados de EOS, donde una ruptura precoz de la película lagrimal determinará la localización de los puntos críticos regionales de hiperosmolaridad. Esto parece ofrecer una explicación razonable para el patrón y la distribución de la epitelopatía puntiforme en la EOS.

**5.5.1.3. Queratitis filamentaria.** La queratitis filamentaria describe una afección con filamentos solitarios o agrupados, por lo general no mayores de 2 mm de longitud, que se extienden desde el epitelio corneal hacia la película lagrimal. Rara vez se producen en la conjuntiva. Se asocian a trastornos de la superficie ocular como EOS, QLS, conjuntivitis vírica, erosión corneal recurrente, queratitis neuroparlítica, después de un trasplante corneal, cirugía de cataratas, traumatismos oculares y ptosis. En la ptosis y la QLS, los filamentos suelen situarse debajo del párpado superior; de lo contrario, por ejemplo, en caso de deficiencia grave de la capa acuosa, su ubicación es interpalpebral.

Los filamentos corneales se tiñen especialmente bien con rosa de Bengala y verde de lisamina. Mediante el uso de inmunohistoquímica, Tanioka et al. mostraron que tenían un núcleo epitelial retorcido rodeado de mucinas secretoras (MUC5AC) y asociadas a membrana (MUC16), células inflamatorias y células epiteliales conjuntivales, por lo que concluyeron que los filamentos se formaban con el aumento de la acción friccional durante el parpadeo [415]. El arrastre friccional sobre los filamentos durante el

parpadeo provoca un dolor ocular intenso incoercible y sensación de cuerpo extraño [416]. Aunque los filamentos se pueden extirpar manualmente tras la instilación de un anestésico tópico, no es infrecuente la recurrencia.

**5.5.1.4. Queratoconjuntivitis del limbo superior.** La QLS [417] es una enfermedad inflamatoria crónica bilateral que afecta a la conjuntiva bulbar superior, al limbo superior y a la córnea adyacente. Puede ser una fuente de molestias incapacitantes. Típicamente se trata de una zona de hiperemia o inflamación conjuntival perilimbar grave acompañada de engrosamiento limbar, queratopatía puntiforme, queratitis filamentaria y una reacción papilar en la conjuntiva tarsal superior superpuesta. Pueden existir discrepancias entre el nivel de dolor experimentado y la gravedad de los signos clínicos, y el diagnóstico puede ser erróneo si no se realiza una tinción con verde de lisamina en el estudio clínico de las molestias oculares inexplicadas. En la tinción con fluoresceína es menos perceptible, salvo que se utilice con una combinación de filtros adecuada [74].

Histológicamente, en la QLS se describen metaplasia escamosa, engrosamiento epitelial con descenso de la proporción nucleocitoplásmica y desaparición de células caliciformes [417]. El 25 % de los casos de QLS se asocian a EOS [418], y cerca del 30 % a enfermedades tiroideas [419], por lo que es importante examinar el estado hormonal y de autoanticuerpos. También existe asociación con conjuntivocalasias que afectan a la conjuntiva bulbar superior [420,421].

En la QLS se ha señalado que la inflamación crónica puede guardar relación con el parpadeo y el movimiento ocular [418], y la asociación de la QLS con la conjuntivocalasia bulbar superior resulta muy indicativa de un traumatismo friccional recurrente como desencadenante, particularmente debido a que la cirugía dirigida a estirar la conjuntiva en este punto tiene un enorme éxito [421,422]. De modo similar, en la exoftalmia endocrina, puede considerarse que el aumento de la presión del párpado superior contra el globo es el mecanismo que precipita la QLS en las enfermedades tiroideas con exoftalmia.

#### 5.5.2. Conjuntiva

Aunque suelen aceptarse la pérdida de células caliciformes conjuntivales y el descenso de la concentración de MUC5AC en la lágrima como característicos de todas las formas de EOS, los informes sobre los cambios en las mucinas transmembranales muestran un menor consenso [423]. Esto se debe en parte a diferencias metodológicas, por ejemplo, en el uso de la inmunohistoquímica para detectar proteínas de mucina esenciales por un lado o el patrón de glucosilación mucínica por otro. Resulta difícil determinar qué nivel de alteración de los glucanos es suficiente para romper la barrera de permeabilidad del glucocáliz [154]. En la QLS se ha descrito la pérdida de una glucoproteína mucinoide (probablemente MUC16) de las células epiteliales conjuntivales queratinizadas superficiales [424].

**5.5.2.1. Modificación de las mucinas del glucocáliz epitelial.** Existen pruebas de alteración de la expresión o glucosilación de las mucinas transmembranales en la EOS. En un estudio inmunohistoquímico, la expresión de mucina en la membrana epitelial de la mucosa conjuntival disminuía en pacientes con síndrome de Sjögren [401]. Más recientemente, Shimazaki-De et al.

describieron un descenso de la expresión de ARNm de MUC16 en la conjuntiva de pacientes con EOS [425]. De modo similar, la inmunorreactividad de la superficie a MUC1 parece disminuir en el epitelio con síndrome de Sjögren, lo que indica una disrupción de la diferenciación epitelial normal [426], y Corrales et al. encontraron una expresión significativamente menor de ARNm de MUC1, MUC2, MUC4 y MUC5AC en pacientes con OSDA [427].

Por el contrario, se ha observado que la densidad de células positivas para KL6, un anticuerpo monoclonal contra un epítipo sialilado de MUC1, aumentaba significativamente en los pacientes con EOS con respecto a lo normal [428]. Asimismo, en la EOS por síndrome de Sjögren, aumentaban tanto el ARNm como las proteínas de MUC16 y MUC1 en comparación con sujetos normales [429]. Es preciso averiguar la causa de estos hallazgos contradictorios.

Gipson et al. [430] mostraron un incremento de la expresión de proteínas celulares y de ARNm de MUC1 y MUC16 en muestras de citología de impresión de mujeres posmenopáusicas en comparación con sujetos normales. Por el contrario, Srinivasan et al. [431] detectaron que la expresión de ARNm de MUC16 disminuía significativamente en las mujeres posmenopáusicas con síntomas de moderados a intensos según el OSDI, y que la expresión de ARNm de MUC1 no variaba en comparación con sujetos asintomáticos.

En la EOS se han investigado ciertas alteraciones de la glucosilación de la mucina. Garcher et al. mostraron una disminución de las cadenas sialiladas de mucinas expresadas en muestras de citología de impresión de pacientes con EOS, usuarios de lentes de contacto (LC) y pacientes con glaucoma tratados con bloqueantes  $\beta$  [432]. En general, las glucosiltransferasas son las enzimas responsables del inicio y elongación de las cadenas de glucanos acopladas a la cadena principal de las proteínas. En las mucinas, la adición enzimática de *N*-acetil galactosamina (GalNAc) a los residuos de serina y treonina por las GalNAc-transferasas (GalNAc-T) constituye el paso inicial de la *O*-glucosilación. En el penfigoide cicatricial ocular (PCO), la expresión conjuntival de GalNAc-transferasas se vio incrementada en los pacientes con enfermedad temprana, lo que puede desempeñar un papel en el mantenimiento de la humectabilidad epitelial. Inversamente, como cabía prever, la expresión disminuía considerablemente en el estadio de queratinización conjuntival [433].

5.5.2.2. *Pérdida de células caliciformes.* Ralph [434] ha señalado que la pérdida de células caliciformes conjuntivales es característica de todas las formas de EOS, lo cual se ha confirmado en estudios posteriores, en el síndrome de Sjögren (SS), en la PCO, en las quemaduras por álcalis, en la queratitis por radiación, en la QLS, en el tracoma y después del tratamiento con LASIK [401,428,435-439]. Al hilo de esto, se ha percibido un descenso en la tinción de MUC5AC por inmunofluorescencia en muestras de impresión conjuntival de pacientes con EOS [440], y la expresión de ARNm conjuntival de MUC5AC también disminuía considerablemente en el OSSS [383,441], en el OSNS [427] y en pacientes con inestabilidad de la película lagrimal [425]. También se han descrito reducciones de los niveles proteínicos de mucina MUC5AC en muestras de lágrima humana de pacientes con EOS sin especificar [384], en pacientes con OSSS grave [383] y también en la EOS leve de los usuarios de videoterminals (VDT) [442]. Versura et al., utilizando

la técnica Immunogold, mostraron un descenso de la expresión de ácido siálico, *N*-acetil-glucosamina y *N*-acetil-galactosamina en las células caliciformes de pacientes con EOS [443].

5.5.2.3. *Pliegues conjuntivales paralelos al párpado (LIPCOF).* Los pliegues conjuntivales paralelos al párpado (LIPCOF) se deben a un exceso de conjuntiva bulbar y una pérdida de adherencia a la epiesclerótica que produce en la conjuntiva una serie de pliegues por encima del borde palpebral inferior. Es probable que se deban al mismo mecanismo general que conduce a los pliegues conjuntivales bulbares relacionados con la edad en otros lugares de la superficie ocular (conjuntivocalasia), que guardan una relación friccional con el parpadeo [343]. Los LIPCOF se pueden detectar mediante biomicroscopia con lámpara de hendidura y luz blanca, con el paciente en mirada primaria, y medirse en el borde palpebral inferior en puntos situados directamente debajo de cada limbo nasal y temporal [343]. Más recientemente, la tomografía de coherencia óptica se ha utilizado también para cuantificar el grado de LIPCOF [444]. Mediante el uso de la biomicroscopia con lámpara de hendidura rutinaria se evalúa el número de pliegues conjuntivales presentes por encima del párpado inferior con respecto a la altura del menisco lagrimal [445]. Cabe destacar que los LIPCOF desaparecen al retraer el párpado inferior y reaparecen después de unos pocos parpadeos, cuando se recupera la posición del párpado. Se cree que los LIPCOF son el resultado de una degradación de fibras elásticas inflamatorias, posiblemente con la participación de MMP [446], o por una fricción mecánica que influye sobre el flujo linfático [447]. Su presencia posee un buen valor predictivo positivo para EOS [446,448,449].

### 5.5.3. Los párpados

5.5.3.1. *La línea de Marx y la unión mucocutánea.* La línea de Marx es un patrón de tinción vital del epitelio situado directamente detrás de la unión mucocutánea (UMC) del borde palpebral [36,76,104,341,450]. (Figs. 7 y 8). Se puede manifestar a lo largo de la vida en los bordes palpebrales superior e inferior, extendiéndose desde los cantos externos hacia las regiones del punto lagrimal. En los jóvenes tiene tan solo unas pocas células de ancho, pero se ensancha con la edad [341] y, junto con la UMC, adopta una trayectoria cada vez más irregular.

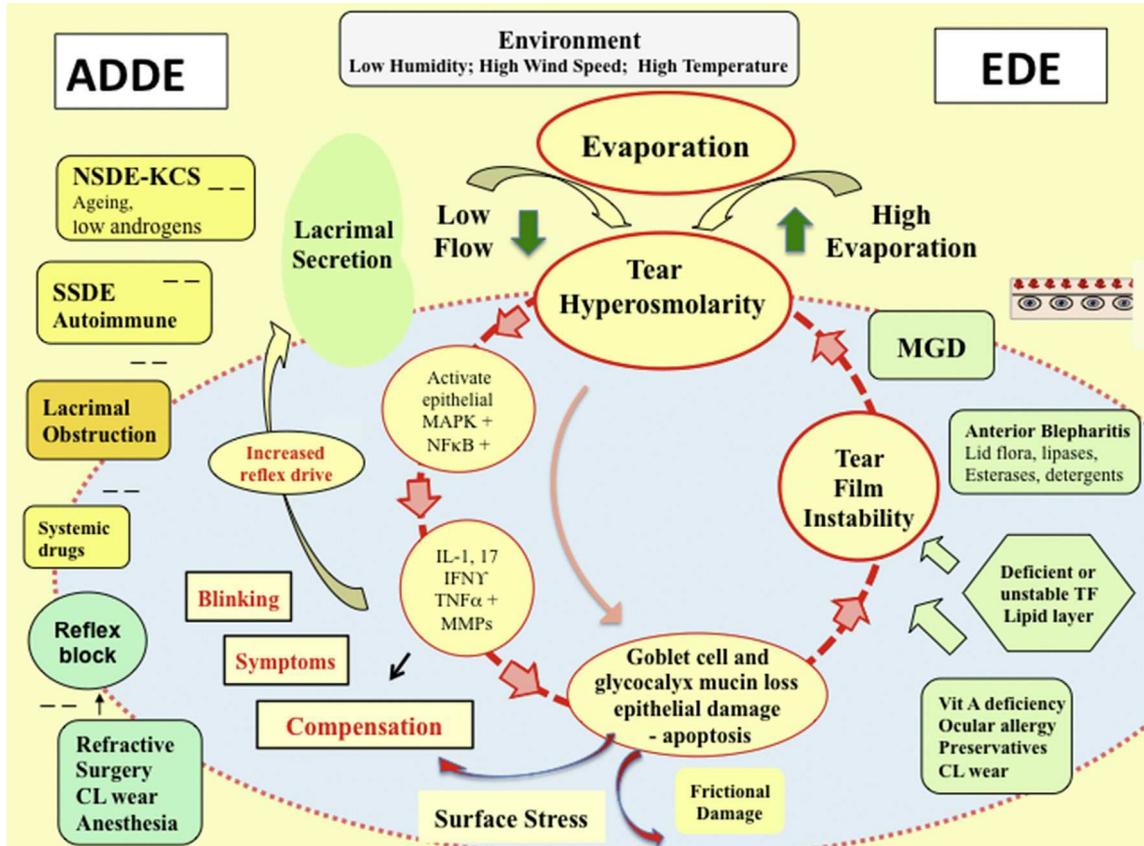
En la unión mucocutánea, el epitelio pasa de ser conjuntival, *hidrófilo*, humectable con agua y *paraqueratinizado* [40] al epitelio *queratinizado hidrófobo* de la piel del borde palpebral. El menisco lagrimal se superpone a este epitelio *hidrófilo* y está fijado a la UMC en este vértice, lo que marca su localización. Knop prefiere considerar todo el conjunto de esta zona *paraqueratinizada* como la UMC, desde el punto donde termina la queratinización de la piel hasta el límite posterior del borde palpebral o "cresta" (Fig. 9) [40].

Se ha postulado que durante el intervalo de parpadeo los efectos diferenciales de la evaporación conducen a un gradiente de molaridad lagrimal con un pico hiperosmolar en la punta del vértice. Se ha propuesto que esto provoca un aumento del recambio epitelial inmediatamente detrás de la UMC, una diferenciación incompleta de las células epiteliales de la superficie y un glucocáliz inmaduro, lo que da lugar a la captación de tinción denominada línea de Marx [163,451]. Un argumento contra esta *hipótesis del gradiente de solutos* es que la hiperosmolaridad debería desaparecer al renovarse la lágrima en cada parpadeo. Sin embargo, una serie

de trabajos recientes indican que no existe una yuxtaposición total de los bordes palpebrales con cada parpadeo [322,343,452], y que la aplicación de las ecuaciones de Navier-Stokes a la dinámica lagrimal en el menisco, a diferencia de la teoría de la lubricación, pronostica una clara ausencia de flujo de líquido y, por tanto, de mezcla convectiva en el vértice del menisco, adyacente a la línea de contacto [411]. Esto tendería a conservar la hiperosmolaridad dependiente de la evaporación en este punto. El aumento de la permeabilidad en el lugar de la línea de Marx permitiría la difusión de proteínas de al menos 20 Kd y proporcionaría una vía para que citocinas proinflamatorias como IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y MMP lleguen a los conductos meibomianos terminales.

Dado que IL-1 $\beta$  e IFN- $\gamma$  pueden inducir la expresión de proteínas precursoras con envoltura queratinizada en las células epiteliales [453], su liberación durante muchos años podría contribuir aquí a una hiperqueratinización, un rasgo característico de la DGM. Esto se ve respaldado por los hallazgos de Yamaguchi et al., que comunicaron un movimiento hacia delante de la línea relacionado con la edad que guardaba una correlación positiva tanto con las puntuaciones de la meibografía como con la calidad del meibo expresado, lo que implicaba una asociación con la DGM [454].

En presencia de DGM, la línea de tinción puede ensancharse y avanzar hasta afectar a la región de los orificios meibomianos [454]



**Fig. 5.** El círculo vicioso de la enfermedad del ojo seco. El mecanismo esencial de la EOS es la hiperosmolaridad de la lágrima, que es la marca característica de la enfermedad. Daña la superficie ocular tanto directamente como mediante el inicio de la inflamación. El ciclo de acontecimientos se muestra en el centro de la figura. Se reconocen dos formas de EOS, el OSDA y el OSE. En el OSDA, la hiperosmolaridad lagrimal se debe a un descenso de la secreción lagrimal en condiciones de evaporación normal del ojo. En el OSE, la hiperosmolaridad lagrimal está causada por una evaporación excesiva de la película lagrimal expuesta en presencia de una glándula lagrimal normofuncional. Dado que la osmolaridad lagrimal solo puede ser el resultado de la evaporación lagrimal tanto en el OSDA como en el OSE, la hiperosmolaridad lagrimal se debe a la evaporación procedente de la superficie ocular y, en este sentido, todas las formas de EOS son evaporativas. El OSE es un estado hiperevaporativo. En el EOS, se considera que la hiperosmolaridad lagrimal inicia una cascada de acontecimientos de señalización dentro de las células epiteliales de la superficie que conduce a la liberación de mediadores inflamatorios y proteasas. Estos mediadores, junto con la propia hiperosmolaridad de la lágrima, están pensados para provocar la pérdida de células caliciformes y epiteliales y deteriorar el glucocálix epitelial. Los daños se refuerzan por los mediadores inflamatorios de los linfocitos T activados reclutados hacia la superficie ocular. El resultado final es la epitelopatía puntiforme característica del EOS y una inestabilidad de la película lagrimal que conduce en algún punto a una ruptura precoz de la película lagrimal. Esta ruptura exagera y amplifica la hiperosmolaridad lagrimal y completa los acontecimientos del círculo vicioso que provocan daños en la superficie ocular. Se cree que en último término esto da paso a una autoperpetuación de la enfermedad. La inestabilidad de la película lagrimal puede comenzar sin que haya existido previamente hiperosmolaridad lagrimal, por condiciones que afectan a la superficie ocular, como la xerofthalmia, la alergia ocular, el uso tópico de conservantes y el uso de lentes de contacto. En este caso, la ruptura precoz de la película lagrimal (Índice de Protección Ocular <1) es la causa primaria de la hiperosmolaridad de la película lagrimal experimentada localmente al principio en el punto de ruptura y aumentando en gravedad, siendo detectable en algún punto en muestras de meniscos lagrimales. Esto representa una forma de OSE relacionada con la superficie ocular. En el OSE relacionado con la DGM, la hiperosmolaridad lagrimal proviene de una deficiencia de la capa lipídica de la película lagrimal. En el OSDA, la aparición de una ruptura precoz durante la evolución de la enfermedad puede añadir un elemento evaporativo al ojo seco. Existen diversas causas de OSDA. Puede provenir del bloqueo del tono sensorial hacia la glándula lagrimal que es esencial para mantener la homeostasis osmolar. La anestesia tópica bilateral puede causar tanto una reducción de la secreción lagrimal como de la frecuencia de parpadeo. El ojo seco debido a un bloqueo de este reflejo puede deberse a un abuso crónico de los anestésicos tópicos, a daños en el trigémino y a cirugía refractiva, incluida la de LASIK. El envío de lágrimas acuosas al saco lagrimal también puede disminuir por obstrucción de los conductos lagrimales, que se produce en cualquier forma de enfermedad conjuntival cicatricial, como el tracoma, el eritema multifórmate, la enfermedad de injerto contra hospedador y las quemaduras químicas. Diversos fármacos de uso sistémico, como los antihistamínicos, los bloqueantes  $\beta$ , los antiespasmódicos, los diuréticos y ciertos psicotrópicos causan una reducción de la secreción lagrimal y constituyen factores de riesgo para la EOS. La secreción lagrimal disminuye más adelante a lo largo de la vida. Los medicamentos contra el glaucoma pilocarpina y timolol también afectan directamente a las células epiteliales de las glándulas de Meibomio humanas y pueden influir en su morfología, supervivencia o capacidad proliferativa, además de promover quizás la DGM [61,1103]. En el mundo occidental, la causa más frecuente de OSDA es la infiltración inflamatoria de la glándula lagrimal, cuya manifestación más grave se da en trastornos autoinmunitarios como el OSSS y, con menor gravedad, en el OSNS. La inflamación causa la disfunción y/o destrucción de las células epiteliales tanto acinares como ductales y un bloqueo neurosecretor potencialmente reversible. También puede producirse bloqueo de receptores por anticuerpos circulantes contra el receptor muscarínico M3. La inflamación se ve favorecida por los niveles bajos de andrógenos tisulares. Las lesiones epiteliales y un glucocálix defectuoso, así como la pérdida de volumen de lágrima y de mucina de las células caliciformes, conducen a un mayor daño friccional y a síntomas relacionados con la fricción. La hiperosmolaridad lagrimal y las lesiones epiteliales causadas por la EOS estimulan las terminaciones nerviosas corneales, lo que conduce a síntomas de molestias, aumento de la frecuencia de parpadeo y, potencialmente, un incremento del reflejo compensatorio de secreción lagrimal. Esta secreción compensatoria es más probable en el OSE, dado que la funcionalidad lagrimal es potencialmente normal. Adaptado de Bron, Definition of dry eye disease', en Chan 2015 - Springer [79].

Translated into Spanish by Allergan

o, en el párpado superior, con EOS y uso de lentes de contacto, se puede ampliar en dirección posterior para fusionarse con la epitelopatía en limpiaparabrisas del párpado [344]. El párpado inferior puede verse afectado de modo similar [346].

De aquellos agentes cuya concentración se sabe que aumenta en la lágrima del ojo seco, el TNF- $\alpha$  y la elastasa de neutrófilos pueden provocar desprendimiento de las mucinas del glucocáliz como MUC-16<sup>241</sup> y aumentar la población de células accesibles a los colorantes, con lo que se ampliaría la línea de Marx. MMP-9 lisa las proteínas de la unión hermética, como la zona de oclusión-1 y la ocludina [309,314,315] y puede incrementar el acceso al compartimento paracelular del epitelio y los conductos meibomianos terminales.

**Tabla 6**

Fuentes de los síntomas del ojo seco.

i. Síntomas visuales (producidos en el intervalo de parpadeo)
Inestabilidad y ruptura de la película lagrimal
Rugosidad epitelial en las regiones de ruptura de la lágrima
ii. Síntomas de molestias
Hiperosmolaridad lagrimal
General: afectan a todos los compartimentos lagrimales
Local: relacionados con la ruptura de la lágrima, puntos críticos locales de hiperosmolaridad
iii. Fricción - lubricación reducida - (relacionados con el parpadeo y los movimientos del ojo)
Volumen de lágrima bajo en el OSDA
Pérdida de células caliciformes; mucina;
Pérdida de glucocáliz maduro, pérdida de lubricina
Epitelio rugoso; queratitis epitelial puntiforme;
Queratitis filamentaria
QLS
LIPCOF - conjuntivocalasia
Epiteliopatía en limpiaparabrisas del párpado
iv. Mediadores inflamatorios
Mediadores algésicos que incrementan la excitabilidad sensorial.
Prostanoides,
Citocinas,
Neurocininas
v. Factores neurosensoriales y centrales
Hipersensibilidad del trigémino;
Activación neuropática
Aspectos cognitivos de los síntomas del ojo seco

5.5.3.2. *Epiteliopatía en limpiaparabrisas del párpado.* ELP es el nombre que recibe una región de tinción del epitelio limpiaparabrisas del párpado, que se considera provocado por daños relacionados con la fricción [324,342,344]. Se ha demostrado que afecta tanto al párpado superior como al inferior [346]. Aunque en el párpado superior se solía atribuir al parpadeo, los movimientos de la mirada también generan un movimiento relativo entre los párpados y el globo y cabe suponer que contribuyen al desgaste friccional de la región LP. Asimismo, el inicio de un movimiento ocular rápido horizontal con frecuencia va acompañado de un parpadeo, por lo que ambos se combinan a menudo en las condiciones de visualización cotidianas [455].

La epitelopatía se puede poner de manifiesto con rosa de Bengala, verde de lisamina o fluoresceína cuando se ve como una mancha estrecha e irregular de tinción en la región limpiaparabrisas del párpado que afecta al borde palpebral superior o al inferior en su parte central. Es de señalar que, durante el parpadeo, aunque la velocidad angular del borde palpebral superior sea la misma a lo largo del párpado, su velocidad lineal es máxima en el centro, que atraviesa todo el ancho de la apertura del párpado, y mínima en sus extremos medial y temporal, donde la distancia recorrida es menor. Por tanto, la oportunidad de que se produzca daño friccional en el

Translated into Spanish by Allergan

párpado o en el globo es siempre mayor en la zona media de la apertura palpebral, más relacionada con la córnea que con la conjuntiva bulbar. Dado que la zona limpiaparabrisas del párpado forma una estrecha franja de contacto al atravesar la apertura palpebral, el impacto de la fuerza de cizallamiento se concentrará más en el epitelio LP que en el epitelio corneal o en el globo [324].

Korb et al. [324] compararon la frecuencia de la ELP superior en sujetos asintomáticos sin ojo seco con la de un grupo de pacientes con EOS sintomática utilizando tinción secuencial con una combinación de fluoresceína/verde de lisamina. La epitelopatía se clasificó según una escala de 0-3 utilizando las longitudes horizontales y las anchuras sagitales medias del limpiaparabrisas teñido. Encontraron una frecuencia de ELP del 16 % en sujetos asintomáticos, con un 14 % de grado 1, un 2 % de grado 2 y un 0 % de grado 3. En los pacientes sintomáticos, el 88 % tenía ELP, siendo el 22 % de grado 1, el 46 % de grado 2 y el 20 % de grado 3. La prevalencia general de la ELP era seis veces mayor en el grupo de EOS, mientras que la de la ELP de grado 2 o superior era 16 veces mayor en los pacientes con EOS que en los de control ( $p < 0,0001$ ).

En un estudio de Shiraishi et al. [346], la prevalencia de ELP inferior fue significativamente más alta (39,5 %) que la de la ELP superior en no usuarios de lentes de contacto (12,0 %:  $p < 0,001$ ), y la prevalencia de ELP tanto superior como inferior guardaba una correlación significativa con la edad ( $p < 0,001$ ), pero no con el sexo o la prueba de ruptura (BUT).

A simple vista podría ser un hallazgo sorprendente, ya que, aunque ambos párpados están expuestos a la acción friccional del globo durante los movimientos oculares rápidos horizontales, solo el LP superior está expuesto a una mayor fricción durante el parpadeo, dado que el recorrido del párpado inferior durante el parpadeo es pequeño. Este enigma se abordó en un estudio posterior, en el que se siguieron el movimiento del párpado y el desplazamiento del globo durante un parpadeo espontáneo y se midió la presión del párpado contra el globo con un blefarotensiómetro. Los autores no encontraron ninguna relación entre la presión del párpado y cualquier grado de ELP superior, pero la presión palpebral en los ojos con ELP inferior de grado 3 ( $27,9 \pm 2,8$  mmHg) fue significativamente mayor que con ELP inferior de grado 0 ( $19,7 \pm 1,3$  mmHg;  $p < 0,05$ ). Asimismo, la presión palpebral inferior guardaba una correlación significativa con la longitud del movimiento horizontal de los párpados inferiores durante el parpadeo ( $p < 0,05$ ) y con el grado de movimiento posterior del globo ocular ( $p < 0,05$ ). Los autores concluyeron que una de las causas del desarrollo de la ELP inferior era la aplicación de una mayor presión desde el párpado inferior.

No obstante, también es posible que actúe otro factor. El párpado superior y el globo se mueven juntos en la mirada vertical, pero no de forma sincronizada, ya que existe un pequeño movimiento relativo entre ellos. Por el contrario, el párpado inferior solo se mueve un poco en la mirada vertical, de manera que existe un movimiento rápido del globo con respecto al limpiaparabrisas del párpado inferior, lo que constituye una posible fuente de fricción significativa durante la lectura y el trabajo con ordenadores.

## 6. Respuestas inflamatorias en el ojo seco: inmunidad innata y adaptativa

En general, los procesos inmunitarios se clasifican en innatos o

adaptativos. Las respuestas inmunitarias innatas se considera que son rápidas e inespecíficas, mientras que las adaptativas evolucionan con el tiempo, son específicas y generan memoria. Estos procesos se dan al mismo tiempo, y la comunicación cruzada entre cada sistema es fundamental para el desarrollo de una respuesta eficaz.

Las respuestas inmunitarias de la superficie ocular no son distintas de las de otras superficies mucosas [234,456,457]. El microentorno de la superficie ocular está expuesto constantemente a problemas ambientales y mantiene la vigilancia sobre la desecación, los microorganismos, la contaminación y los alérgenos y otros agentes nocivos. Las agresiones pueden ser agudas o crónicas, y el sistema inmunitario les hace frente en consecuencia.

### 6.1. Respuestas inmunitarias innatas en la enfermedad del ojo seco

#### 6.1.1. Barreras y señales inflamatorias

Un componente crítico del sistema inmunitario innato consiste en ofrecer una barrera física entre el ojo y el entorno externo, por ejemplo, impidiendo la adherencia de microorganismos y el paso de toxinas por los epitelios de la superficie. Entre los elementos que llevan esto a cabo se encuentran el gel de mucina de las lágrimas, el glucocáliz, el propio epitelio y un caudal de proteínas de defensa antimicrobianas, como la lactoferrina, la lisozima, la lipocalina y los péptidos trébol, además de moléculas de superficie como las defensinas ( $\alpha$  y  $\beta$ ) [159,458-461]. Sin embargo, los epitelios corneal y conjuntival se consideran los “guardianes” de la superficie ocular [462].

Este sistema de defensa puede verse en peligro por el estrés hiperosmolar de la EOS mediante la activación de las cinasas MAPK que, a su vez, activan la producción de IL-1 (principalmente) y de TNF- $\alpha$  por parte del regulador maestro, NF $\kappa$ B. Estos ejercen importantes efectos ulteriores al inducir una cascada de otros mediadores y señales celulares que amplifican la respuesta inmunitaria inflamatoria. Posteriormente, la IL-1 y el TNF- $\alpha$  regulan al alza la producción de MMP-9 por parte de las células epiteliales corneales, lo cual se asocia a disrupción de la barrera corneal epitelial [316].

Tabla 7

Dianas oculares de la enfermedad del ojo seco.

i. La glándula lagrimal.	Infiltración de células inflamatorias en los conductos y ácnos
ii. Las glándulas de Meibomio	Obstrucción del conducto terminal; dilatación del conducto y pérdida de la glándula
iii. La córnea	Queratopatía epitelial puntiforme. Queratitis filamentaria Queratoconjuntivitis del limbo superior (QLS)
iv. La conjuntiva.	
a. Cambios generales	Epiteliopatía puntiforme Cambios en el glucocáliz Pérdida de células caliciformes
b. Cambios bulbares	Pliegues conjuntivales paralelos al párpado (LIPCOF) QLS
c. Cambios tarsales	Cambios en los bordes palpebrales Migración de la línea de Marx Epiteliopatía en limpiaparabrisas del párpado.
v. Tanto la córnea como la conjuntiva.	

Translated into Spanish by Allergan

Aumento de la descamación epitelial
vi. Inestabilidad de la película lagrimal
Signos tempranos
Ruptura de la película lagrimal. Mancha, hoyuelo, línea, zona

Un aspecto del sistema de defensa innato consiste en la activación de los receptores de reconocimiento de patrones (PRR), como los receptores de tipo Toll (TLR) y el receptor de tipo NOD (NLR), que intervienen en la inflamación citosólica de los inflamasomas. Ambos participan en la respuesta inflamatoria de la EOS [463]. La estimulación de estos receptores se asocia a la regulación al alza de IL-1, TNF- $\alpha$  y también de IL-6.

#### 6.1.2. Señales de reclutamiento y células inflamatorias

Experimentalmente, la expresión de IL-1, TNF- $\alpha$  e IL-6 en los epitelios de la superficie ocular es fundamental para la respuesta inflamatoria en la EOS. Uno de los pasos del proceso de amplificación es la generación de señales que reclutan tanto células inflamatorias innatas como adaptativas hacia el lugar de la inflamación. Estas señales pueden ser solubles o unidas a membrana, y entre ellas se incluyen las quimiocinas y las moléculas de adhesión [464]. En un modelo experimental de EOS inducida por estrés desecante (DES) y escopolamina, el aumento de la expresión de citocinas inflamatorias por parte de la córnea y de la conjuntiva se redujo considerablemente en ratones KO para los receptores de IL-1 [465].

Las quimiocinas producidas en la superficie ocular durante una respuesta inflamatoria (p. ej., CCL3, CCL4, CCL5, CXCL9, CXCL10 y CX3CL1) [306, 466-469] se pueden unir a los macrófagos, a las células dendríticas, a los neutrófilos y a los linfocitos T activados, en los que los respectivos receptores quimiocínicos están regulados al alza [470].

El otro paso crítico en la migración dirigida de estas células inflamatorias hacia la superficie ocular es la expresión de moléculas de adhesión endoteliales [464], como la molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1), que se expresa en el epitelio conjuntival y corneal, así como en el de los vasos sanguíneos en la EOS [471]. ICAM-1 es una molécula de adhesión que se une a las células inflamatorias que expresan el ligando, la *integrina antígeno leucocitario funcional 1* (LFA-1), que provoca rodadura, transmigración y activación en el lugar de la inflamación y en los órganos linfáticos [464,472]. Estas moléculas, situadas en la superficie del ojo, representan dianas terapéuticas potencialmente accesibles. Lifitegrast, un inhibidor de ICAM, ha recibido recientemente la autorización por parte de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos para el tratamiento de la EOS [473].

En la respuesta inflamatoria innata intervienen tres tipos distintos de células: los neutrófilos, los linfocitos NK y los monocitos/macrófagos. El papel de los neutrófilos en la EOS es un área de investigación en curso, y ya hemos mencionado anteriormente la importancia de las NET (véase la sección 4.8).

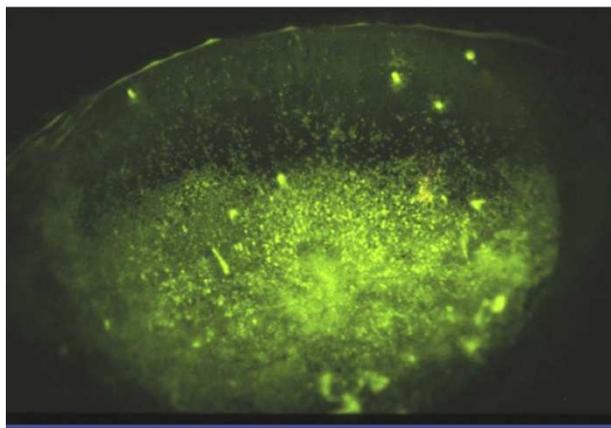


Fig. 6. Queratitis filamentaria grave, con extensa tinción corneal con fluoresceína.

Sin embargo, en un modelo DES de EOS, la disminución de los neutrófilos dio lugar a una mayor activación de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y a una mayor tinción corneal, lo que demuestra que, en algún estadio, los neutrófilos pueden desempeñar un papel protector [474].

Estudios recientes con modelos de EOS indican que los linfocitos NK pueden contribuir significativamente a la patogenia de la EOS [105,475-477]. El reclutamiento o activación de los linfocitos NK oculares residentes se ha asociado a una mayor producción de citocinas inflamatorias, como IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-17 e IL-23, que estimulan a los macrófagos, a las células presentadoras de antígeno (CPA) y a los linfocitos T autorreactivos. Los linfocitos NK pueden ser una fuente temprana de IFN- $\gamma$ , responsable de la activación y diferenciación de los linfocitos Th1, la inducción de señales coestimulantes por parte de las CPA y del propio IFN- $\gamma$  como citocina inflamatoria clave causante de daños en el epitelio conjuntival y pérdida de células caliciformes [475,478].

La infiltración de la conjuntiva por monocitos, que se diferencian en macrófagos asociados a tejido, es un rasgo destacado de la EOS murina. De hecho, la infiltración por CD11b<sup>+</sup> (monocito/macrófagos) y macrófagos CD14<sup>+</sup> está correlacionada con progresión de la enfermedad en un modelo murino de queratoconjuntivitis lagrimal autoinmunitaria [479]. Los monocitos se pueden diferenciar en dos tipos de macrófagos tisulares; los macrófagos M1 se asocian a respuestas proinflamatorias, mientras que los M2 son reguladores. Se ha visto que la EOS induce un fenotipo de M1 en un modelo de estrés desecante [480].

### 6.1.3. Las características de la inmunidad innata

Otros elementos que se considera que forman parte del sistema inmunitario innato son los linfocitos T gamma/delta ( $\gamma/\delta$ ) y el sistema del complemento. Los linfocitos T  $\gamma/\delta$  se hallan con frecuencia muy cerca de las células epiteliales, incluido el epitelio conjuntival [476]. Los linfocitos T  $\gamma/\delta$  pueden producir IL-17 [481] en la superficie ocular, pero aún no se conoce su papel específico durante la EOS. Los estudios que investigan el papel del complemento en la inflamación de la superficie ocular en la EOS se limitan a realizar observaciones en modelos animales en los que ratones lampiños que reciben suero de ratones con ojo seco desarrollan EOS asociada al reclutamiento de citocinas y células inflamatorias por activación de C3a/C5a y C3b/C5b y la formación del complejo de ataque a la membrana (MAC) [482]. Estas observaciones también fueron respaldadas al demostrarse la

expresión de C3b en la conjuntiva de ratones enfermos y amortiguarse la enfermedad mediante la neutralización de la vía del complemento con la administración sistémica de veneno de cobra [482].

## 6.2. Respuestas inmunitarias adaptativas de la superficie ocular

### 6.2.1. Iniciación de la inmunidad adaptativa por presentación de antígenos

La presencia de linfocitos T CD4<sup>+</sup> en la superficie ocular en la EOS y el éxito del tratamiento de la inflamación de la superficie ocular con ciclosporina tópica indican un posible papel de la inmunidad adaptativa en la EOS [483]. La iniciación de una respuesta inmunitaria adaptativa requiere que los antígenos existentes en el lugar de la inflamación sean procesados y presentados por CPA profesionales que migran hasta el tejido linfático regional para activar y dispersar a los linfocitos T efectores específicos para el antígeno. Aunque no se conozcan el o los antígenos que inician esta respuesta en la EOS, se ha planteado la hipótesis de la expresión de autoantígenos como un desencadenante clave de la epiteliopatía inflamatoria en el síndrome de Sjögren. Se considera que aquí se encuentran las bases de la producción de autoanticuerpos contra el receptor de acetilcolina muscarínico de tipo 3 (Ac anti-M3R) y la familia proteínica de las calicreínas, como Kik1 y Kik13 [482, 484-486], y de la generación de linfocitos T autorreactivos [487].

Las pruebas de la presentación de antígenos en la superficie ocular como paso iniciador de la respuesta inmunitaria adaptativa provienen de la correlación entre la acumulación de CPA CD11c maduros y la activación de linfocitos T CD4<sup>+</sup> específicos para el antígeno en la secreción de los ganglios linfáticos durante el estrés desecante y la reducción de la infiltración de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> en animales desprovistos de macrófagos y CPA en la superficie ocular [479]. Un tejido de superficie ocular de condiciones inflamatorias se caracteriza por la regulación al alza del complejo principal de histocompatibilidad (CPH) II y de otras señales estimuladoras; no obstante, la activación de los linfocitos T circulantes acondicionados (primed) reclutados hacia la córnea y la conjuntiva de los pacientes con EOS es otra posible vía de presentación de antígenos en la generación de respuestas inmunitarias adaptativas locales [471,482,488].

### 6.2.2. Los tejidos linfáticos y la superficie ocular

Aunque se considera que el bazo es el principal tejido linfático responsable de la inmunorregulación de los antígenos intraoculares, no se cree que su papel en la inmunidad de la inflamación de la superficie ocular sea dominante [457]. Asimismo, no se conoce bien el papel del timo en la regulación de la respuesta inmunitaria en la superficie ocular. Sin embargo, las pruebas obtenidas sobre EOS en modelos animales y pacientes con enfermedad de injerto contra hospedador ocular en los que el daño tímico se debe a un acondicionamiento previo a un trasplante de células madre hematopoyéticas, indican que la tolerancia central, regulada por el entorno tímico, puede ser importante en la inmunidad de la superficie ocular [489].

6.2.2.1. Tejido linfático asociado a la conjuntiva o TLAC. Al igual que en otras mucosas, como la intestinal, la conjuntiva está equipada con colecciones estromales locales de tejido linfático que intervienen en la inducción de tolerancia en la mucosa y en la regulación de la inflamación y defensa inmunitaria en la superficie ocular [490]. Estos focos constituyen el tejido linfático asociado a la conjuntiva o TLAC, el equivalente local de las colecciones de TLAM

en las mucosas de todo el organismo [118]. Forman parte del circuito linfático inmunitario.

Los focos de TLAC tienen acceso a la superficie epitelial, y se ha detectado formación de centro germinal/folículos en respuesta a la exposición local a antígenos. Se han hallado pruebas de respuestas tanto homeostáticas como patológicas a proteínas, microbios y productos microbianos en modelos animales, y se ha postulado que sucede lo mismo en los seres humanos [491-493].

### 6.3. La inflamación, la glándula de Meibomio y el ojo seco

Una característica chocante de la glándula de Meibomio humana es su aparente resistencia a la inflamación y la infección. Por ejemplo, no existen pruebas revisadas por expertos externos de inflamación ni de infección en este tejido en la DGM obstructiva [36,494,495,976]. Por otra parte, la exposición de células epiteliales de glándulas de Meibomio humanas a una toxina bacteriana (es decir, un lipopolisacárido [LPS]) no induce la expresión de ontologías génicas proinflamatorias distintas de las asociadas a la señalización de los receptores de tipo Toll [496]. Por el contrario, los LPS estimulan una regulación al alza pronunciada de genes vinculados a la defensa, la producción de citocinas y quimiocinas, la quimiotaxis, las vías de señalización de los receptores de tipo Toll y las respuestas inflamatorias e inmunitarias en células epiteliales corneales y conjuntivales humanas inmortalizadas [496]. Es posible que esta resistencia aparente a la inflamación y a la infección dentro de las glándulas de Meibomio humanas se deba a la presencia de factores antiinflamatorios y antiinfecciosos innatos.

En favor de esta hipótesis, el gen más expresado en la glándula de Meibomio humana codifica el receptor inmunoglobulinoide asociado a los leucocitos 1 (LAIR-1) [505]. LAIR-1 es un receptor inhibidor que suprime la activación de las células inmunitarias y reduce la producción de citocinas proinflamatorias [497,498]. La expresión del gen LAIR-1 se regula al alza durante la diferenciación de las células epiteliales de las glándulas de Meibomio humanas [43], al igual que las de la uteroglobina (suprime la inflamación [1202]), la fosfolipasa A2 (mata las bacterias grampositivas y es un bactericida clave en la lágrima humana [499]) y CCL28 (posee actividad antimicrobiana contra bacterias grampositivas y gramnegativas [500]). Recientemente, los investigadores han encontrado también que lisados de células epiteliales de glándulas de Meibomio humanas inhiben *in vitro* el ritmo de crecimiento de la bacteria gramnegativa *Pseudomonas aeruginosa* [501]. Además, la DGM humana se asocia a un incremento significativo de los transcritos intraglandulares de [a] las proteínas de unión A8 y A9 del calcio S100 (S100A8/9, también denominada calprotectina; a concentraciones altas, este heterodímero realiza funciones antiinflamatorias y antimicrobianas y confiere más resistencia a las células epiteliales frente a la invasión bacteriana [502-504,1217]); [b] el inhibidor de la peptidasa 3, derivado de la piel (también llamado elafina [1203], inhibe la infección bacteriana [1202]); y [c] S100A7 (también denominada psoriasina, un péptido antimicrobiano [1202]) [505].

Estos hallazgos no significan que las glándulas de Meibomio humanas no se puedan inflamar o infectar. Por ejemplo, una sola glándula de Meibomio puede desarrollar un chalación (es decir, una inflamación de una glándula bloqueada) que puede infectarse secundariamente. Además, un LPS puede inducir la secreción de

leucotrieno B4 en células epiteliales de las glándulas de Meibomio humanas [60], y la isotretinoína puede inducir la expresión de algunos mediadores inflamatorios en estas células [45]. Sin embargo, ni la inflamación ni la infección son características de la DGM obstructiva, que afecta a varias glándulas [36,506].



Fig. 8. Línea de Marx en el párpado superior de un adulto joven, teñido con verde de lisamina. (Cortesía de N. Yokoi).

## 7. Investigación en modelos animales y celulares *in vitro*

El uso de modelos animales para estudiar la EOS proporciona una fuente de hipótesis que permite examinar los mecanismos patológicos en relación con la enfermedad clínica. Asimismo, se puede explorar la influencia de factores de riesgo tales como la edad, el sexo y el entorno, y, en el caso del síndrome de Sjögren, también el efecto de la disregulación inmunitaria sobre la tolerancia inmunitaria. Schrader et al. han llevado a cabo una revisión general de los modelos animales de EOS [507].

### 7.1. Modelos animales de ojo seco no asociado a Sjögren

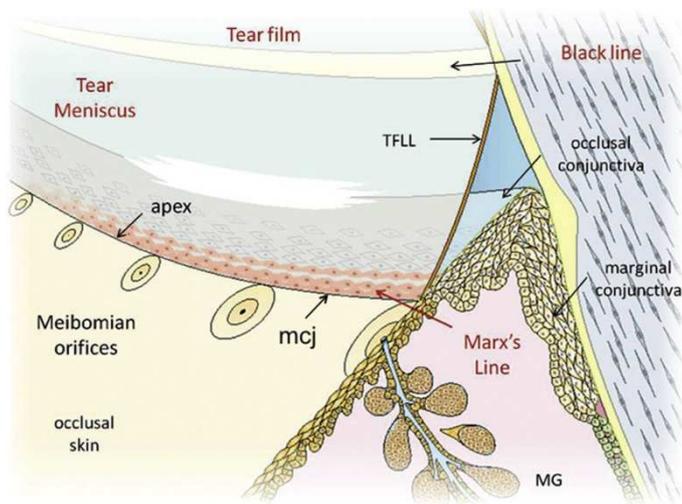
#### 7.1.1. Información general

El Subcomité se ha centrado en los dos modelos siguientes: El modelo de estrés ambiental desecante (DES) implica exposición a una combinación de baja humedad y aumento del flujo de aire con o sin bloqueo muscarínico. El modelo de bloqueo de los receptores muscarínicos (SCP) consiste en la inyección sistémica de escopolamina para suprimir el funcionamiento del sistema nervioso parasimpático y así inhibir la secreción de las glándulas lagrimales.

Existen modelos de DES agudos y crónicos, y hay un gran interés por la recuperación de los daños tras la supresión de la causa iniciadora debido a su relevancia para la autoperpetuación de la enfermedad.

#### 7.1.2. El modelo de estrés desecante

El modelo de estrés desecante o de estrés ambiental desecante (DES), descrito inicialmente por Dursun et al. [508] y posteriormente modificado por varios investigadores [509,510], combina un flujo elevado de aire, una humedad relativa baja y un bloqueo colinérgico para dificultar la secreción de las glándulas lagrimales. Se ha convertido en un modelo estándar de EOS y se ha utilizado para estudiar la patogenia de esta enfermedad, así como posibles tratamientos [511-515]. El modelo DES recapitula varios aspectos de la EOS, como la tinción



**Fig. 7.** Visión esquemática del menisco lagrimal inferior y del borde palpebral. El menisco se superpone y humedece tanto la parte oclusal de la mucosa marginal como la superficie yuxtapuesta, en contacto con el globo. El vértice periférico del menisco se halla fijado en la unión mucocutánea (UMC), que forma la frontera entre la epidermis queratinizada escamosa estratificada de la piel del borde palpebral y la conjuntiva oclusal paraqueratinizada escamosa estratificada. Se sitúa directamente detrás de los orificios de las glándulas de Meibomio. La hilera de células epiteliales teñibles que componen la línea de Marx se encuentra bajo el vértice del menisco lagrimal, inmediatamente detrás de la UMC. (Extraído de Bron, A. J., et al. (2011). "A solute gradient in the tear meniscus. I. A hypothesis to explain Marx's line." *Ocul Surf* 9(2): 70-91 - con permiso) [163].

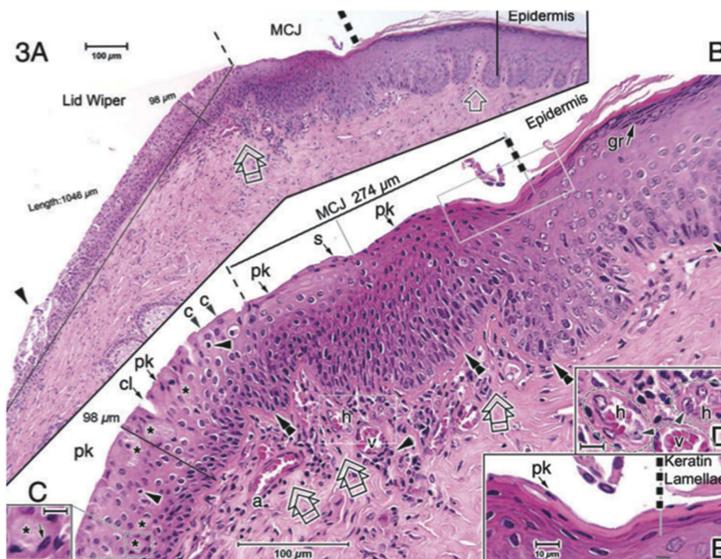
n corneal, la pérdida de células caliciformes conjuntivales, la infiltración conjuntival con linfocitos T CD4<sup>+</sup>, el aumento de las citocinas en la lágrima y la apoptosis del epitelio de la superficie ocular [378,427,516-518]. Curiosamente, el DES induce profundos cambios epiteliales, con incremento de la producción de citocinas, quimiocinas y metaloproteinasas de la matriz que preceden a la iniciación de la respuesta inmunitaria [309,378,519], pero se produce una modulación significativa del sistema inmunitario (que se describe a continuación).

Otro rasgo de la EOS es la activación de MAPK, que incluye

cinas reguladas por señales extracelulares, JNK y p38 MAPK. Se han descrito niveles elevados de JNK1 y JNK2 activas fosforiladas en epitelios de la superficie ocular tratados con solución salina hipertónica *in vivo* y en células epiteliales corneales humanas cultivadas expuestas a medios hiperosmolares [309-311]. Por otra parte, JNK2, pero no JNK1, parece intervenir en la enfermedad epitelial corneal inducida por desecación (al estimular la producción de MMP-1, MMP-9 y precursores con envoltura queratinizada), ya que los ratones JNK2KO eran resistentes a los cambios inducidos por la EOS [520].

**7.1.2.1. Iniciación del ojo seco por estrés desecante.** La disrupción de la inmunorregulación aferente y eferente de la superficie ocular se reconoce como un proceso importante que subyace a la inflamación de la EOS [234,521]. Las citocinas proinflamatorias (IL-1, TNF- $\alpha$  e IL-6) y las quimiocinas, liberadas de los epitelios de la superficie ocular con estrés provocan daños epiteliales y activan células presentadoras de antígeno (CPA) y linfocitos NK [234,475].

Además, la activación de una respuesta de linfocitos NK innatos no solo daña los tejidos diana, sino que promueve la maduración de las CPA a través del IFN- $\gamma$  [475,476,522]. Estas CPA activadas en la superficie ocular migran hacia los ganglios linfáticos secretores (GLS) a través de vasos linfáticos de nueva creación (facilitados por VEGF-C y VEGF-D) [512,523,524] y contribuyen a acondicionar linfocitos T vírgenes en los GLS, lo que conduce a la activación y expansión de linfocitos T CD4<sup>+</sup> secretores de IFN- $\gamma$  (Th1) y linfocitos T CD4<sup>+</sup> secretores de IL-17 (Th17) [476,479,525,526]. Estos linfocitos T efectores sin restricción se dirigen a la superficie ocular a través de los vasos sanguíneos bajo la influencia del aumento de los niveles de quimiocinas locales en la superficie ocular [516,527,528]. Por otra parte, el incremento de los niveles de IL-17 e IFN- $\gamma$  de los linfocitos T activados en la superficie ocular provocan una disrupción de la barrera corneal epitelial y una menor



**Fig. 9.** Según Wolff (1946) [76], la conjuntiva marginal es una zona de transición entre la piel y la propia conjuntiva que se extiende de forma posterior a lo largo de unos 2 mm, desde la unión mucocutánea (UMC) de manera anterior, pasado el borde palpebral posterior y sobre la placa tarsal, para finalizar en el pliegue sub tarsal. Este corte con H y E pasa por el borde posterior del borde palpebral superior en la región mediotemporal (A-E). En esta figura, la UMC ha sido descrita por Knop et al. [36] como una zona que tiene aquí 274  $\mu$ m de ancho y que se extiende desde el borde afilado de la epidermis queratinizada hasta la "cresta" del epitelio mucoso, lo que corresponde al borde palpebral posterior. El Subcomité de Fisiopatología prefiere describir la UMC como una línea de unión entre la epidermis y el epitelio mucoso, marcado clínicamente por el vértice del menisco lagrimal (véanse el texto y la Fig. 7), en cuyo caso esta franja de epitelio mucoso transicional se denomina zona oclusal de la mucosa marginal (Bron et al., 2011) [163]. En este corte, Knop et al. [36] describen una zona anterior continua (150  $\mu$ m de ancho - B, línea gris) de células paraqueratinizadas (pk), seguida por otra de células pk discontinuas dispersas entre las células escamosas ordinarias (s). En la placa tarsal, posterior a la cresta (línea fina discontinua en A, B), se halla la región limpiaparabrisas del párpado, que forma una estructura engrosada almohadillada compuesta principalmente por células cuboides, algunas células cilíndricas y también células caliciformes (asteriscos en B), algunas de las cuales residen en criptas. Aquí alcanza un espesor máximo de 98  $\mu$ m y se extiende a lo largo de unos 1000  $\mu$ m (A) hasta llegar al pliegue sub tarsal. Otras características son: algunos linfocitos intraepiteliales (flechas en B), pequeñas hendiduras ocasionales (cl en B), vasos, incluidas vénulas de endotelio alto (h), vénulas ordinarias (v) y arteriolas (a) debajo de la UMC, que se aprecian mejor con más aumentos (D, barra de escala: 100 lm (A,B); 10 lm (C-E), (gr en B = capa granulosa). (Extraído de Knop, E., et al. (2011). "The lid wiper and mucocutaneous junction anatomy of the human eyelid margins: an *in vivo* confocal and histological study." *J Anat* 218(4): 449-461. - con permiso) [40].

densidad de células caliciformes conjuntivales [516,523,529].

Aunque tanto los linfocitos T CD4<sup>+</sup> como los CD8<sup>+</sup> intervienen en la respuesta inmunitaria adaptativa frente a los antígenos, los linfocitos T CD4<sup>+</sup> predominan en la superficie ocular en la EOS crónica [487]. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> vírgenes del tejido linfático se diferencian en cuatro fenotipos funcionales designados en función de las citocinas principales que producen. Se clasifican en linfocitos Th1, Th2, Th17 y T reguladores (Treg). Una vez presentado el antígeno, el entorno citocínico presente en el momento de la activación del linfocito T es uno de los determinantes principales del resultado final de la diferenciación. La resolución de la respuesta inmunitaria adaptativa está mediada por la eliminación de estos linfocitos T efectoras CD4<sup>+</sup> a causa de una apoptosis inducida por la activación en el lugar de la inflamación, lo que hace que se generen linfocitos T de memoria para antígenos específicos caracterizados por la expresión diferencial de marcadores de superficie, como CD45RB<sup>+</sup>, CD44<sup>+</sup> y CD69<sup>+</sup>.

Los linfocitos Th2 CD4<sup>+</sup> se han asociado al desarrollo de respuestas alérgicas en la superficie ocular, y también desempeñan un papel en el mantenimiento de los niveles homeostáticos de las células caliciformes conjuntivales [105]. Niederkorn y sus colaboradores mostraron de manera elegante que la transferencia adoptiva de linfocitos T CD4<sup>+</sup> a ratones inmunodeficientes, acondicionados *in vivo* durante el DES, reproduce el fenotipo de la EOS observado en los ratones donantes [487]. Los ratones desarrollaron EOS, con infiltración en las glándulas lagrimales, tinción corneal, pérdida de células caliciformes, infiltración de linfocitos T CD4<sup>+</sup> en la conjuntiva y producción de citocinas y de metaloproteinasas de la matriz. (Niederkorn, Stern et al., 2006) (Fig. 10) [487].

Los linfocitos Th1 CD4<sup>+</sup> son el clásico subconjunto de linfocitos T patógenos asociados a la generación y progresión de la enfermedad del ojo seco inmunorrelacionada [478]. Estas poblaciones de linfocitos T efectoras se diferencian por la presencia de IL-12, y se caracterizan por su producción de IL-2 e IFN- $\gamma$  en el lugar de la inflamación. La producción de IFN- $\gamma$  por parte de los linfocitos Th1 CD4<sup>+</sup> constituye un determinante destacado de los cambios patológicos observados en la superficie ocular de los pacientes con ojo seco, como la muerte de células epiteliales, la pérdida de células caliciformes y epiteliales y la metaplasia de células escamosas [516,530-532]. El reclutamiento de linfocitos Th1 CD4<sup>+</sup> hacia la superficie ocular se regula mediante su expresión de LFA-1 y su interacción con la ICAM expresada en los tejidos oculares de los pacientes con EOS [472]. Asimismo, su expresión aumentada de CCR5 y CXCR3 hace que respondan a los factores quimiotácticos CCL5 y CXCL10, que también se producen en la superficie ocular inflamada en respuesta al DES [467,527]. Se ha observado que el IFN- $\gamma$  es antagonista de la IL-13 en el pulmón y en el intestino, y esto también se aplica a la superficie ocular. Como hemos señalado, la IL-13 promueve la homeostasis de las células caliciformes en condiciones fisiológicas [105], mientras que el IFN- $\gamma$  promueve la apoptosis de las células caliciformes [478,530]. Los ratones knockout para IFN- $\gamma$  resisten al estrés desecativo; sin embargo, al restituirles el IFN- $\gamma$  desarrollan pérdida de células caliciformes, de modo similar a los ratones normales [478]. La transferencia adoptiva de linfocitos T CD4<sup>+</sup> de ratones donantes expuestos a DES que recibieron anti-IFN- $\gamma$  fue menos patógena para los ratones inmunodeficientes receptores, lo que produjo una menor apoptosis

corneal y un mayor número de células caliciformes llenas de PAS<sup>+</sup> [530]. Los ratones que recibieron inyecciones subconjuntivales de anticuerpo anti-IFN- $\gamma$  mostraron una menor apoptosis corneal y conjuntival [530].

Los linfocitos Th17 CD4<sup>+</sup> son el prototipo de linfocitos T autorreactivos asociados a enfermedades inflamatorias crónicas. La presencia de IL-17 en el líquido lagrimal de los pacientes con EOS y su localización en la superficie ocular en modelos animales de EOS inducida por DES o por mecanismos auto-inmunitarios confirman el papel de estas células en la progresión de la enfermedad [458,516,526]. También se ha demostrado *in vitro* que es posible la diferenciación de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> vírgenes en linfocitos Th17 al cultivar conjuntamente linfocitos T con células epiteliales corneales, que son la fuente más probable de IL-17 durante la inflamación de la superficie ocular. Al igual que el reclutamiento de los linfocitos Th1 CD4<sup>+</sup> se ve potenciado en la superficie ocular en la EOS, CCL20 se expresa en la superficie ocular de los animales expuestos a estrés desecante, y los linfocitos Th17 que expresan CCR6 podrían responder a esta señal y ser reclutados hacia la superficie ocular [516,527]. IL-17 causa daños en el epitelio corneal directamente y a través de la regulación al alza de MMP-9 y MMP-3 y la inhibición de la protección por parte de los linfocitos Treg [516,529]. Se ha visto que tanto IL-17 como IFN- $\gamma$  se hallan elevados en la lágrima y en la citología de impresión conjuntival de los pacientes con EOS [235,441,458].

Los linfocitos Treg se caracterizan por la expresión de marcadores CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>Foxp3<sup>+</sup>, y se ha visto que su papel en el mantenimiento de la tolerancia periférica es crítico en las respuestas inmunitarias a los alo- y auto-antígenos en las enfermedades no oculares. Los estudios realizados con ratones sometidos a estrés desecante indican un papel significativo de los Treg en la regulación y amortiguación de la respuesta inflamatoria. Si se lleva a cabo la transferencia adoptiva de Treg, se observa una mejora significativa de la inflamación en la EOS, lo cual se correlaciona con la regulación de los "linfocitos T CD4<sup>+</sup> específicos oculares" [533]. Los linfocitos T CD8<sup>+</sup> también pueden funcionar como células reguladoras, dado que la pérdida de linfocitos T CD8<sup>+</sup> durante las fases de inicio del DES generaba más linfocitos T patógenos. Asimismo, se ha observado un defecto funcional (pero no numérico) en los Treg en experimentos de DES [529].

Aún no está claro el papel de los linfocitos B en las respuestas adaptativas de la superficie ocular en la EOS. Los linfocitos B y la producción de autoanticuerpos parecen estar implicados en las manifestaciones sistémicas y oculares del síndrome de Sjögren en los pacientes y en los modelos animales [482]. Por el contrario, su función en la EOS crónica en los pacientes no autoinmunitarios no resulta evidente. Sin embargo, además de la producción de autoanticuerpos patógenos, no se puede subestimar el papel de las CPA profesionales y la activación de los linfocitos T autorreactivos [534].

7.1.2.1.1. *Distinción entre los modelos basados solo en el estrés desecante y los inducidos por escopolamina o por una combinación de ambos.* Buena parte de las pruebas experimentales en favor de la inflamación en la EOS antes descritas provienen de un modelo murino de EOS que combina DES con la inhibición sistémica de los receptores muscarínicos de acetilcolina utilizando escopolamina [509,535]. La EOS incrementa la evaporación lagrimal debido a la baja humedad y a un elevado flujo de aire, y la SCP induce deficiencia lagrimal al actuar como antagonista de la actividad muscarínica en las glándulas lagrimales. La baja humedad por sí

sola es capaz de inducir EOS, pero su cinética es más tardía que la del DES [536]. Un avance reciente en nuestros conocimientos sobre la inflamación en la EOS murina es que el DES sin bloqueo muscarínico y la SCP provocan EOS a través de diferentes mecanismos primarios [537]. El DES sin bloqueo muscarínico inducía una mayor infiltración conjuntival de linfocitos T CD3 (+) y mayor actividad de los linfocitos Th17 y disfunción de los Treg que la SCP, mientras que la SCP reducía el volumen lagrimal en mayor medida que el DES. La SCP reducía la actividad de los Th17 e incrementaba las respuestas de los Th2 y los Treg sin influir en la actividad de los Th1.

Cabe destacar que, al inhibir la actividad colinérgica, la escopolamina también influye considerablemente en la naturaleza de las respuestas inflamatorias y de la superficie ocular en la EOS. La escopolamina interferiría en la capacidad del sistema nervioso parasimpático para responder a las citocinas liberadas durante la activación del sistema inmunitario innato y para proporcionar un control de retroalimentación negativa de las respuestas inmunitarias innatas para restaurar la homeostasis [1220]. La escopolamina también impediría a la vía antiinflamatoria colinérgica contrarrestar las respuestas inflamatorias anormales hiperactivadas y crónicas [538]. Como consideraciones adicionales, se sabe que los neurotransmisores colinérgicos regulan a las células epiteliales de las glándulas de Meibomio [42] y a las células caliciformes [539], pero esta actividad moduladora quedaría suprimida al utilizar escopolamina. Por otra parte, las células caliciformes parecen depender de una entrada neural constante de la superficie ocular [540], pero esta comunicación puede verse dificultada por la escopolamina. En conjunto, dado que el sistema inmunitario y la superficie ocular son importantes fisiológicamente para el desarrollo y recuperación de la EOS, la eliminación de la escopolamina de un sistema regulador importante (es decir, la vía colinérgica) limita la relevancia fisiológica de este modelo SCP para conocer los procesos inmunitarios y de la superficie ocular de la EOS humana.

*7.1.2.2. Modelos de ojo seco evaporativo agudos frente a crónicos.* Los modelos de EOS existentes se han creado en el entorno agudo [509,535], lo que plantea interrogantes en torno a qué relación guardan los hallazgos obtenidos en estos modelos con los del entorno clínico, donde la EOS generalmente suele encontrarse como un trastorno crónico. Recientemente se ha desarrollado un modelo murino de EOS crónica que trata de abordar esta cuestión [541]. En resumen, inicialmente la EOS aguda se inducía utilizando el mismo método de DES durante 14 días, y después se transfería a los ratones afectados a un entorno con humedad normal y se los mantenía otros 4 meses sin provocación por DES o SCP. La gravedad de la EOS alcanzaba su máximo al final del DES y, tras retirarles del DES, la epiteliopatía corneal iba regresando gradualmente a unos niveles más bajos, pero nunca se normalizaban. Además, la fase crónica iba acompañada de respuestas de Th17 en la superficie ocular. Estos hallazgos indican que, tras la inducción de una EOS aguda, la epiteliopatía y la inflamación corneales pueden persistir en una fase crónica a largo plazo, aunque no continúe la exposición a DES.

Los ratones seleccionados para su uso en este estudio crónico casi no mostraban tinción corneal con fluoresceína al inicio del experimento [542]. Por el contrario, los ratones sin tratar parecen mostrar típicamente una tinción más elevada y variable [82,1213,1214], al igual que ocurre en humanos (véase la sección 4.14.1). Sería interesante averiguar si este modelo crónico se reproduce en ratones con mayores grados iniciales de tinción

corneal con fluoresceína.

*7.1.2.3. Un modelo para el ojo seco relacionado con la edad.* Otro modelo crónico de EOS es el ratón anciano C57BL/6, que también desarrolla EOS y DGM espontáneas [545]. Curiosamente, los ratones hembras y machos mostraron una pérdida similar de células caliciformes, pero se observó una mayor tinción corneal en los ratones hembra. La transferencia adoptiva de linfocitos T CD4<sup>+</sup> ancianos trasladó el fenotipo de EOS a ratones RAG1KO, lo que indica que el envejecimiento conduce a la generación de linfocitos T autorreactivos espontáneos [545]. El hallazgo de linfocitos tanto del fenotipo Th1 como del Th17 activados espontáneamente en los ratones ancianos merece una investigación más detallada.

*7.1.2.4. Relevancia de los modelos murinos para las enfermedades inflamatorias humanas.* Los modelos murinos puede ser de una inestimable ayuda para aclarar los procesos fisiológicos y patológicos subyacentes en numerosas afecciones humanas. Lo ideal sería que estos conocimientos se pudieran traducir en tratamientos para diversas enfermedades humanas. Sin embargo, los tratamientos potenciales que se han descubierto y validado en modelos murinos no siempre se transforman con éxito en tratamientos humanos. Esto se aplica especialmente a los tratamientos dirigidos a las vías inflamatorias.

Las respuestas genómicas a las provocaciones inflamatorias han mostrado correlaciones bajas entre distintos modelos murinos y las respuestas humanas [546]. Aunque existen estudios que indican que los hallazgos experimentales con ratones pueden ser predictivos del éxito terapéutico en seres humanos [547,548], el hecho es que han fracasado casi 150 ensayos clínicos sobre tratamientos antiinflamatorios experimentales basados en datos murinos [546], incluidos varios tratamientos potenciales para la EOS [549]. Algunos de estos ensayos clínicos se basaron en datos de modelos murinos de DES [514,550,1218] y de toxina botulínica [551]. Estos resultados ponen de relieve la necesidad de ver si un modelo murino determinado imita o no a la enfermedad humana correspondiente [546,552,1204].

## 7.2. Modelos animales de ojo seco por síndrome de Sjögren

### 7.2.1. Introducción

El síndrome de Sjögren es un trastorno autoinmunitario crónico que afecta a las glándulas exocrinas, sobre todo a las lagrimales y a las salivales, lo que provoca EOS y xerostomía, además de afectar a otros sistemas orgánicos. Las características clínicas de la enfermedad humana se examinarán en una sección posterior de este informe.

Se han utilizado varios modelos animales para estudiar la patogenia del síndrome de Sjögren y han proporcionado información acerca de este trastorno, incluida su heterogeneidad (Tabla 8). Aunque los modelos animales reproducen uno o más aspectos del síndrome de Sjögren, no existe un modelo perfecto. Esta sección se centra en los acontecimientos oculares en modelos murinos autoinmunitarios.

### 7.2.2. Modelos animales del síndrome de Sjögren

Una revisión de la bibliografía sobre modelos animales muestra una dicotomía en los informes, con investigaciones reumatológicas

centradas en la glándula salival como órgano diana e investigaciones oftalmológicas dirigidas a la glándula lagrimal. Con la excepción de los estudios con ratones MRL/lpr, NZB/NZW y NOD [553-556], existe relativamente escasa información comparativa acerca de la patología salival y lagrimal en los mismos animales. Las manifestaciones oculares se han estudiado menos en modelos de roedores. Es necesario llevar a cabo más estudios que engloben los cambios patológicos producidos en ambos órganos y que sean capaces de detectar vías comunes de destrucción glandular y establecer diferencias glandulares específicas. La secuencia temporal de los acontecimientos patológicos puede ser una guía para los mecanismos celulares y moleculares. Aún no está claro hasta qué punto las manifestaciones producidas en la superficie ocular en el síndrome de Sjögren son secundarias a una afectación de las glándulas lagrimales o de las de Meibomio o a la influencia de autoantígenos corneales y conjuntivales.

La influencia de la edad, la duración de la enfermedad y el sexo es importante en el síndrome de Sjögren humano, y la edad es uno de los factores de riesgo más potentes para la EOS [557-561]. De modo similar, en modelos animales, el fenotipo completo del síndrome de Sjögren suele tardar en evolucionar [536,562,563]. Existen dos modelos que ilustran bien este punto. En primer lugar, como ya se ha dicho, los ratones C57BL/6 no inmunes desarrollan espontáneamente una EOS lagrimodependiente a partir de la edad posmenopáusica (6-9 meses), hasta la edad anciana de 24 meses [545]. En segundo lugar, el ratón diabético no obeso (NOD), estirpe variante (NOD.B10.H2<sup>b</sup>), posee un fenotipo de síndrome de Sjögren leve a las 10 semanas de edad, pero desarrolla dacrioadenitis y EOS graves al año de edad [564]. Esto indica que se necesita un nivel determinado de disregulación inmunitaria para establecer el fenotipo del síndrome de Sjögren histológico, dependiente de factores tales como la acumulación de linfocitos en los tejidos, la pérdida de linfocitos T reguladores o la generación de autoanticuerpos. De modo similar al síndrome de Sjögren humano, la presencia de lesiones histológicas se considera uno de los criterios más importantes para diagnosticar este síndrome en modelos animales [565].

El fuerte predominio del síndrome de Sjögren entre las mujeres se ha asociado en gran parte a diferencias relacionadas con el sexo en el sistema inmunitario y a la acción de los esteroides sexuales sobre dicho sistema. Todo esto se debate con detenimiento en el informe del Subcomité de Sexo, género y hormonas. La EOS no asociada al síndrome de Sjögren (OSNS) también es más prevalente en las mujeres que en los hombres [559,566,567]. En los modelos animales se han hecho algunas observaciones curiosas. En el ratón NOD, un modelo del síndrome de Sjögren, la susceptibilidad de la glándula lagrimal y de la salival a la infiltración inflamatoria muestra un fuerte sesgo sexual, ya que en los ratones hembra se desarrolla sialoadenitis y en los machos dacrioadenitis [568]. Por el contrario, al igual que en el ser humano, la inflamación es significativamente mayor en las glándulas lagrimales y salivales de los ratones MRL/lpr hembras, en comparación con los machos de la misma edad [569]. Por desgracia, solo existe escasa información acerca de las diferencias relacionadas con el sexo en las glándulas lagrimales y salivales en los modelos animales de síndrome de Sjögren [555,556,569,570].

### 7.2.3. Una consideración sobre determinados modelos

Los rasgos distintivos del síndrome de Sjögren son infiltración

linfocítica, producción de autoanticuerpos y pérdida glandular secundaria a apoptosis epitelial. Aún no está claro si la infiltración linfocítica precede o es necesaria para la apoptosis glandular, y no se han identificado el o los antígenos correspondientes. La sección siguiente agrupa los distintos modelos del síndrome de Sjögren en función de su posible relevancia para la patogenia de este síndrome en el ser humano. El agrupamiento es algo arbitrario, ya que muchos modelos se pueden incluir en más de una categoría.

*7.2.3.1. Linfocitos T autorreactivos infiltrantes.* La presencia de linfocitos T autorreactivos activados dentro de las glándulas lagrimales o salivales constituye un rasgo patognomónico del síndrome de Sjögren humano, y la *puntuación focal* (el número de infiltrados de leucocitos mononucleares que contienen al menos 50 células inflamatorias en un corte glandular de 4 mm<sup>2</sup>) en una biopsia de glándula salival menor forma parte integrante de los criterios de clasificación internacionales actuales para el síndrome de Sjögren [565,571]. Otros componentes son la presencia de anticuerpos en suero, así como la evidencia subjetiva y objetiva de EOS y de xerostomía. Aquí podemos incluir varios modelos para el síndrome de Sjögren que muestran infiltración glandular de linfocitos T, como los ratones NOD, CD25KO, Scurfy, MRL/lpr, AIRE-KO, IL-12 transgénico (Tg), C57BL/6.NOD-Aec1Aec2 (Aec), NOD.B10.H2<sup>b</sup> y Osteopontina (OPN) Tg.

En ratones MRL/lpr, una disrupción determinada genéticamente del sistema de ligandos Fas-Fas conduce a la infiltración de los tejidos por parte de los linfocitos, muchos de los cuales son linfocitos T [572,573,1205]. Curiosamente, el trasfondo genético en el que se produce la mutación Fas influye sobre el fenotipo y la gravedad de la dacrioadenitis y de la pérdida de células caliciformes [574-576]. Las dos estirpes consanguíneas de ratón utilizadas con mayor frecuencia muestran un sesgo distinto en su capacidad para generar una respuesta inmunitaria: Los ratones BALB/c y C57BL/6 están polarizados hacia una respuesta de Th2 y Th1, respectivamente [577]. Esto puede explicar por qué la densidad de las células caliciformes se ve influida por el trasfondo genético en la mutación MRL/lpr, con una densidad de las células caliciformes superior en los ratones MRL/lpr.BALB/c y menor en los MRL/lpr.B6, en comparación con los ratones de control normales respectivos [578,579].

Tanto en los ratones CD25KO como en los KO para el gen regulador autoinmunitario (AIRE), la disrupción de la tolerancia inmunitaria da paso a una destrucción acelerada de las glándulas lagrimales, con un fenotipo grave [580-582]. CD25 es la cadena  $\alpha$  del receptor de IL-2, el brazo de unión del receptor heterotrimérico IL-2 [583-585]. Se expresa en los linfocitos T y B. En su ausencia, al igual que en los CD25 knockout (CD25KO), las células son incapaces de responder a IL-2, no se genera ningún linfocito T regulador, surgen linfocitos T autorreactivos espontáneamente y estas células no llegan a experimentar una muerte celular inducida por la activación [586,587]. Los ratones CD25KO desarrollan dacrioadenitis y autoinmunidad sistémica dependientes de la edad. Esto se ve acompañado de tinción de la superficie ocular, pérdida de células caliciformes y aparición de anticuerpos M3R [536,582].

Los ratones que carecen de AIRE KO desarrollan una enfermedad autoinmune mediada por los linfocitos T CD4<sup>+</sup> que afecta a diversos órganos, como las glándulas lagrimales y la superficie ocular [588]. El ratón AIRE KO en un entorno NOD

muestra metaplasia escamosa grave y tinción de la superficie ocular paralela al nivel de infiltración de las glándulas lagrimales [588,589], mientras que esa misma mutación en un entorno C57BL/6 conduce a la pérdida significativa de células caliciformes y la infiltración de linfocitos T CD4<sup>+</sup> en la córnea y en la región meibomiana periglandular, en comparación con los animales de control normales [590].

Aunque existen pruebas de un papel de los linfocitos Th17<sup>+</sup> en la disrupción de la barrera corneal y en la sialoadenitis [516,526,591], su función en la dacrioadenitis sigue siendo controvertida. Algunos de los modelos autoinmunitarios que se han utilizado para investigar la dacrioadenitis han sido tanto linfocitos Th1<sup>+</sup> como Th17<sup>+</sup> infiltrados en la glándula lagrimal, lo que ha dificultado la determinación de las contribuciones individuales de los subconjuntos de Th (TSP-1 KO, MRL/lpr, CD25KO y Aec). La dacrioadenitis en CD25-IL-17DKO aparecía antes y era más extensa que en la estirpe progenitora CD25KO, y se veía acompañada por una mayor expresión de receptores IFN- $\gamma$  y de los niveles de caspasa 3 [562], lo cual apunta a que la IL-17A puede desempeñar un papel menor en el equilibrio del IFN- $\gamma$ . Los linfocitos Th-1<sup>+</sup> están implicados en la colitis, en la uveítis autoinmunitaria experimental y en el síndrome de Sjögren [475,478,532,562,582,592]. Tanto los ratones NOD. IFN- $\gamma$  KO como los KO para receptores NOD. IFN- $\gamma$  muestran una sialoadenitis con mejoría [593], y se observa el mismo patrón en los CD25-IFN- $\gamma$  DKO [536,562]. Estos hallazgos indican que en la dacrioadenitis interviene una mezcla de linfocitos Th1 y Th17, y que los tratamientos dirigidos a más de un subconjunto pueden ser beneficiosos en el síndrome de Sjögren.

**7.2.3.2. Señalización TGF- $\beta$  disruptiva.** El factor de crecimiento y transformación beta (TGF- $\beta$ ) es una citocina pleótrona involucrada en la diferenciación epitelial, la mitosis, la motilidad celular, la fibrosis y la inmunorregulación [308]. TGF- $\beta$  es crítico para la inducción de células CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>, los linfocitos T reguladores que contribuyen a vigilar otras células [594], pero también de linfocitos T colaboradores (Th) 17 [595]. Los ratones con anulación de TGF- $\beta$  sucumben a una autoinmunidad sistémica masiva que afecta a ambos tipos de glándulas exocrinas poco después del nacimiento, lo que dificulta la investigación del papel específico del TGF- $\beta$  en el síndrome de Sjögren [596-598]. Otros dos modelos animales con señalización TGF- $\beta$  disruptiva desarrollan síndrome de Sjögren moderado con el envejecimiento: el knock-out de trombospondina-1 (TSP-1) KO y el receptor TGF- $\beta$  dominante negativo de tipo II (DN TGFBR2). Estos ratones desarrollan dacrioadenitis y manifestaciones en la superficie ocular acompañadas de respuestas de Th1 y Th17 [563,599]. Los ratones TSP-1KO también poseen anticuerpos anti-SSA y anti-SSB en suero [563]. El doble papel del TGF- $\beta$  en la promoción de Treg (antiinflamatorios) y en la generación de linfocitos Th17<sup>+</sup> se puede apreciar mejor sometiendo a ratones DN TGFBR2 y TSP1KO a DES, donde los linfocitos Th17 participan en la disrupción de la barrera corneal [529]. Curiosamente, ambos modelos muestran una paradójica mejoría de la tinción corneal en comparación con sus propios niveles basales previos a la exposición a DES [105,600]. Se ha visto que este efecto está mediado por las células dendríticas (CD) en los ratones TSP-1KO [600]. Los polimorfismos en el gen de la trombospondina se han asociado a inflamación crónica de la superficie ocular subsiguiente a cirugía refractiva en soldados del ejército estadounidense en activo [601]. Serán necesarios más estudios en el futuro para discernir el papel específico del TGF- $\beta$  en el síndrome

de Sjögren.

**7.2.3.3. Apoptosis glandular.** La apoptosis glandular es otro rasgo característico del síndrome de Sjögren, y está presente de forma ubicua en casi todos los modelos del síndrome de Sjögren. No está claro si sigue o precede a la infiltración inmunitaria, dado que se desconoce cuál es el desencadenante inicial del síndrome de Sjögren. Un artículo reciente ha señalado que las células del epitelio lagrimal con deficiencia de I $\kappa$ B- $\zeta$  exhibían una apoptosis potenciada previa a la infiltración linfocítica, lo que demuestra que la muerte de las células epiteliales puede ser un factor iniciador en el síndrome de Sjögren [602]. Existen pruebas que indican que diversas células inmunitarias participan en la desorganización y en la apoptosis de las glándulas exocrinas.

Se ha implicado al IFN- $\gamma$  en la pérdida de células epiteliales, al inducir apoptosis en estirpes celulares de glándulas salivales [603,604]. Como hemos dicho antes, los ratones NOD.IFN- $\gamma$  KO y KO para los receptores de NOD.IFN- $\gamma$  presentan una puntuación focal en las glándulas salivales y una actividad de la caspasa 3 inferiores a las de la estirpe NOD [593], y los ratones CD25-IFN- $\gamma$  doble KO muestran unos niveles de caspasa 3 significativamente más bajos y un menor grado de dacrioadenitis en comparación con la estirpe progenitora CD25<sup>+</sup>KO [536,562]. Las células caliciformes conjuntivales cultivadas de rata y humanas son exquisitamente sensibles al IFN- $\gamma$ , y concentraciones mínimas de esta sustancia provocan apoptosis [605]. En otro trabajo, el IFN- $\gamma$  bloqueó la secreción de glicoconjugados de alto peso molecular inducidos por carbacol y redujo la proliferación de células caliciformes [606]. Los autores concluyeron que esto podría explicar la pérdida de células caliciformes y la deficiencia de mucina en la EOS. Estos estudios indican que el epitelio glandular puede funcionar por un lado como iniciador y por otro como diana de los linfocitos infiltrantes por vecindad.

**7.2.3.4. Los linfocitos B y los modelos de inmunización.** El SS va acompañado de actividad de linfocitos B policlonales, y los pacientes con síndrome de Sjögren presentan un mayor riesgo de linfoma que la población general [607-609]. El incremento de los autoanticuerpos en suero (anti-SSA/Ro de 52 kDa, anti-SSA/Ro de 60 kDa, anti-SSB/La, factor reumatoide, anti- $\alpha$ -fodrina, receptor antimuscarínico de tipo 3 [M3R]) se ha utilizado como criterio diagnóstico [565,610], pero algunos pacientes con SS dan negativo para autoanticuerpos séricos.

El BAFF (factor activador de los linfocitos B) es un miembro de la superfamilia del TNF y regula la supervivencia de los linfocitos B. Los ratones BAFF Tg, utilizados sobre todo como modelo de lupus eritematoso sistémico (SLE) en la juventud, desarrollan infiltración leucocitaria de las glándulas submandibulares a medida que envejecen [611]. Act-1 es un regulador negativo de BAFF y de CD40<sup>+</sup>. Los ratones Act-1tg y Act-1<sup>-/-</sup> desarrollan infiltración de linfocitos B y T tanto en las glándulas lagrimales como en las salivales (glándula salival > glándula lagrimal), y presentan anticuerpos anti-SSA y anti-SSB [612]. Los ratones NOD modificados con dificultades para segregar IgG1 también exhiben un fenotipo salival mejorado (NOD.IL4 KO; NOD.B10.H2b.IL-4 KO; NOD. NOD.B10-H2b.C-Stat6 KO) [613,614]. Estudios recientes con ratones M3R KO inmunizados con péptidos M3R han revelado que los linfocitos T autorreactivos M3R pueden transferir sialoadenitis a ratones inmunodeficientes [615-617]. También han observado que,

de modo similar a los modelos NOD y CD25<sup>-</sup>KO, el IFN- $\gamma$  es crítico en la inducción de la apoptosis glandular, ya que los receptores de transferencia adoptiva de células M3R-IFN- $\gamma$  DKO inmunizadas con péptido M3R no mostraban ni una puntuación significativa en inflamación ni apoptosis [616].

7.2.3.5. *Efecto del DES sobre las respuestas autoinmunitarias.* La respuesta autoinmunitaria de los ratones al DES se ha investigado en algunas ocasiones. Yoon y sus colaboradores describieron una mayor infiltración conjuntival y tinción corneal al someter a ratones NOD.B10.H2<sup>b</sup> de 16 semanas a DES [618]. Una vez retirado el DES, los ratones NOD.B10.H2<sup>b</sup> mostraron una producción de lágrima persistentemente menor, pérdida de células caliciformes y aumento de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> con respecto a los ratones C57BL/6, lo que indica que el DES tenía efectos prolongados en estirpes genéticamente susceptibles [619]. En algunas otras estirpes, como DN TGFBR2 y TSP1KO, la tinción corneal y las cifras de células caliciformes mejoraron después del DES [600]. La interacción entre la susceptibilidad genética y el DES requiere un estudio más detallado.

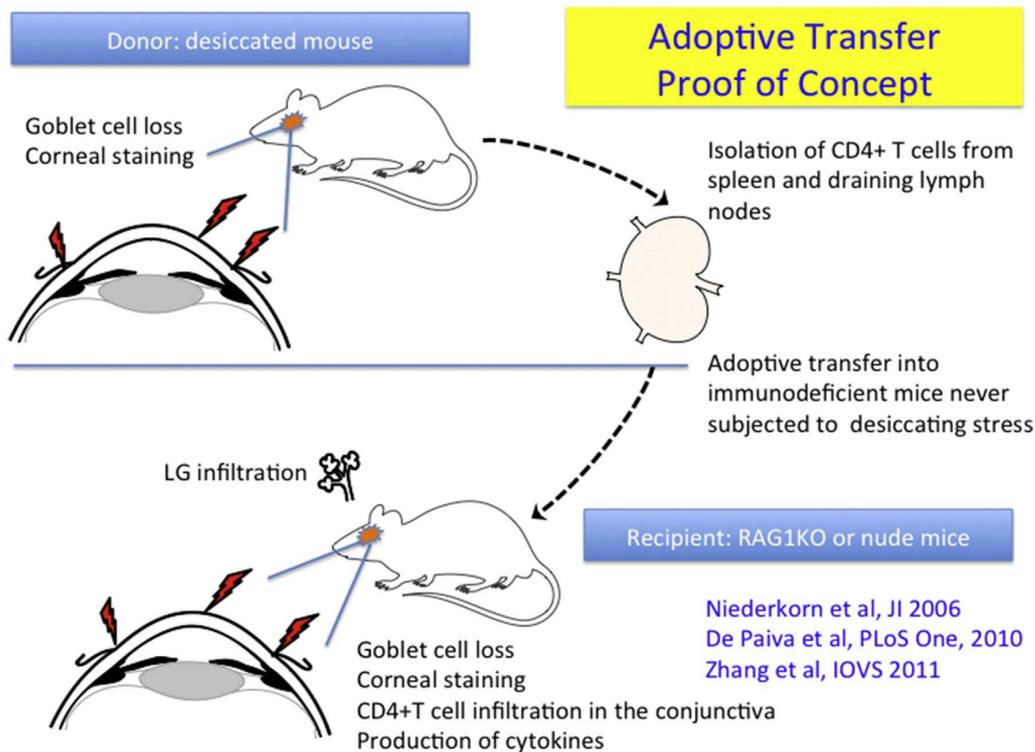
### 7.3. Modelos animales de disfunción de las glándulas de Meibomio

Idealmente, un modelo animal de DGM humana manifestaría los signos de esta enfermedad humana, así como las secuelas sobre la película lagrimal y la superficie ocular asociadas a la DGM y el OSE humanos. Los signos de DGM humana incluyen, entre otros, la obstrucción de los orificios de las glándulas de Meibomio y la metaplasia de dichos orificios (afección definida como un crecimiento y queratinización atípicos del epitelio ductal [1219]),

una menor calidad y alteración del perfil lipídico del meibo, dilatación quística del conducto central y atrofia y pérdida acinares [36,494,495,620-627,1206]. Los indicios de hiperqueratinización del conducto terminal de las glándulas de Meibomio son importantes, dado que se trata de un rasgo predominante de la DGM humana [36,494,620-622,624,627]. Asimismo, la DGM y la insuficiencia resultante de meibo promueven la hiperosmolaridad, la inestabilidad y la evaporación de la película lagrimal y generan estrés sobre la superficie ocular, además de conducir a una mayor fricción, inflamación y daño ocular (p. ej., metaplasia escamosa corneal, pérdida de microvellosidades corneales, disrupción del glucocáliz) y deficiencia visual [1,36,190,196,549,628-632,1207]. El meibo en la EOS humana también contiene inclusiones positivas para citoqueratina [183].

Hasta la fecha se ha encontrado o creado una serie de modelos animales de DGM que imitan, al menos en parte, a la DGM humana. Se han inducido modelos de mono [633] y de conejo [39,634-636,1208] que presentan hiperqueratinización del epitelio del conducto terminal de las glándulas de Meibomio y obstrucción de los orificios de dichas glándulas por intoxicación con bifenilo policlorado [633], exposición sistémica a isotretinoína [1208] y administración tópica de epinefrina [39,634-636]. Un hallazgo histopatológico frecuente en estos modelos de mono y de conejo es una dilatación anormal de los conductos, cuya luz aparece llena de materiales queratinizados.

De modo similar, se han descubierto o desarrollado modelos de DGM en roedores. Estos pueden ser naturales o haberse generado mediante tecnologías transgénicas o de knockout, mutaciones, inmunización, tratamiento farmacéutico, exposición a estrés



**Fig. 10.** Representación esquemática de los experimentos sobre transferencia adoptiva. Los ratones sometidos a estrés desecante (DES) mostraron pérdida de células caliciformes, tinción corneal e infiltración de linfocitos T CD4<sup>+</sup> en la conjuntiva. Se aislaron linfocitos T CD4<sup>+</sup> del bazo y de ganglios linfáticos secretorios cervicales mediante microesferas magnéticas, y se transfirieron de forma adoptiva a ratones inmunodeficientes que nunca habían estado expuestos a DES. Los receptores de la transferencia adoptiva de linfocitos T CD4<sup>+</sup> desarrollaron EOS, con infiltración de las glándulas lagrimales (GL), tinción corneal, pérdida de células caliciformes, infiltración de linfocitos T CD4<sup>+</sup> en la conjuntiva y producción de citoquinas y de metaloproteinasas de la matriz, con lo que se reproducía el fenotipo de la EOS observado en los ratones donantes.

desecante o alteraciones nutricionales (Tabla 9). Las estirpes resultantes pueden exhibir diversos fenotipos, como hiperqueratinización ductal, obstrucción de los orificios de las glándulas de Meibomio, meibo y conductos engrosados con materiales queratinizados, y atrofia, aplasia y pérdida de células acinares (véase la bibliografía de la Tabla 9).

Las tres estirpes siguientes muestran muchos de estos aspectos.

En primer lugar tenemos un modelo inducido en ratones lampiños HR-1 a base de alimentarlos con una dieta especial de contenido lipídico limitado (HR-AD) [637]. Este modelo se desarrolló para facilitar el conocimiento de la fisiopatología de la DGM. Después de exponerlos a esta alimentación durante 4 semanas, los ratones mostraron hiperqueratinización del epitelio ductal de las glándulas de Meibomio, pérdida de los ácinos de estas glándulas y, en último término, atrofia de esas glándulas. La exploración clínica de estos ratones revela unos orificios de las glándulas de Meibomio considerablemente taponados (es decir, obstruidos), telangiectasia y un meibo de consistencia similar a la de la pasta de dientes en comparación con un párpado normal. Resulta especialmente interesante que un tratamiento con azitromicina tópica en este modelo murino reduzca significativamente el número de orificios taponados, la queratinización del epitelio ductal de las glándulas de Meibomio, el grosor de los conductos de dichas glándulas y la atrofia de estas últimas [637]. Se sabe que la azitromicina a su vez induce diferenciación celular en el epitelio de las glándulas de Meibomio humanas [53,638-640], y es un tratamiento muy habitual para la DGM humana [641].

Un segundo modelo se ha inducido mediante un tratamiento con isotretinoína [642], un factor de riesgo conocido y significativo para el desarrollo de DGM humana [643-652]. El tratamiento de ratas durante 3 meses con isotretinoína condujo a una queratinización y engrosamiento del epitelio ductal de las glándulas de Meibomio, a un descenso en la cantidad y tamaño de los ácinos, y a numerosos ácinos y cilindros de células acinares degenerados en los conductos de las glándulas de Meibomio. Estos efectos provocados por la isotretinoína podrían inhibirse mediante un tratamiento con deshidroepiandrosterona, presumiblemente, según los investigadores, a través de la conversión en andrógenos [642]. A su vez, los andrógenos tópicos han mostrado su eficacia en el tratamiento de la DGM humana [653] (véase el informe del Subcomité de Sexo, género y hormonas).

Un tercer modelo implica una interferencia con la acción de la hormona del crecimiento (GH) [57]. Aquí se incluyen los ratones transgénicos con antagonistas (A) de receptores (R) (GHA) con GH reducida, así como los ratones GHR KO sin actividad de la GH. Muchas de las glándulas de Meibomio en ratones GHA y GHR KO presentan conductos hiperqueratinizados y engrosados con materiales queratinizados, inserción de ácinos secretores en las paredes de los conductos y ácinos mal diferenciados. Los ratones GHR KO y GHA también muestran glándulas de Meibomio significativamente más pequeñas que los ratones de control naturales [57]. Dado que los niveles de GH disminuyen con el envejecimiento, es posible que este descenso contribuya al desarrollo de DGM relacionada con la edad [1216].

Recientemente, Jester et al. han planteado la hipótesis de que la diana primaria en la DGM es la glándula de Meibomio, en lugar de la hiperqueratinización ductal [654]. Dicha hipótesis se basa en

estudios efectuados en modelos murinos relacionados con la edad [655] y con estrés evaporativo [656]. Proponen que el elemento principal de la DGM es la atrofia glandular por pérdida de progenitores meibocíticos. Jester et al. indican también que el estrés desecante en ratones da lugar a una fase de hiperproliferación acinar, con un cambio en la proporción de proteínas/lípidos que genera una mayor viscosidad lipídica. Según esta idea, los tapones epiteliales de los conductos glandulares no contienen queratinas totalmente maduras [654]. Obata y sus colaboradores han observado también una correlación relacionada con la edad entre la pérdida de células epiteliales acinares en las glándulas de Meibomio y el envejecimiento [495,624]. Por el contrario, otros investigadores han descrito queratinización y obstrucción y metaplasia de los orificios de las glándulas de Meibomio asociados a la DGM humana no solo durante el envejecimiento [627], sino también en general [36,494,620-622,624]. Por otra parte, también se han encontrado grandes cantidades de inclusiones proteínicas no lipídicas que se tiñen con citoqueratina en meibo anormal de pacientes con EOS [183]. Estas inclusiones puede que sean una representación de los materiales queratinizados que aparecen en el meibo turbio de los ancianos [657].

Algunos de los modelos murinos enumerados en la Tabla 9 también pueden ser de utilidad para los estudios sobre EOS evaporativa y sus secuelas correspondientes en la superficie ocular. En consonancia con esta propuesta se encuentran las observaciones de que la ausencia de GM en la displasia ectodérmica anhidrótica/hipohidrótica ligada al X se asocia a una mayor evaporación lagrimal, escasez y acortamiento de las microvellosidades corneales (nota: lo cual supondría una disrupción en el glucocáliz [658]), defectos corneales (p. ej., neovascularización, queratinización y metaplasia escamosa), así como inflamación de la superficie ocular [1145,1215]. Igualmente, la atrofia de las GM en ratones knockout para acil-CoA:colesterol aciltransferasa-1 se asocia a erosiones corneales [660].

Otros modelos murinos que exhiben alteraciones pronunciadas en la estructura y funcionalidad de las glándulas sebáceas (Tabla 9) también pueden servir de modelos para la DGM. Sin embargo, aún es preciso llevar a cabo estudios para examinar estas posibilidades.

#### 7.4. El microbioma de la superficie ocular

Existen indicios de que los microbiomas del intestino y de la superficie ocular pueden influir en la aparición de EOS. La superficie ocular se halla expuesta constantemente al entorno, pero, a diferencia de los bordes palpebrales, constituye un lugar relativamente estéril, según los estudios efectuados con frotis conjuntivales [661,662]. La microbiota de la superficie ocular está regulada por numerosos factores antimicrobianos producidos por las glándulas lagrimales, las células caliciformes y la conjuntiva que se segregan en las lágrimas, como la lactoferrina, la lisozima, las defensinas  $\alpha$  y  $\beta$  y la IgA [459-461,663]. Últimamente se ha despertado un gran interés por las interacciones entre el hospedador y la microbiota.

El término microbiota hace referencia a la comunidad microbiana que habita en un lugar determinado, y el microbioma se refiere a sus genomas colectivos. Entre las técnicas utilizadas para evaluar el microbioma se encuentran las de cultivo microbiano tradicional y las exentas de cultivo, como la reacción en cadena de

la polimerasa (PCR) y la amplificación y secuenciación de ADN ribosómico 16S [664-666]. La bibliografía no es clara en cuanto a la presencia de microbiota en la superficie ocular [665,667,668], ya que algunos autores han encontrado una presencia estable que se puede alterar en caso de enfermedad, mientras que otros indican que existen microorganismos de forma transitoria, antes de ser aniquilados por los mecanismos de defensa de la superficie ocular. Recientemente se ha llegado a un consenso según el cual la superficie ocular es un entorno paucibacteriano, pero no estéril [665,668].

Los microbios que se obtienen con mayor frecuencia mediante cultivo de la superficie conjuntival con técnicas tradicionales son estafilococos y *Propionibacterium acnes*, y técnicas más recientes indican que existen muchos más géneros por encontrar [664,665,668,669]. Los frotis de los bordes palpebrales revelan especies similares, aunque en un mayor número de unidades formadoras de colonias [667].

Es importante conocer el papel del microbioma en la EOS, ya que esto puede abrir nuevas vías de tratamiento. En un estudio de Graham et al. se evaluaron la población bacteriana del borde palpebral posterior y del saco conjuntival inferior de pacientes con y sin EOS mediante cultivo convencional y PCR de ADNr 16S [669]. Se detectó un número considerablemente mayor de bacterias mediante la técnica de la PCR con ADNr 16S en comparación con el cultivo convencional, que proporcionó gran cantidad de estafilococos negativos para coagulasa [669]. Curiosamente, se han detectado bacterias que, en otros casos, rara vez se asocian a la superficie ocular (*Rhodococcus erythropolis*, *Klebsiella oxytoca* y *Erwinia species*) en la EOS inflamatoria, así como en la superficie ocular normal [669]. Se ha observado una diferencia significativa en los recuentos bacterianos medios entre el grupo de control y los grupos de EOS de moderada a grave, resultados respaldados por otros investigadores [670]. Asimismo, los autores encontraron que una menor densidad de células caliciformes se asociaba a una mayor presencia bacteriana [669]. Otro estudio que comparó el microbioma ocular, bucal e intestinal de sujetos de control y de pacientes con síndrome de Sjögren reveló que no había diferencias en el microbioma ocular entre ambos grupos [668]. Se observó una menor diversidad tanto en el microbioma bucal como en el intestinal, y se han percibido cambios específicos en los géneros. Hubo un descenso relativo de la abundancia de *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Faecalibacterium* y *Prevotella*, con mayores abundancias relativas de *Pseudobutyrvibrio*, *Escherichia/Shigella*, *Blautia* y *Streptococcus* en los pacientes con síndrome de Sjögren en comparación con los de control. Además, las puntuaciones de intensidad ocular y sistémica guardaban una correlación inversa con la diversidad microbiana [668].

Otro estudio descubrió cambios en la microbiota de la superficie ocular producidos en las fases tempranas de la enfermedad similar al síndrome de Sjögren en ratones knock-out para transpondina (TSP-1KO), lo que condujo a la recomendación de que los péptidos derivados de la TSP-1 podían ser una forma de reducir la flora comensal y la inflamación resultante [671].

Entre las herramientas para investigar el papel del microbioma en la homeostasis y en los estados patológicos se encuentran el uso de ratones axénicos o el sometimiento de ratones a un cóctel de antibióticos, ya sea a través del agua de bebida o mediante administración oral forzada. El tratamiento con antibióticos

provoca cambios en la comunidad bacteriana, lo que desemboca en un estado disbiótico. Se ha descrito recientemente que los ratones sometidos a DES que tomaron antibióticos por vía oral con la bebida durante 14 días antes del DES mostraban una mayor pérdida de células caliciformes, mayor infiltración de linfocitos T y peor tinción corneal que los sometidos al mismo protocolo pero que bebieron agua normal [668]. La secuenciación mediante 16S de las deposiciones de estos ratones indicó una disminución de *Clostridium* y un incremento de *Enterobacter*, *Escherichia/Shigella* y *Pseudomonas* después de someterlos a antibióticos + DES durante 10 días.

Un entorno axénico es muy perjudicial para la homeostasis ocular en el ratón, ya que lo predispone a o empeora la enfermedad similar al síndrome de Sjögren en ratones no autoinmunitarios y genéticamente predispuestos, respectivamente [668,672]. Los ratones C57BL/6 no autoinmunitarios criados en condiciones axénicas presentan características similares a las del síndrome de Sjögren, como dacrioadenitis y descenso de la concentración de EGF en la lágrima. Esto se vio acompañado de tinción corneal, pérdida de células caliciformes e infiltración patógena de linfocitos T CD4+ [672].

Por otro lado, los ratones CD25KO axénicos presentan dacrioadenitis de nueva aparición y mayores números de linfocitos CD4+IFN- $\gamma$ + infiltrantes en las glándulas lagrimales de los receptores de RAG1KO. Estos resultados indican que las señales que proporcionan las bacterias comensales o sus metabolitos son capaces de modular la salud ocular.

#### 7.5. Modelos celulares de ojo seco *in vitro*

Se han utilizado cultivos de células de la superficie ocular para explorar el papel de numerosos factores y vías involucrados en la fisiopatología y el posible tratamiento de la EOS. Varios de estos cultivos también se han observado que sirven como modelos de EOS *in vitro*.

Tres modelos de EOS utilizan la córnea. Uno de ellos usa cultivos corneales de conejo con periodos experimentales de hasta 21 días [673]. Los estudios con este modelo han empleado tomografía de coherencia óptica para vigilar el impacto del DES, centrándose en los cambios del espesor de la capa corneal y en las propiedades de dispersión estromal [673]. Otro modelo de EOS *in vitro* utiliza epitelio corneal humano reconstruido mantenido en un entorno ambiental controlado (humedad relativa <40 % y temperatura de 40 °C) durante un máximo de 24 h y hasta 72 h [674]. Las condiciones de cultivo están controladas para imitar a las de la EOS, y por tanto permiten la identificación de biomarcadores que puedan ser predictivos de daño corneal y de respuesta al tratamiento. Un tercer modelo de EOS usa epitelio corneal humano reconstruido para evaluar los efectos del estrés osmótico intenso y del tratamiento asociado sobre la actividad de la vía inflamatoria y la integridad de la barrera [675].

Un cuarto modelo de EOS emplea células epiteliales de glándulas de Meibomio humanas inmortalizadas [50]. Este modelo implica la exposición de estas células *in vitro* a isotretinoína [45], un factor de riesgo bien conocido para el desarrollo de DGM humana *in vivo* [643-652]. Exposición de células epiteliales de glándulas de Meibomio humanas a isotretinoína: [a] altera la expresión de miles de genes, lo que incluye la regulación al alza de los genes

de ciertos mediadores inflamatorios (p. ej., IL-8 e IL-1 $\beta$ ), proteasas (p. ej., MMP-9), señalización MAPK, vesículas líticas, apoptosis y muerte celular, y suprime los genes vinculados a la replicación del ADN, el ciclo celular, el transporte de ARN y las mitocondrias; [b] incrementa los niveles de las proteínas pro-IL-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$  y MMP-9; [c] disminuye la señalización del mediador de crecimiento y supervivencia celular fosfoinositida 3-cinasa/proteína cinasa B; y [d] inhibe la proliferación celular e induce la atrofia y la muerte celulares (p. ej., por apoptosis, necrosis o autofagia) [45]. Es posible

que estos efectos puedan ser responsables de la degeneración y atrofia de las células epiteliales acinares y de la reducción y producción anormal de secreciones que se dan después de la inducción de DGM humana con isotretinoína *in vivo* [643-652].

**Tabla 8**  
Modelos murinos del síndrome de Sjögren.

Edad de aparición	Modelo	Predominio sexual	Mecanismo principal	Principales órganos afectados	Referencias bibliográficas
0-3 semanas	TGF- $\beta$ KO	♀ = ♂	Delección génica de TGF- $\beta$	Autoinmunidad sistémica letal, incluidas las GL	(Shull et al., 1992, McCartney-Francis et al., 1997) [596,1112]
	Scurfy	♀ = ♂	Delección del dominio en cabeza de tenedor (forkhead) de Foxp3	Autoinmunidad sistémica letal, incluidas las GL	(Brunkow et al., 2001, Sharma et al., 2006) [1113,1114]
4 semanas	CD25KO	♀ = ♂	Carencia de Treg; linfocitos T autorreactivos	GL; GSM; colon; superficie ocular	(Sharma et al., 2006, de Paiva et al., 2010, Pelegrino et al., 2012, Rahimy et al., 2010) [536,581,1114,1115]
	MRL.lpr	♀	Linfocitos T autorreactivos; sistema de ligandos Fas-Fas disruptivo	GL; GSM; superficie ocular	(Jabs and Prendergast, 1991a, Jabs and Prendergast, 1991b, Toda et al., 1999) [556,574,1116]
	AIRE	♀	Defecto en la selección negativa de linfocitos T de órganos específicos	GL; superficie ocular	Yeh et al., 2009, Li et al., 2008, Chen et al., 2010) [589,590,1117]
8 semanas	IL-12 Tg	♀ = ♂	Ratones transgénicos con aumento de la expresión de IL-12 en la glándula tiroidea	GSM	(Vosters et al., 2009) [1118]
	NFKbiz KO	♀ = ♂	Apoptosis epitelial antes de la infiltración linfocítica	GL	(Okuma et al., 2013) [602]
12 semanas	C57BL/6.NOD -Aec1Aec2	♀?	Transferencia de 2 locus autorreactivos de NOD a C57BL/6 no autoinmunitarios; fenotipo de SS más leve que el de NOD parenteral	GL; GSM; superficie ocular	(Cha et al., 2002, Robinson et al., 1998, You et al., 2015, Bulosan et al., 2008, Cha et al., 2004) [593,1119-1122]
	TSP1 KO	?	Carencia de activación autóloga de TGF- $\beta$ ; linfocitos T autorreactivos	GL; superficie ocular	(Turpie et al., 2009, Contreras-Ruiz et al., 2013, Gandhi et al., 2013) [563,599,1123]
	NOD	♀ (S); ♂ (D)	Estirpe consanguínea que desarrolla linfocitos T autorreactivos; controversia sobre un defecto en Treg	GSM; GL; páncreas	(Tsubota et al., 2001, Lieberman et al., 2015, da Costa et al., 2006, D'Alise et al., 2008, Skarstein et al., 1995) [1124-1128]
	NHE8 KO	♀ = ♂	NHE son un grupo de proteínas de membrana que intercambian Na <sup>+</sup> extracelular por H <sup>+</sup> intracelular	GL; superficie ocular	(Xu et al., 2015) [1129]
14 semanas	DN TGF $\beta$ RII	♀ = ♂	Linfocitos T autorreactivos debidos a una señalización disruptiva de TGF- $\beta$ con promotor de linfocitos T	GL; superficie ocular	(de Paiva et al., 2011) [1130]
16 semanas	NOD.B10.H2b	♂	Sustitución del locus de susceptibilidad a la diabetes NOD MHC I-Ag7Id1 por el locus MHC I-Ab; fenotipo de SS más leve que el de NOD parenteral en ratones jóvenes.	GL; GSM; superficie ocular	Yoon et al., 2008, Yamachika et al., 1998, Robinson et al., 1998, Coursey et al., 2015) [564,618,1120,1131]
	OPN-Tg	♀?	Aumento de la expresión de osteopontina	GSM	(Husain-Krautter et al., 2015) [1132]
3 meses	Tet-mev1 knock-out condicionado	♂	Incremento del estrés oxidativo mitocondrial	GL; superficie ocular	(Uchino et al., 2012) [770]
4 meses	Neurturin KO	♀ = ♂	Inervación parasimpática defectuosa de sus glándulas lagrimales	GL; superficie ocular	(Song et al., 2003) [1133]
	Act1.CD40 DKO	?	Delección del regulador negativo de la supervivencia de los linfocitos B	GSM > GL; piel de alrededor de los ojos	(Qian et al., 2008) [612]
5 meses	ArKO	Ninguno	Deficiencia de estrógenos por desactivación de la aromatasa (convierte los andrógenos en estrógenos)	Ausencia de inflamación en las GL o en la glándula de Meibomio; aumento del volumen de lágrima en los machos, no en las hembras, con respecto a los ratones de control normales	(Rahimi Darabad et al., 2014, Darabad et al., 2013) [691,692]
6 meses	NZB/NZW F1	♀	Estirpe consanguínea híbrida,	GL; superficie ocular	(Kotzin and Palmer, 1988, Gilbard et

			linfocitos T autorreactivos		al., 1987) [1134,1135]
	ArKO	♀	Deficiencia de estrógenos por desactivación de la aromatasa	GSM	(Iwasa et al., 2015, Ishimaru et al., 2003) [714,1136]
9 meses	C57BL/6	♀ = ♂	Desconocido; muestra acumulación de linfocitos T autorreactivos	GL; superficie ocular	(McClellan et al., 2014) [1137]
11,5 meses	SOD1 KO	♂	Desactivación de defensas antioxidantes (superóxido dismutasa)	GL; superficie ocular, GSM	(Kojima et al., 2012) (Ibrahim et al., 2014) [1138,1139]
14 meses	BAFF tg	♀ = ♂	Acumulación de linfocitos B	GSM	Groom et al., 2002) [611]
12-17 meses	ArKO	♀ = ♂	Deficiencia de estrógenos por desactivación de la aromatasa	GSM	(Shim et al., 2004) [1140]

Abreviaturas: ♀ - hembra, ♂ - macho, S - sialoadenitis, D - dacrioadenitis.

## 8. Enfermedad en seres humanos. Clasificación etiológica de la EOS

Sigue siendo útil hablar de la EOS bajo dos grandes grupos, el del OSDA y el del OSE (Tabla 5).

### 9. Ojo seco por deficiencia acuosa (OSDA)

El OSDA se subdivide en ojo seco del síndrome de Sjögren (OSSS) y ojo seco no asociado al síndrome de Sjögren (OSNS).

#### 9.1. El síndrome de Sjögren y el ojo seco por síndrome de Sjögren

##### 9.1.1. Introducción

El síndrome de Sjögren es un trastorno autoinmunitario crónico que se caracteriza por la infiltración de células inmunitarias de glándulas exocrinas (exocrinopatía o epitelitis) y complicaciones sistémicas por producción de autoanticuerpos, depósito de inmunocomplejos e infiltración linfocítica de numerosos órganos [676] (Tabla 10). La prevalencia del síndrome de Sjögren primario (SSp) en EE. UU. se estima en un 0,6-1 %, y afecta a un número entre 0,4 millones y 3,1 millones de adultos [677]. Sin embargo, este cálculo es diferente del de otro estudio, según el cual el síndrome de Sjögren afecta a menos de 40 000 personas en EE. UU. [678]. Datos más recientes indican que la incidencia anual media de SSp en una cohorte poblacional diagnosticada por médicos en EE. UU. es de 5,8 por 100 000 [679], y que la prevalencia del SSp en una población bien definida geográficamente del Condado de Omstead en Minnesota se sitúa entre 2 y 10/10 000 habitantes [680]. Si se extrapolara a la población estadounidense en su conjunto, este cálculo indicaría que entre 65 000 y 326 000 personas padecen SSp en EE. UU.

El síndrome de Sjögren se produce predominantemente en mujeres, con una proporción mujeres/hombres de 9:1<sup>557-559, 561</sup> y puede dar lugar a una forma muy grave de EOS [681]. Esta enfermedad puede deberse a factores desde una serie de respuestas inmunitarias aberrantes hasta desencadenantes ambientales y víricos producidos en individuos genéticamente susceptibles. El entorno hormonal también es importante (véase el informe del Subcomité de Sexo, género y hormonas). Supone una pérdida de tolerancia inmunitaria, la presentación de autoantígenos y la disregulación tanto del sistema inmunitario innato como del adaptativo [682,683]. Las glándulas lagrimales y salivales son las principales dianas de la epitelitis, lo que conduce a la destrucción glandular y a la aparición de los síntomas principales de la EOS y la

Translated into Spanish by Allergan

xerostomía (síntomas secos).

Históricamente, el síndrome de Sjögren se ha descrito como una afección por sí sola, el SSp, o dentro de un trastorno autoinmunitario sistémico (síndrome de Sjögren secundario - SSp), como la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico (LES) y la granulomatosis de Wegener [684]. Más recientemente, el Colegio Estadounidense de Reumatología (American College of Rheumatology) ha recomendado asignar el diagnóstico de síndrome de Sjögren a *cualquier* paciente que cumpla los criterios diagnósticos de dicho síndrome [565] sin distinguir entre si es primario o secundario, ya que ambos se consideran la manifestación de una disregulación inmunitaria. El Subcomité reconoce el valor de este planteamiento, pero aquí se conservará el vocabulario antiguo en referencia a la bibliografía anterior.

Los síntomas de la EOS y la xerostomía constituyen una característica importante del síndrome de Sjögren y se deben, al menos en parte, a la infiltración de las glándulas lagrimales y salivales por parte de linfocitos T y B, células dendríticas (CD), macrófagos y otras células mononucleares, lo que conduce a una disfunción o destrucción tisular [683]. En el OSSS se considera que las glándulas lagrimales son la diana primaria del ataque inmunitario. Esto es menos cierto en el caso del epitelio conjuntival y de las células caliciformes, que también se ven afectadas clínicamente.

Los signos y síntomas del OSSS son similares a los del OSNS. Entre los síntomas oculares se encuentran visión borrosa, sensación de arenilla y molestias oculares, y los signos clínicos incluyen inestabilidad de la película lagrimal, tinción corneal y conjuntival, pérdida de células caliciformes y metaplasia epitelial [382,401,685,686]. Sin embargo, la aparición del OSSS se produce antes y, al comparar poblaciones de pacientes con OSNS u OSSS, estos últimos son sistemáticamente más jóvenes y su enfermedad más grave [610,687], lo que indica una progresión más rápida. También existe un mayor riesgo de ceguera con el OSSS [688]. El hecho de que la frecuencia de DGM grave sea más elevada en los pacientes con OSSS que con OSNS contribuye a su gravedad [375].

#### 9.1.2. Influencias hormonales

El SS afecta a más mujeres que hombres, y su prevalencia aumenta entre las mujeres posmenopáusicas [566,567,689]. Las diferencias relacionadas con el sexo en cuanto a la prevalencia de la EOS se han vinculado, al menos en parte, a los efectos de los esteroides sexuales (p. ej., andrógenos y estrógenos). Estas acciones endocrinas se especifican en el informe del Subcomité de Sexo, género y hormonas. En resumen, los esteroides sexuales actúan sobre las glándulas de Meibomio, las glándulas lagrimales, la conjuntiva y la córnea. Las influencias hormonales se producen

principalmente tras una síntesis intracrina local, y parecen estar mediadas sobre todo por receptores nucleares y, posiblemente, membranales. Los esteroides sexuales afectan a numerosos aspectos estructurales y funcionales de la superficie ocular y de los anejos, como la arquitectura tisular, la expresión génica, la síntesis de proteínas, la actividad inmunitaria, la dinámica de las células epiteliales, la secreción acuosa, la producción de meibo, la secreción mucosa y la estabilidad de la película lagrimal. Por ejemplo, la deficiencia de andrógenos se ha vinculado al desarrollo, y la administración de andrógenos al tratamiento, de la inflamación de las glándulas lagrimales (p. ej., síndrome de Sjögren), disfunción de las glándulas de Meibomio (p. ej., síndrome de Sjögren y envejecimiento), disrupción del glucocáliz corneal, daños en la superficie ocular, inestabilidad de la película lagrimal y EOS evaporativa y por deficiencia acuosa. Por el contrario, el papel preciso de los estrógenos en la fisiología y la fisiopatología de la superficie ocular y de los tejidos anejos no está claro y, en algunos casos, resulta controvertido. Una consideración primordial es que una serie de efectos de los esteroides sexuales pueden ser específicos en cada sexo (es decir, exclusivos de los varones o de las mujeres) [36,690-693]. El reconocimiento de estas diferencias relacionadas con el sexo y la determinación de su base subyacente (p. ej., la acción de los esteroides sexuales) son extremadamente importantes. (El lector encontrará una explicación completa en el informe del Subcomité de Sexo, género y hormonas).

#### 9.1.3. Etiología: susceptibilidad genética

La susceptibilidad genética desempeña un papel en la etiología del síndrome de Sjögren. Se ha establecido una serie de asociaciones entre el SSP y locus génicos o genes específicos [694]. (Tabla 11). También se ha asociado un aumento del riesgo de SSP a HLA II, IL-12A, BLK, STAT4, CXCR5 y IRF5 en un estudio reciente con sujetos de ascendencia europea que cumplían los criterios de consenso europeo-americano [694]. Los locus de interés no son idénticos en todas las regiones geográficas, lo que pone de manifiesto las diferencias étnicas en cuanto a susceptibilidad [695].

Algunas de las semejanzas clínicas e inmunológicas entre el SSP y el LES pueden tener un origen genético. Diversos polimorfismos de los genes asociados al síndrome de Sjögren, como los genes MHC-II, STAT4, IRF5, BLK y TNIP1, son comunes al LES y a otras afecciones autoinmunitarias. Sin embargo, los genes CXCR5 y GTF2I solo se han establecido como factores de riesgo del síndrome de Sjögren y, por el contrario, muchos genes asociados al riesgo de LES no se encuentran en el síndrome de Sjögren [695].

Burbelo et al. [695] han propuesto que los genes asociados al síndrome de Sjögren producen una disregulación inmunitaria al menos por tres vías: 1. *Activación de la vía de señalización del IFN*. 2. *Activación de las vías de producción y eliminación de anticuerpos de la función de los linfocitos B*. 3. *Activación de las vías de actividad de NF $\kappa$ B*.

Una predicción general es que la posesión de uno o más de estos factores genéticos influye en los individuos afectados en cuanto a las manifestaciones clínicas, la aparición, la gravedad y la progresión de la enfermedad. Resulta interesante que ninguno de los genes que confieren riesgo están relacionados con la fisiología glandular ni con el sexo. Todos los polimorfismos se producen en secuencias no codificantes, lo que refleja un papel epigenético que determina la expresión génica en lugar del producto génico. Todos los genes de riesgo guardan relación con el funcionamiento del

sistema inmunitario.

#### 9.1.4. Etiología: infección vírica

La etiología del síndrome de Sjögren sigue sin estar clara, y en ella influyen numerosos factores. Una de las teorías sobre la aparición de este síndrome está relacionada con una infección vírica. De hecho, se han descrito varias asociaciones entre infecciones víricas y EOS, como el virus de la hepatitis B, el HLTV1, el VIH y el virus de Epstein Barr (VEB). Cabe señalar que se ha propuesto que la generación de estructuras linfáticas terciarias o ectópicas (ELT) en respuesta a una infección vírica puede proporcionar un lugar para la producción de autoanticuerpos en los individuos predispuestos genéticamente [696].

#### 9.1.5. El proceso inflamatorio en el síndrome de Sjögren

Nuestros conocimientos sobre el proceso inflamatorio destructivo que sufren las glándulas lagrimales de los pacientes con síndrome de Sjögren se derivan parcialmente del estudio de biopsias de glándulas salivales menores labiales. La lesión patológica típica en las glándulas salivales menores consiste en cúmulos de infiltrados de células redondas cuya composición depende de la gravedad de la lesión. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> predominan en las lesiones más leves, y los linfocitos T CD8<sup>+</sup> y los linfocitos B en las lesiones más graves [697]. La distribución de otras células inmunitarias infiltrantes también está correlacionada con el grado de inflamación, con un aumento de los macrófagos y un descenso de las células dendríticas interdigitantes a medida que se incrementa la gravedad [698]. Los pacientes con síndrome de Sjögren se han clasificado a la hora de su diagnóstico en distintos grupos en función de si la respuesta inmunitaria predominante está mediada por los linfocitos T o B [699] y de si la respuesta de los linfocitos T es principalmente de tipo Th1, Th2 o Th17. Según Moutsopoulos [697], las respuestas de Th1 son las más frecuentes, las de las citocinas Th2 predominan en las lesiones leves y la reactividad Th17 se correlaciona con una mayor gravedad de las lesiones.

Un aspecto especialmente preocupante del síndrome de Sjögren es la formación de centros germinales, que son predictivos de un mayor riesgo de linfoma [700,701].

9.1.5.1. *Linfocitos T*. Los linfocitos T, que desempeñan un papel destacado en la inflamación del síndrome de Sjögren, se pueden dividir en varios subconjuntos según las citocinas que produzcan. Los linfocitos Th1 producen IFN- $\gamma$  e IL-18; los Th17 producen IL-17 e IL-21, y los Th2 segregan IL-4, IL-5 e IL-13. Históricamente, el síndrome de Sjögren se ha identificado como una enfermedad autoinmune dependiente de Th1, con aumentos de las concentraciones de IFN- $\gamma$  en la lágrima, la conjuntiva, la saliva, las glándulas lagrimales y salivales y la sangre [235,478,522,582,702]. Asimismo, un desequilibrio de Th1/Th2 con niveles elevados de IFN- $\gamma$  en la sangre, las glándulas salivales, la lágrima o la conjuntiva está correlacionado con un fenotipo más grave, lo que puede ayudar a diferenciar la deficiencia de lágrima acuosa por síndrome de Sjögren de la no producida por este síndrome [532,703].

Los linfocitos Th17 han surgido recientemente como actores en la patogenia del síndrome de Sjögren, y se está empezando a conocer la interacción entre los linfocitos Th1 y Th17. Existen pruebas de la presencia de IL-17 en líquidos como las lágrimas, la saliva, el suero y el líquido sinovial, así como en las propias lesiones

tisulares de los pacientes con síndrome de Sjögren [704-706]. Los datos de modelos animales han mostrado un papel proinflamatorio de la IL-17 en la sialoadenitis, mientras que su función específica en la inflamación de las glándulas lagrimales aún es objeto de debate [536,562,581,582,591,707,708].

**9.1.5.2. Células epiteliales.** Un aspecto que contribuye a la inflamación glandular es la activación de las células epiteliales acinares y ductales para llevar a cabo funciones inmunitarias y actuar como CPA no profesionales, donde median en el reclutamiento y activación de casi todos los tipos de células inmunitarias que promueven la activación y la diferenciación de los linfocitos T y B. Se desconoce cuáles son los factores que desencadenan la activación epitelial, pero se ha apuntado que una infección vírica latente (véase más arriba) u otros factores intrínsecos son los responsables de su activación, en el contexto de un entorno genético y ambiental adecuado [709]. Las células epiteliales activadas de las glándulas salivales expresan una serie de moléculas inmunomoduladoras implicadas en las respuestas inmunitarias innatas y adquiridas. También pueden presentar autoantígenos liberados de vesículas exosómicas [710] o cuerpos apoptóticos [711]. Por tanto, desempeñan un papel importante en el inicio y perpetuación del proceso autoinmunitario local en las glándulas salivales dentro del síndrome de Sjögren. Un aspecto clave del proceso es que, mientras los linfocitos infiltrantes permanecen activados, las células epiteliales glandulares activadas experimentan una muerte celular apoptótica [712]. Aún está por determinar si las células epiteliales de las glándulas lagrimales desempeñan un papel análogo.

**9.1.5.3. Linfocitos B.** La hiperactividad de los linfocitos B se reconoce ahora como un elemento central en el síndrome de Sjögren, lo que subraya la pérdida de tolerancia inmunitaria. Se manifiesta por hipergammaglobulinemia, crioglobulinemia y producción de numerosos autoanticuerpos, dirigidos, por ejemplo, contra la  $\alpha$ -fodrina, el receptor muscarínico M<sub>3</sub> y los componentes ribonucleoproteínicos Ro52 y Ro60 (anti-Ro/SSA) y La (anti-La/SSB). Estos últimos se incluyen entre los criterios de clasificación del síndrome de Sjögren y están correlacionados con aparición temprana de la enfermedad, aumento de tamaño de las glándulas parótidas, manifestaciones extraglandulares e infiltración linfocítica glandular [683].

Los linfocitos B cumplen otras funciones además de producir autoanticuerpos, al actuar como CPA y segregar citocinas capaces de sostener la respuesta inmunitaria [713].

**9.1.5.4. Células dendríticas.** Las células dendríticas contribuyen a orquestar la respuesta inmunitaria. Existen pruebas de interacción entre las células dendríticas y las epiteliales. Las células epiteliales segregan citocinas inflamatorias que pueden activar a las células dendríticas y a los linfocitos T, y estos a su vez pueden incrementar la activación del epitelio. Por ejemplo, en la bibliografía está bien documentada la expresión de MHC-II y de HLA-DR (un ligando del receptor de linfocitos T) estimulada por el IFN- $\gamma$  en las células epiteliales [714]. La expresión de HLA-DR tanto por el epitelio como por las CD se ha descrito anteriormente y se ha utilizado hace poco como criterio de valoración en ensayos clínicos para la EOS [381,715-717].

**9.1.5.5. Autoanticuerpos.** Los autoanticuerpos circulantes en el síndrome de Sjögren contribuyen a su fisiopatología y pueden revestir importancia diagnóstica [718]. Los autoanticuerpos dirigidos contra los autoantígenos Ro/SSA y La/SSB constituyen una de las pruebas diagnósticas recomendadas para el síndrome de Sjögren [684,719].

De modo similar, en un subconjunto de pacientes con síndrome de Sjögren se pueden encontrar autoanticuerpos contra el receptor muscarínico M<sub>3</sub>, los cuales se han considerado patógenos [720]. Ciertos estudios han revelado que estos autoanticuerpos poseen actividad agonista (es decir, estimulante), mientras que otros han mostrado que tenían actividad antagonista (es decir, inhibidora) [721-724], aunque la diferencia tal vez sea metodológica. La prevalencia de estos anticuerpos en el suero de los pacientes con síndrome de Sjögren varía considerablemente, lo que pone en duda su utilidad con fines diagnósticos o pronósticos [720].

#### 9.1.6. La glándula lagrimal en el síndrome de Sjögren

La pérdida de flujo lagrimal acuoso en el síndrome de Sjögren es consecuencia de la infiltración de células inflamatorias en las glándulas lagrimales, lo que desemboca en destrucción acinar y ductal. Los linfocitos infiltrantes y las células epiteliales, endoteliales y neurales son todos ellos fuentes potenciales de citocinas inflamatorias y de otros mediadores responsables de daños en el tejido lagrimal. Asimismo, los cambios inflamatorios experimentados dentro de la glándula pueden conducir a un descenso de la secreción lagrimal debido a los daños causados en la innervación secretomotora o por inhibición de la liberación de neurotransmisores o de la acción de citocinas o anticuerpos [725]. Las glándulas lagrimales en el síndrome de Sjögren se hallan muy infiltradas por leucocitos mononucleares, la mayoría de los cuales son linfocitos T, con un menor número de linfocitos B y de células plasmáticas (Fig. 11) [726]. Estos linfocitos T expresan el marcador de activación IL-2R y contienen gránulos citotóxicos, como la grancima A [727,728]. El grado de infiltración linfocítica de las glándulas lagrimales está bien correlacionado con la secreción lagrimal. La escasa secreción lagrimal refleja ante la estimulación nasal se asocia a la presencia de autoanticuerpos en el síndrome de Sjögren y a la infiltración linfocítica tanto lagrimal como salival en los pacientes con EOS [729].

Según trabajos anteriores, al igual que en las biopsias de las glándulas salivales, los linfocitos T CD4<sup>+</sup> predominan sobre los CD8<sup>+</sup> en el infiltrado de las glándulas lagrimales, mientras que los linfocitos B representan los de menor número.

Debido a las restricciones sobre el uso de biopsias de glándulas lagrimales con fines de investigación, sería de gran valor llevar a cabo estudios prospectivos post-mortem sobre patología lagrimal en pacientes con síndrome de Sjögren y OSNS bien caracterizados para profundizar en nuestros conocimientos sobre la evolución natural y detectar posibles puntos temporales para la intervención terapéutica.

#### 9.1.7. La conjuntiva en el síndrome de Sjögren

Se desconoce si la conjuntiva constituye una diana primaria de la inflamación en el síndrome de Sjögren o si los cambios que experimenta son secundarios a la inflamación de las glándulas lagrimales y a la aparición de EOS. Gran parte de lo que se sabe sobre los acontecimientos patológicos que se dan en la conjuntiva de los pacientes con EOS se basa en el estudio de muestras de citología de impresión conjuntival, que proporciona información

sobre el epitelio, pero no sobre todo el grosor de la conjuntiva. Por tanto, los hallazgos de Stern et al. [488] en muestras de biopsia conjuntival de pacientes con OSSS u OSNS son de gran interés, particularmente debido a que no existía ninguna diferencia cualitativa ni cuantitativa en las células infiltrantes ni en los marcadores de activación entre los grupos. En la **Tabla 12** figura un resumen de los acontecimientos inflamatorios que se producen en la conjuntiva de los pacientes con OSSS y OSNS.

Stern et al. han observado un gran número de linfocitos infiltrantes tanto en muestras de OSSS como de OSNS, compuestos en la mayoría de los casos por linfocitos T CD4+, pero que también incluían linfocitos CD8+ [488]. Los linfocitos T se hallaban sobre todo en el estroma anterior y en el subepitelio, y rara vez en el epitelio. También había un reducido número de linfocitos B. La inmunorreactividad para antígenos del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase II indicaba la expresión tanto de HLA-DR (un ligando del receptor de linfocitos T) como de HLA-DQ (una molécula accesoria esencial para la presentación de antígenos), no solo por parte de los linfocitos, sino también de las células epiteliales conjuntivales, lo que apunta a que pueden desempeñar un papel como CPA no profesionales.

Igualmente se detectó inmunorreactividad para ICAM-1 en las células endoteliales vasculares, en los linfocitos infiltrantes en el estroma y en las células epiteliales residentes. ICAM-1 es una molécula de adhesión a la *superficie celular* que facilita la migración dirigida de los linfocitos y su entrada en los tejidos diana, lo cual es importante durante la inflamación [464,730]. También se detectó un aumento de la expresión de antígeno asociado a la función linfocítica (LFA)-1, el ligando de los linfocitos T para ICAM-1. Se observó que la expresión de ICAM-1 por parte de las células epiteliales residentes fomentaba el contacto celular entre los linfocitos infiltrantes y las células epiteliales, lo que facilitaba los daños apoptóticos en las células epiteliales, y que la expresión de ICAM-1 por parte de los linfocitos infiltrantes podía proporcionar una molécula de señalización para la presentación de antígenos [731,732].

#### 9.1.8. Las glándulas de Meibomio en el síndrome de Sjögren

No se sabe si las glándulas de Meibomio constituyen una diana autoinmunitaria en el síndrome de Sjögren. En un estudio de Shimazaki et al., se encontró que los pacientes con síndrome de

**Tabla 9**

Modelos con roedores para la alteración de la estructura o de la funcionalidad de las glándulas de Meibomio (GM) o sebáceas (GS).

Condiciones	Efecto glandular	Referencia bibliográfica
<b>Inactivación génica</b>		
Acil-CoA:colesterol aciltransferasa-1 Reguladora autoinmunitaria	Atrofia de las GM Infiltración de los linfocitos T en las GM	(Yagyu et al., 2000) [660] (Yeh et al., 2009) [590]
Barx2	Defectos en las GM	(Tsau et al., 2011) [1141]
Blimp1	Hipertrofia de las GM	(Horsley et al., 2006) [1142]
Proteínas $\alpha$ y $\beta$ de unión al potenciador CCAAT	Atrofia de las GM, número reducido de células acinares diferenciadas en las GM	(House et al., 2010) [1143]
CD147	Escaso número de ácidos de la GM, pérdida de meibocitos llenos de lípidos	(Mauris et al., 2015) [1144]
Cu, Zn-superóxido dismutasa-1 Ectodisplasina-A	Aumento del estrés oxidativo en el epitelio acinar de la GM Ausencia de GM	(Ibrahim et al., 2014) [1139] (Cui et al., 2005; Wang et al., 2016; Kuramoto et al., 2011) [672,1145,1146]
Receptor de ectodisplasina-A	Ausencia de GM	(Naito et al., 2002) [1147]
Receptor de hormona del crecimiento	Las GM presentan conductos hiperqueratinizados y engrosados con materiales queratinizados, inserción de ácidos secretores en las paredes de los conductos, ácidos mal diferenciados y GM de pequeño tamaño. GM mal formada	(Liu et al., 2016a) [57]
Familia similar a Krüppel 5 (disrupción condicionada)	GM mal formada	(Kenchegowda et al., 2011) [1148]
Map3k1, Dkk2, c-Jun, Egfr, Shp2, Map3k1/jnk1, Map3k1/Rhoa (knockouts sistémicos o condicionados)	Hipoplasia de las GM	(Meng et al., 2014) [1149]
Receptor de melanocortina-5	Descenso de la producción de lípidos sebáceos	(Thiboutot et al., 2000) [1150]
Smad4	Hilera ectópica de folículos pilosos en lugar de GM	(Huang et al., 2009) [1151]
Estearoil-coenzima A desaturasa 1	Ausencia de GM	(Miyazaki et al., 2001) [1152]
Pérdida funcional de la estearoil-coenzima A desaturasa (inducida por Scd3-Cre, agotamiento mediado por la cadena A de la toxina diftérica)	Efectos sobre la superficie ocular similares a los de la DGM	(Dahlhoff et al., 2016) [1153]
Factor 6 asociado al receptor del factor de necrosis tumoral	Modificación de las GM	(Naito et al., 2002) [1147]
<b>Sobreexpresión transgénica o génica</b>		
Sobreexpresión de biglucanos, bajo el control del promotor de queratocano específico de los queratocitos	Aplasia de GM	(Hayashi et al., 2005) [1154]
Sobreexpresión de c-Myc	Aumento de la producción de sebo	Zouboulis and Boschnakow, 2001) [1155]
Receptor de la ectodisplasina	Hipertrofia de las GM	(Chang et al., 2009) [1156]
Ectodisplasina-A	Hiperplasia de las GS	(Cui et al., 2003) [1157]
Antagonista del receptor de hormona del crecimiento	Las GM presentan conductos hiperqueratinizados y engrosados con materiales queratinizados, inserción de ácidos secretores en las paredes de los conductos, ácidos mal diferenciados y GM de pequeño tamaño. Atrofia de las GM	(Liu et al., 2016a) [57]
Apolipoproteína C1 humana	Atrofia de las GM	(Jong et al., 1998) [1158]
K14-noggin	Formación de unidades pilosebáceas ectópicas a expensas de las GM	(Plikus et al., 2004) [1159]
Kera-rtTA/tet-O-TGF $\alpha$ (expresión estromal ectópica de TGF- $\alpha$ )	Morfogénesis anormal de la GM	(Dong et al., 2015) [1160]
Receptor de glucocorticoides - queratina 5	Ausencia de GM	(Cascallana et al., 2005) [1161]
Sobreexpresión de Rat erbB2 en la capa basal de la epidermis murina, bajo el control del promotor bovino de queratina 5	Aumento de tamaño de las GS	(Kiguchi et al., 2000) [1162]

Inactivación para la proteína de transporte de ácidos grasos 4 rescatada	Desarrollo anormal de las GM	(Lin et al., 2013) [1163]
Sobreexpresión de Smad7 o de proteína relacionada con la hormona paratiroidea	Hiperplasia de las GS	(Zouboulis and Boschnakow, 2001) [1155]
<b>Mutación</b> "Rhino"	Hiperqueratinización ductal de las GM, pérdidas de células acinares y atrofia eventual	(Jester et al., 1988) [1164]
"Rough fur" (ruf)	Hipertrofia de las GS	(Park et al., 2001) [1165]
Dominio 17 de metalopeptidasa ADAM, también denominado enzima convertidora del factor de necrosis tumoral $\alpha$	Ausencia de GM	(Hassemer et al., 2013) [1166]
Locus en downless	Defectos en las GM	(Majumder et al., 1998)
Elongación del gen de los ácidos grasos de cadena muy larga	Protrusión de orificios y cambios anatómicos en las GM	(Naito et al., 2002) [1147,1167] (McMahon et al., 2014) [1168]
Subunidad reguladora similar a 13 de la proteína fosfatasa 1 Estratífina (14-3-3o)	Ausencia de GM Atrofia de las GM en ancianos heterocigóticos	(Toonen et al., 2012) [1169] (Lu et al., 2011) [1170]
<b>Inmunización</b> Inmunización murina con un anticuerpo anti-ADN monoclonal humano portador de un Id 16/6Id mayor	GM hipertróficas	Chan et al., 1995 [1171]
<b>Natural</b> "Crinkled" Edad	Ausencia de GM Atrofia de las GM	(Naito et al., 2002) [1147] (Parfitt et al., 2013) [1172]
<b>Farmacéuticas</b> Isotretinoína	Queratinización y engrosamiento del epitelio ductal de las GM, descenso del número y del tamaño de los ácidos de la GM y degeneración de numerosos ácidos de las GM	(Ibrahim et al., 2017) [642]
Ambientales y farmacéuticas Estrés desecante y escopolamina	Aumento de la proliferación de las células basales en las GM	(Suhaim et al., 2014) [656]
<b>Nutrición</b> Ratones lampiños HR-1 alimentados con una dieta especial con un contenido lipídico limitado	Hiperqueratinización del epitelio ductal de las GM, meibo con consistencia de pasta de dientes, pronunciado taponamiento de los orificios de las GM, y pérdida y atrofia de los ácidos de las GM	(Miyake et al., 2016) [637]
Deficiencia de ácidos grasos n-3	Descenso de la secreción de meibo en las GM	(Tanaka et al., 2015) [1173]

Sjögren presentaban cambios más graves en la superficie ocular (según se verificó mediante tinción vital) aunque tuvieran la misma producción lagrimal (verificada mediante la prueba de Schirmer) que otras personas con OSNS de la misma edad [375]. Los pacientes con síndrome de Sjögren mostraron una mayor prevalencia de DGM, una mayor tasa de evaporación lagrimal y una DGM más grave (57,9 % en el grupo de Sjögren frente a 18,5 % en los individuos con OSNS). La combinación de OSDA con OSE asociado a DGM se consideró que amplificaba el estado del ojo seco [207].

También se ha observado una mayor alteración de la arquitectura de la glándula de Meibomio mediante microscopia confocal en la DGM relacionada con el OSSS que en el OSNS, en la DGM y en los sujetos de control sanos. Las glándulas de Meibomio en los pacientes con síndrome de Sjögren presentaban más inflamación periglandular y mayor reflectividad de las células acinares que los sujetos de control normales y los pacientes con DGM sin síndrome de Sjögren [733]. No hubo diferencias entre las glándulas de Meibomio de los pacientes con SSp y SSs. Los signos de DGM obstructiva también fueron similares tanto en el SSp como en los SSs (LES y artritis reumatoide) [1201].

La cuestión que surge entonces es por qué son mayores la prevalencia y el grado de la DGM en el síndrome de Sjögren. Una explicación podría ser que las glándulas de Meibomio constituyan una diana autoinmunitaria primaria en esta enfermedad, aunque no existen pruebas en favor de esta posibilidad. Otra alternativa sería que estuvieran influidas directamente por células inflamatorias o citocinas producidas localmente en la conjuntiva o liberadas al saco conjuntival en la secreción lagrimal [426,687]. Otra propuesta es que, cuando la enfermedad es grave, la pérdida de tono sensorial reflejo observada en la glándula lagrimal puede afectar de modo similar al mantenimiento de la secreción de las glándulas de Meibomio. Por último, existe una posible explicación por la deficiencia de andrógenos del síndrome de Sjögren (véase el informe del Subcomité de Sexo, género y hormonas).

#### 9.1.9. La superficie ocular en el SS grave: metaplasia escamosa

En la EOS avanzada, incluido el síndrome de Sjögren, se puede producir un proceso de metaplasia escamosa en el que la mucosa epitelial húmeda se convierte en un tejido epidermalizado no humectable debido a un proceso de transdiferenciación. Existe modificación del glucocáliz epitelial, pérdida de células calciformes y queratinización de los epitelios conjuntival y corneal, con expresión aberrante de proteínas precursoras de envoltura queratinizada, como las proteínas pequeñas ricas en prolina (SPRR), la involucrina, las proteínas de envoltura tardía (LEP) y la filagrina.

La metaplasia escamosa es una respuesta a la inflamación crónica, y tanto la IL-1 $\beta$  como el IFN- $\gamma$  desempeñan un papel fundamental en el proceso. La expresión de los genes correspondientes precede al fenotipo escamoso [478]. Se ha observado que ambas citocinas están presentes en exceso en la superficie ocular en la EOS. IL-1 $\beta$  es una potente inductora de inflamación y estimula la producción de numerosas citocinas proinflamatorias en la superficie ocular, como IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  e interferones [453]. Los niveles de IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  están aumentados en la lágrima y la conjuntiva de los pacientes con SSp y en los modelos animales de EOS [535,734,735], y existe una correlación significativa entre la expresión de IL-1 $\beta$  por parte de las células epiteliales conjuntivales humanas y la queratinización patológica de la superficie ocular; la expresión de SPRR1B se utiliza como medida de la metaplasia escamosa [589].

Se ha estudiado el papel del IFN- $\gamma$  en el proceso de la metaplasia escamosa. Esta citocina la liberan en la superficie ocular los linfocitos infiltrantes Th1 y NK. Puede promover la pérdida de células calciformes, la apoptosis epitelial y la queratinización del epitelio conjuntival en un modelo DES murino para EOS [478,530], y contribuye de manera importante a la metaplasia escamosa en la EOS humana [532]. Se ha visto que regula al alza la expresión de precursoras de la envoltura queratinizada en los queratinocitos [736], en las células epiteliales corneales [737] y en las células

epiteliales conjuntivales de los pacientes con síndrome de Sjögren [738,739].

El grupo de McNamara ha estudiado los macrófagos y los linfocitos T en ratones y en seres humanos. En una serie de estudios examinaron el ratón Aire KO (un modelo del síndrome de Sjögren) y biopsias de tejido conjuntival humano con síndrome de Sjögren [580]. Estos estudios han revelado que la migración dirigida de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> autorreactivos hacia los ojos de los ratones con deficiencia de Aire promueve tanto la infiltración de macrófagos como la liberación local de IL-1 [453]. En los estudios de transferencia adoptiva se ha encontrado que los linfocitos T CD4<sup>+</sup> autorreactivos pueden iniciar una inflamación local en la superficie ocular al activar la señalización de la IL-1R1 en las células epiteliales residentes [453,589], lo que mantiene la inflamación por medio de la retención local de los linfocitos T infiltrantes. La pérdida de macrófagos en la superficie ocular por inyección subconjuntival de liposomas de clodronato [580] reduce los signos de EOS, como la tinción con verde de lisamina y la expresión epitelial de SPRR, lo que confirma su papel en el desarrollo de la metaplasia en la superficie ocular. De modo similar, la pérdida de CPA durante la inducción del DES mitigó el fenotipo de la EOS [479].

La IL-1 $\beta$  también puede promover metaplasia escamosa al inducir la expresión de proteínas pequeñas ricas en prolina (SPRR), que se expresan mínimamente en los tejidos mucosos no queratinizados, pero que se sobreexpresan en respuesta al estrés o la inflamación [453,478,740]. Li et al. [453] han mostrado la inducción de SPRR al añadir IL-1 $\beta$  recombinante a células epiteliales conjuntivales humanas cultivadas, a través de la activación de una vía p38 MAPK, que parece ser un intermediario común tanto de la cascada de señalización de la IL-1 $\beta$  como del IFN- $\gamma$ . Se ha visto que las SPRR atrapan las células caliciformes conjuntivales durante el DES y que son reguladas al alza por el IFN- $\gamma$  [427].

La importancia de la IL-1 en este proceso se ve respaldada por otros métodos. La tinción de la superficie ocular y la expresión de SPRR1B disminuyen considerablemente en los ratones Aire KO carentes del receptor de la IL-1 (ratones doble knockout Aire/IL-1R1) [589], aunque no se atenúa la infiltración linfocítica. Asimismo, la inhibición local de la señalización de la IL-1 en la superficie ocular en los ratones con deficiencia de Aire mediante la aplicación tópica del antagonista de los receptores de IL-1 anakinra mejoró la secreción lagrimal, restauró la integridad de la superficie ocular y redujo la queratinización [741]. Sin embargo, aún está por averiguar si estos hallazgos se pueden trasladar al tratamiento de seres humanos. Un ensayo clínico reciente con un antagonista tópico de los receptores de IL-1 para el tratamiento de la EOS no fue satisfactorio [1209].

## 9.2. Ojo seco no asociado al síndrome de Sjögren

El OSNS incluye las formas congénita y adquirida de EOS sin las características autoinmunitarias sistémicas del síndrome de Sjögren. Entre las afecciones que incluye se encuentran el OSNS relacionado con la edad, la alacrimia congénita y la disautonomía familiar [742].

### 9.2.1. Deficiencia lagrimal intrínseca

9.2.1.1. *Ablación de las glándulas lagrimales.* La EOS puede deberse a una ablación de la glándula lagrimal a cualquier edad o por sección

de los conductos durante una intervención quirúrgica en el párpado. La EOS no es un desenlace inevitable, ya que las glándulas accesorias y las secreciones conjuntivales pueden compensarla en algunos casos [743].

9.2.1.2. *Alacrimia congénita.* Se puede producir alacrimia congénita o agenesia lagrimal como un trastorno hereditario [744], en ocasiones con agenesia de las glándulas salivales [745], y es una causa poco frecuente de EOS en la juventud o en la infancia. Existen asociaciones adicionales con la blepharofimosis [746], el síndrome lácrimo-aurículo-dento-digital (LADD), el síndrome de Pierre Robin [747] y el síndrome de Allgrove (véase más adelante).

9.2.1.3. *Síndrome de Allgrove.* El síndrome de Allgrove es un trastorno progresivo de herencia recesiva en el que la alacrimia congénita se asocia a acalasia cardial, enfermedad de Addison, neurodegeneración central y disfunción autonómica. Está causado por mutaciones en el gen AAAS que codifica la proteína ALADIN [748-750].

### 9.2.2. Ojo seco no asociado al síndrome de Sjögren relacionado con la edad

La modalidad más frecuente del OSNS es el OSDA relacionado con la edad, y corresponde al término de queratoconjuntivitis seca (QCS) citado en la bibliografía antigua (Lemp 1995). Las características clínicas se asemejan a las del OSSS, pero, en general, la edad de aparición es más tardía, el grado de infiltración de las glándulas lagrimales es menor, la velocidad de progresión es más lenta y es menos frecuente que la enfermedad sea grave que en el caso del OSSS. Las pruebas de que su frecuencia aumenta a lo largo del ciclo vital figuran en el informe del Subcomité de Epidemiología. A partir de alrededor de los 50 años de edad se aprecia un incremento uniforme de la incidencia de esta forma de OSDA.

El envejecimiento se puede definir como los cambios acumulados en la estructura y en la funcionalidad que se producen en un tejido u organismo a lo largo de su ciclo vital. Dichos cambios pueden contribuir a los acontecimientos responsables de la enfermedad relacionada con la edad, pero ser distintos de ellos [751]. Según Rocha et al. [751], las teorías sobre el envejecimiento se pueden clasificar de manera útil como basadas en la programación –relativas a las influencias genéticas, hormonales e inmunitarias– y basadas en daños o errores –relativas al desgaste, el entrecruzamiento y la oxidación tisular, la modificación postraduccional o las consecuencias de mutaciones somáticas–.

De estos factores, el papel de las hormonas se ha abordado en el Subcomité de Sexo, género y hormonas, mientras que, a diferencia de la situación del síndrome de Sjögren, la susceptibilidad genética ha recibido escasa atención. En un estudio de parejas de gemelas monocigóticas y heterocigóticas, Vehof et al. encontraron una heredabilidad del 29 % (intervalo de confianza [IC] del 95 %, 18-40 %) para los síntomas de EOS, y del 41 % (IC del 95 %, 26-56 %) para la EOS, según el diagnóstico de un médico y el uso simultáneo de lágrimas artificiales. Sin embargo, este resultado se derivó del uso de un cuestionario, con lo que no se identificó la naturaleza de la EOS. Aparte de este, ha habido algunos estudios pequeños sobre genes candidatos en pacientes con OSNS que han descrito un posible papel de los polimorfismos en los genes de citocinas proinflamatorias [752] y en los genes del receptor similar a Ig de los linfocitos T citotóxicos y del antígeno de histocompatibilidad C

[753]. Estos resultados aún no se han replicado, y es importante seguir buscando polimorfismos genéticos en el OSNS relacionado con la edad.

**9.2.2.1. Envejecimiento de la glándula lagrimal.** Las posibles contribuciones del envejecimiento tisular a este trastorno han sido objeto de revisión por parte de Rocha et al. [751], los cuales señalan que el descenso descrito en los valores de la prueba de reflejos de Schirmer a lo largo del ciclo vital [754-756] podrían deberse a un fallo de cualquiera de los elementos que componen la unidad funcional lagrimal y, por tanto, de cualquiera de una combinación de factores como la pérdida de tono sensorial desde la superficie ocular, la disminución de la emisión de neurotransmisores secretores y la pérdida de tejido secretor funcional. La prueba de Schirmer mide la respuesta secretora de la glándula lagrimal ante un aumento del tono sensorial, y no se dispone de información sobre la influencia del envejecimiento en la secreción lagrimal en ausencia de una entrada sensorial desde la córnea. Sería interesante explorar el efecto del envejecimiento sobre la respuesta a la prueba de Schirmer con anestesia o sobre la secreción lagrimal medida por fluorofotometría en condiciones ambientales definidas. Hamano et al. [757] infirieron una pérdida de volumen lagrimal con la edad, según los resultados de la prueba del rojo de fenol.

La sensibilidad corneal a los estímulos mecánicos [389,758-760] y químicos [389,760] disminuye con la edad, lo que puede reducir el tono sensorial de la secreción lagrimal, pero Bourcier et al. no hallaron descensos relacionados con la edad en cuanto a la sensibilidad térmica (frío o calor) [389] utilizando el estesiómetro de gas. Por otra parte, numerosos artículos indican que la secreción regulada de las proteínas derivadas del lagrimal, la lisozima, la lactoferrina y la peroxidasa disminuyen con la edad [755,756,761-763], lo que iría en consonancia con la pérdida de funcionalidad de las glándulas lagrimales.

Los linfocitos T se encuentran dentro de la población de células inmunitarias normales de las glándulas lagrimales humanas (Tabla 1). Desde alrededor de los 40 años de edad, las glándulas están cada vez más infiltradas por linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, que se consideran la base de la destrucción gradual del tejido lagrimal acinar y ductal. Histopatológicamente hablando, se produce una dacrioadenitis de grado bajo asociada a fibrosis interacinar y periductal, pérdida de vasos sanguíneos paraductales y atrofia de células acinares [764-766]. Asimismo, Kojima et al. registraron una infiltración leucocítica pronunciada de la glándula lagrimal humana en individuos ancianos [767]. Se ha propuesto que la atrofia acinar es secundaria a una obstrucción ductal, de modo muy similar a lo que se ha sugerido para la DGM. Es razonable suponer que las células inflamatorias infiltrantes, que liberan citocinas y otros mediadores en la glándula, contribuyen a los daños en el tejido lagrimal y que, al llegar a cierto punto, los efectos acumulativos de este daño estructural relacionado con la edad determinan la aparición de una deficiencia secretora lagrimal. Los estudios efectuados en ratones MRL/lpr, un modelo del síndrome de Sjögren, indican que las citocinas proinflamatorias como IL-1 $\beta$  que liberan los linfocitos que se infiltran en la glándula lagrimal, pueden impedir la liberación de neurotransmisores e inhibir la secreción de las glándulas lagrimales mediada por agonistas [768,769]. Si esto es relevante para el OSSS

Tabla 10

Manifestaciones del síndrome de Sjögren primario.

---

Características no específicas

Síntomas osteomusculares, fenómeno de Raynaud,

SNC: síntomas de fatiga

Epitelitis exocrina (glandular)

Glándulas lagrimales y salivales

Otras glándulas: páncreas

Epitelitis parenquimal (extraglandular)

Infiltración bronquial, hepática, renal: infiltración

linfocítica periepitelial

Afectación de las glándulas endocrinas

Tiroides, suprarrenales, ovarios

Enfermedad mediada por inmunocomplejos

Vasculitis: afecta a los vasos pequeños de la piel, a los nervios

y al riñón como consecuencia de la hiperactividad de los

linfocitos B)

Linfoproliferativas

Linfoma de linfocitos B

---

Extraído de la ref. [697].

en el ser humano, cabe suponer que en la EOS relacionada con la edad podría operar un mecanismo similar.

El papel potencial de las infecciones víricas en el inicio de una respuesta inflamatoria de resolución espontánea en la glándula lagrimal humana y de las hormonas sexuales a la hora de favorecer un entorno proinflamatorio dentro de la glándula se aborda en otras secciones de este y de otros informes.

Uno de los mecanismos propuestos sobre el daño glandular a lo largo del ciclo vital es el estrés oxidativo resultante de la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO), como el superóxido y el peróxido de hidrógeno, en el proceso del metabolismo aerobio. La generación de radicales libres tiene lugar durante la transferencia de electrones mitocondriales dentro del proceso de producción de energía. Estas ERO normalmente son eliminadas por la maquinaria antioxidante de la célula a través de enzimas como la superóxido dismutasa (SOD) y agentes reductores como el glutatión. Los datos de estudios experimentales en ratones indican que el incremento de la producción de superóxidos mitocondriales (como puede verse en el ratón transgénico Tet-mev1 condicional) [770] o la disminución de la acción antioxidante de los superóxidos, (como se aprecia en el ratón knockout de superóxido dismutasa, SOD1<sup>-/-</sup>) [767] causan daños en las glándulas lagrimales asociados a un aumento de la peroxidación lipídica, daños oxidativos en el ADN e infiltración de células inflamatorias. Esto se ve acompañado de un menor volumen lagrimal y una mayor tinción corneal, que es más grave en los animales más ancianos. Resulta curioso que estos cambios no se produzcan en las glándulas salivales del modelo Tet-mev1 [770]. No se puede decir si los cambios corneales son consecuencia del descenso de la secreción lagrimal o si son un efecto directo del estrés oxidativo en la superficie ocular, pero estos modelos indican que el estrés oxidativo puede desempeñar un papel en la EOS relacionada con la edad. Hay que señalar que, en una comparación de tejido lagrimal humano de cadáveres jóvenes (17-48 años) frente a ancianos (76-87 años), se hallaron pruebas de peroxidación lipídica y de daños oxidativos en el ADN en el grupo de más edad [767]. Dado que los leucocitos fagocitantes activados son células inflamatorias que constituyen una fuente poderosa de ERO [771] y se infiltran en la glándula lagrimal o en la conjuntiva, no se puede descartar que sean la causa de este daño oxidativo [772] o de los peróxidos lipídicos aparecidos en la lágrima de los pacientes con OSNS

relacionado con la edad [773].

9.2.2.2. *Envejecimiento de la conjuntiva.* Giebel et al. han mostrado una expresión relacionada con la edad de genes relacionados con apoptosis, como casp-3, Bad, Bax y Bcl-2 en células conjuntivales humanas obtenidas mediante citología de impresión [774]. Zhu et al. [775], utilizando microscopia confocal, encontraron un descenso relacionado con la edad en estructuras interpretadas como células dendríticas, pero ninguna diferencia en la conjuntiva en cuanto a densidad de las células epiteliales o caliciformes. Hubo un incremento de los microquistes epiteliales, que para algunos son producto de la degeneración de las células caliciformes [776]. Anteriormente, Kessing [97], utilizando un enfoque histológico, había descrito oclusión de las células caliciformes con retención de su contenido en personas mayores, y Abdel-Khalek et al. [777] observaron la presencia de cuerpos hialinos en el epitelio conjuntival del 25 % de los sujetos mayores de 79 años. En conjunto, estos informes indican que la conjuntiva es relativamente resistente a los estragos de la edad.

9.2.2.3. *La superficie ocular en el OSNS relacionado con la edad.* En el OSNS relacionado con la edad, la reducción de la secreción lagrimal domina el cuadro clínico y constituye la base de la hiperosmolaridad lagrimal. Esto se debe sobre todo a la pérdida de tejido lagrimal secretor, pero la disminución de la sensibilidad corneal en todas las modalidades sensoriales descrita tanto en el OSNS como en el OSSS puede contribuir a un descenso de la secreción por falta de tono sensorial [389]. La inflamación conjuntival es un aspecto bien reconocido del OSNS, pero de menor grado que el que se encuentra en el OSSS. Sus características se ilustran en la [Tabla 12](#). Se ha descrito infiltración conjuntival pronunciada con linfocitos T CD4<sup>+</sup> que expresaban HLA-DR [488] y que probablemente orquesten acontecimientos inflamatorios por la liberación de citocinas como IFN- $\gamma$ , que pueden promover la pérdida de células caliciformes, inducir apoptosis y estimular la queratinización del epitelio conjuntival [478], así como incrementar las cifras de linfocitos NK secretores de IFN- $\gamma$  [522]. Asimismo, existe un número reducido de T-reg inmunodepresores y un aumento de linfocitos T productores de IL-17, que intervienen en los daños para el epitelio corneal y conjuntival. Se ha visto que los linfocitos Th-1 y Th-17 se infiltran en la superficie ocular en modelos murinos de EOS [529].

Los linfocitos Th-17 segregan IL-17 como su citocina característica, capaz de regular al alza el ARNm de la MMP-3 y la MMP-9 en el epitelio corneal. Como se ha indicado, esta citocina puede alterar la integridad de la barrera corneal.

En consonancia con estos acontecimientos, también se detectan niveles elevados de quimiocinas y citocinas inflamatorias en las lágrimas de los pacientes con OSDA, aspecto que se analiza detenidamente en el informe del Subcomité de Película lagrimal. Seguramente provengan de la conjuntiva, pero también existe la posibilidad de que se originen en la glándula lagrimal inflamada. Massingale et al. [778] hallaron una correlación entre la concentración de citocinas en la lágrima y la gravedad de la EOS. Las concentraciones elevadas de IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$  podrían amplificar la inflamación al reclutar células inmunitarias activadas hacia la superficie ocular [458].

### 9.2.3. *Infiltraciones inflamatorias y de otros tipos en las glándulas lagrimales*

9.2.3.1. *Sarcoidosis.* La sarcoidosis es un trastorno sistémico crónico de origen desconocido con una prevalencia estimada entre 1 y 40 casos por cada 100 000 personas [779]. Se caracteriza por la presencia de granulomas no caseificantes en numerosos órganos, aunque afecta con más frecuencia a los pulmones. Otros órganos involucrados son el bazo, el hígado, los ganglios linfáticos y la piel, así como las glándulas salivales y lagrimales [780,781]. Los pacientes con afectación de las glándulas lagrimales (hasta un 63 % de los casos) suelen mostrar un agrandamiento significativo de la glándula [782]. La aparición de EOS secundaria a sarcoidosis es muy frecuente, y es consecuencia de la inflamación de las glándulas lagrimales [782,783]. A menudo se producen infiltrados linfocíticos dispersos, pero, a diferencia de los del síndrome de Sjögren, no forman focos [784,785]. También se encuentran niveles elevados de citocinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ ) circulantes [786,787].

9.2.3.2. *Linfoma.* La infiltración de las glándulas lagrimales por células linfomatosas puede provocar EOS [788].

### 9.2.3.3. *Infección vírica*

9.2.3.3.1. *Hepatitis C.* En un estudio de 321 pacientes infectados por el virus de la hepatitis C (VHC) se observaron síntomas secos (ojos o boca) en el 10 % de los casos [789]. Varios estudios han indicado que los pacientes con infección crónica por VHC presentan manifestaciones extrahepáticas que pueden emular a las manifestaciones clínicas, inmunitarias e histológicas del síndrome de Sjögren primario [790], y en un estudio de 1020 pacientes con VHC casi la mitad de los casos (47,5 %) tenían síndrome de Sjögren [791].

9.2.3.3.2. *VIH - sida.* La EOS también es un hallazgo frecuente en los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), y se calcula que su prevalencia es del 38,8 % [34,792,793]. En la EOS relacionada con el sida, a diferencia de la situación del OSSS, existe una infiltración de la glándula lagrimal predominantemente con linfocitos supresores CD8<sup>+</sup>, en lugar de colaboradores CD4<sup>+</sup> [794].

9.2.3.4. *Lesión por radiación.* La EOS puede ser una complicación de la radioterapia para afecciones benignas y malignas orbitarias [795] o de cabeza y cuello, si la región periorbitaria se encuentra dentro del campo de tratamiento. Diversos estudios con seres humanos han declarado que el desarrollo de la EOS es dependiente de la dosis [345,795-798]. En resumen, los datos publicados indican que dosis >57 Gy son predictivas de ciertas EOS, mientras que las <30 Gy tienen menor probabilidad de causarla [795]. La aparición de los síntomas de EOS se produce de forma retardada tras la exposición, desde 4 hasta 11 años con dosis <30 Gy, o entre 9 y 10 meses después de un tratamiento con dosis altas [795].

Los hallazgos oftálmicos más frecuentes en respuesta a la exposición a la radiación en los seres humanos son los trastornos oculares externos [799]. Como muestran los estudios realizados en niños después de la catástrofe de Chernobyl, estos hallazgos incluyen descenso de la lagrimación y blefaroconjuntivitis aguda y crónica [799]. Los niños que vivían más cerca de la fuente de radiación fueron los que exhibieron el mayor grado de deficiencia

de lágrima acuosa.

Entre los estudios con animales existen menos informes sobre los efectos de la radiación en la glándula lagrimal que en la salival [800-803]. Un estudio mostró el efecto de una dosis única de radiación (15 Gy) sobre las glándulas lagrimales de conejos 3 y 30 días después del tratamiento [801]. En otros tres estudios se investigaron los efectos de dosis únicas de radiación de 2,5 a 20 Gy sobre la glándula lagrimal y otros anejos oculares en monos [802], 24-48 h [802,803] o hasta 112 días [800] después del tratamiento. Un hallazgo frecuente en todos estos estudios era la rápida (24 h) pérdida apoptótica de células acinares y mioepiteliales. Por el contrario, las células ductales, o no se veían afectadas al administrar dosis bajas, o se dilataban ante dosis más altas en puntos temporales posteriores. Asimismo, 24 h después del tratamiento de radiación, el tejido estaba infiltrado por neutrófilos, que eran reemplazados gradualmente por leucocitos mononucleares y macrófagos. Otros cambios descritos fueron retención secretora en los ácinos, formación de vacuolas, edema extracelular y engrosamiento de la membrana basal. Un estudio mostró redistribución de la matriz de tenascina-C. La gravedad de las lesiones en las glándulas lagrimales estaba relacionada con la dosis y disminuía con el tiempo, pero los tejidos no se recuperaban por completo a largo plazo. Los autores plantearon la hipótesis de que esto puede deberse a la muerte de las células madre o progenitoras acinares.

Un hallazgo del estudio de Stephens et al. [802] era que el tratamiento de radiación (24-48 h) no afectaba a otros anejos oculares, como las glándulas de Meibomio y las células caliciformes conjuntivales. Los autores proponían la hipótesis de que “la pérdida brusca de los ácinos serosos de las glándulas lagrimales y la disminución resultante de la lágrima es por sí sola suficiente para provocar EOS, y podría predisponer al desarrollo de cambios secundarios en las demás glándulas de los párpados”. Será preciso probar esta hipótesis, y este podría ser un modelo animal cuantificable para el OSDA.

9.2.4. Obstrucción de las glándulas lagrimales

9.2.4.1. Conjuntivitis cicatricial. La EOS puede ser una consecuencia grave en aquellas enfermedades que provocan cicatrización conjuntival extensa, como la enfermedad de injerto contra hospedador crónica, el síndrome de Stevens-Johnson (SSJ)/necrólisis epidérmica tóxica (NET), el penfigoide mucoso y el tracoma, y también después de una lesión física y química.

La EOS es de fenotipo mixto, debido a la afectación combinada de las glándulas lagrimales y las de Meibomio y a los cambios en la superficie ocular que afectan a su humectabilidad y capacidad secretora. También puede verse alterada la distribución de las lágrimas. Como consecuencia, la gravedad clínica suele ser elevada, y la inflamación de la superficie ocular por EOS está compuesta por acontecimientos inflamatorios que forman parte del trastorno primario. En el peor de los casos, estas afecciones pueden dar pie a una opacificación y perforación corneales y a ceguera. En un informe británico sobre la conjuntivitis cicatrizante, el PMOC

IRF5	Factor de transcripción
IL12A	Citocina
BLK	Cinasa de linfocitos B
CXCR5	Quimiocina
TNIP	Señalización NF $\kappa$ B
GTF2I	Factor de transcripción
TNFAIP3	Señalización NF $\kappa$ B

Extraído de las refs. [694,1174].

suponía el 61 % de los casos nuevos en un solo año, el SSJ/NET el 20 % y otras causas el 20 % [804]. A continuación veremos algunas causas de la conjuntivitis cicatricial.

9.2.4.2. Enfermedad de injerto contra hospedador ocular

9.2.4.2.1. Introducción. El trasplante alógeno de células madre hematopoyéticas (TCMH) es un tratamiento eficaz para las neoplasias malignas hematológicas. Sin embargo, este éxito se ve perturbado por la enfermedad de injerto contra hospedador (EICHc) crónica, que puede provocar la muerte o una morbilidad significativa, con una calidad de vida gravemente disminuida [805]. La EOS constituye una importante complicación tardía [806-810] y ha atraído la atención de todo mundo [806,811-814]. La EICHc ocular se produce en un 40-80 % de los receptores, y se presenta varios meses después de la fecha del TCMH. La EOS asociada es un trastorno inflamatorio inmunomediado [489,815].

Entre los factores de riesgo comunicados para la EICHc se encuentran: presencia de leucocitos mononucleares de sangre periférica entre las fuentes de células madre [816], trasplante de mujer a hombre [817,818], virus de Epstein-Barr en el donante y EICH cutánea aguda en el pasado [818], alo-TCMH reiterados y diabetes mellitus. La aparición de EICHc en varios órganos podría amplificar la gravedad de la EICH ocular [819].

Se considera que la EICH es una fase posterior de la reacción aguda de EICH, debido al reconocimiento de los tejidos del hospedador (alorreconocimiento) por parte de los linfocitos T del donante, pero debe de haber también un componente autoinmunitario. La fibrosis inmunomediada acelerada conduce a cambios funcionales en la glándula lagrimal, la córnea, la conjuntiva y el párpado, así como en otros órganos. La característica histológica principal de la EOS relacionada con la EICHc es la atrofia y la fibrosis tisulares generalizadas, con infiltración linfocítica. La fibrosis inmunomediada da paso a una obstrucción de los conductos de las glándulas lagrimales [815,820-824] y a la obstrucción de los conductos de las glándulas de Meibomio [825]. Los fibroblastos derivados del donante pueden estar involucrados en este proceso [815,822] y en la transición epiteliomesenquimal (TEM) [821].

Como ya hemos dicho, la TEM es un proceso por el cual las células epiteliales se convierten en células madre mesenquimales multipotentes capaces de diferenciarse en diversos tipos de células. En la EOS relacionada con la EICHc, las reacciones cruzadas entre las células inmunitarias del donante y del receptor generan una “tormenta de citocinas” que pone en peligro las barreras mucosas de la superficie ocular y puede desencadenar TEM en varios lugares. En la glándula lagrimal, bajo la influencia de los linfocitos T locales, se considera que la TEM que afecta a las células mioepiteliales causa fibrosis grave, lo que produce pérdida glandular y obstrucción del conducto lagrimal [821]. La transición epiteliomesenquimal en el epitelio conjuntival puede alterar la humectabilidad al afectar a las microvellosidades y a la expresión

Tabla 11 Genes no HLA asociados al síndrome de Sjögren.

Gen	Función del gen
STAT4	Factor de transcripción

de mucinas del glucocáliz [826]. Las características oculares de la EICH son complejas e implican una interacción entre las glándulas lagrimales y de Meibomio y la superficie ocular. Las manifestaciones observadas mediante tomografía de coherencia óptica (TCO) incluyen orificios anormales en las glándulas de Meibomio, queratinización y quemosis conjuntivales, así como opacificación, adelgazamiento y descamación del epitelio corneal [827].

**9.2.4.2.2. Afectación de la glándula lagrimal.** Diversos acontecimientos conducen a la inflamación de la glándula lagrimal y al daño en los tejidos en la EICHc. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> activados, presentes sobre todo en las zonas periductales, se colocan con todo el complemento de moléculas de superficie necesario para la presentación de antígenos, a saber, fibroblastos periductales que expresan CD34<sup>+</sup> y HLA-DR y moléculas de adhesión, como CD54<sup>+</sup>, además de moléculas coestimulantes, como CD40<sup>+</sup>, CD80<sup>+</sup> y CD86<sup>+</sup> (Fig. 11) [823,828]. Se ha considerado que los macrófagos de las glándulas afectadas en la EICHc son una fuente de citocinas y de quimiocinas, además de aumentar el estrés oxidativo, lo que contribuye a la enfermedad de las glándulas lagrimales cicatrizantes.

El sistema de la renina-angiotensina tisular (RAS) presente en la glándula lagrimal puede contribuir a la inflamación de la glándula lagrimal en la EICHc [820]. En un modelo murino, la frecuencia de células inflamatorias CD45<sup>+</sup> y de fibroblastos HSP47<sup>+</sup> y la expresión de moléculas fibrógenas aumentan en la glándula lagrimal afectada por la EICHc y disminuyen con un antagonista de AT1R [829], lo que indica que el RAS tisular está vinculado a la cascada inflamatoria y fibrótica.

**9.2.4.2.3. Afectación de la glándula de Meibomio.** Se han observado cambios periglandulares en las glándulas de Meibomio en la EICH mediante microscopía confocal y meibografía de infrarrojos. Se han descrito infiltración de células inflamatorias, fibrosis y obstrucción de los conductos meibomianos que son más difusos que los comunicados en la DGM [825]. Gracias a esta técnica, será posible una detección temprana y vigilancia de los cambios oculares producidos por la EICH [830].

**9.2.4.2.4. Afectación conjuntival.** La conjuntiva es una diana reconocida en la EICHc ocular [821,831], y la infiltración de células inflamatorias, junto con la queratinización y cicatrización conjuntivales [824] constituyen características significativas [832], acompañadas de una elevación local de quimiocinas CXCL9 y CXCL10 y de su receptor 3 del motivo C-X-C en la EOS relacionada con la EICH [833].

**9.2.4.2.5. Afectación corneal.** Jabs et al. han descrito que el adelgazamiento y la queratinización del epitelio corneal eran los rasgos principales de la EICH [824]. La queratinización de la conjuntiva y la córnea se ha atribuido a una manifestación primaria de la EICH o a una manifestación secundaria del estado de EOS, aunque también se ha propuesto que el adelgazamiento del epitelio corneal podría estar relacionado con la quimioterapia previa al trasplante. La córnea en la EICH puede mostrar daños epiteliales graves, y la aparición de una ruptura precoz de la película lagrimal puede agravar la discapacidad visual. Puede darse ocasionalmente perforación corneal, y se ha visto que los linfocitos T CD8<sup>+</sup> [834] y los macrófagos se infiltran en el borde de la perforación. También se han detectado metaloproteinasas de la matriz, como MMP-2 y MMP-9, y se cree que son responsables de la pérdida de tejidos

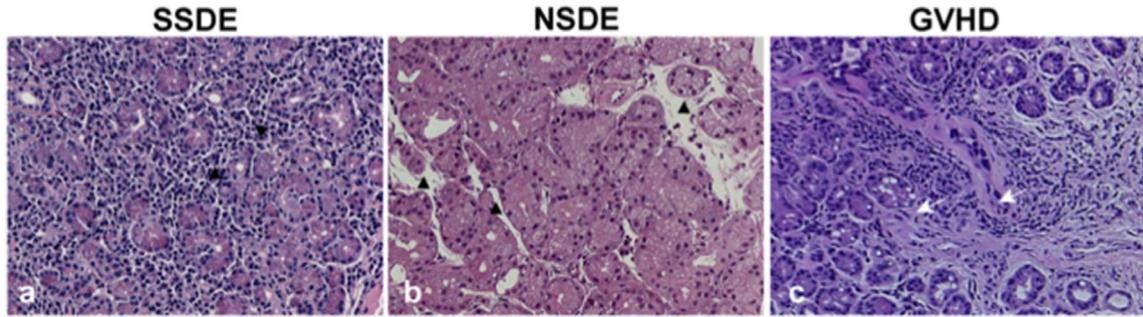
[835].

**9.2.4.2.6. Hallazgos en la lágrima.** Los cambios de la lágrima en la EICH o bien reflejan o contribuyen a la inflamación en la superficie ocular. El recambio lagrimal disminuye, y la capa lipídica de la película lagrimal, observada mediante interferometría DR-1, se puede ver gravemente alterada [836]. En un estudio, la osmolalidad lagrimal aumentó ( $314,0 \pm 22,1$  mOsm/l) y guardó una correlación inversa con la TBUT y la prueba de Schirmer [837]. Se ha dicho que el INF- $\gamma$  se halla elevado en la lágrima en la fase temprana de la EICH ocular, y la IL-6 en una fase posterior [838], mientras que otro estudio mostró que la elevación de IL-6, IL-10 y TNF- $\alpha$  se hallaba muy correlacionada con los hallazgos oculares [839]. En otro estudio, la expresión de receptor 1 de TNF soluble se había regulado al alza [840]. Tibrewal et al. [245] describieron un incremento de la formación de ADNe y NET en la EICH común con otras formas de EOS.

**9.2.4.2.7. Modelos preclínicos de EICH ocular.** La fisiopatología de la EICHc se ha estudiado en una serie de modelos animales [489,815,841,842]. Herretes et al. [489] desarrollaron un modelo murino de EICH ocular en el que los linfocitos T del donante se reclutaban hacia los ojos de los destinatarios de los trasplantes de células madre hematopoyéticas alógenas emparejados por CPH. En este modelo se irradió mortalmente a ratones C3H.SW emparejados por CPH (H2b), y varias horas más tarde recibieron células de médula ósea (CMO) B6 de un donante repleto de linfocitos T B6. Unas semanas después del TCMH, los animales que recibieron linfocitos T de donantes perdieron peso y comenzaron a exhibir signos clínicos de EICH murina, como pelaje erizado, encorvamiento y diarrea. Aproximadamente 3-4 semanas después del trasplante se observó un aumento de la tinción con fluoresceína en las córneas de los ratones receptores que progresó a úlcera corneal en unas 6 semanas. Hubo una diferencia en la velocidad de inducción de la EICH sistémica y la ocular. En otro modelo, utilizando un TCMH emparejado por CPH y sin emparejar por histocompatibilidad menor, se vio que los fibroblastos del donante derivados de células madre mesenquimales o estromales contribuían a la patogenia de la fibrosis inmunomediada [815]. Esos modelos ofrecen una oportunidad para explorar los mecanismos subyacentes de la EICH ocular.

**9.2.4.3. Síndrome de Stevens-Johnson/necrólisis epidérmica tóxica.** El síndrome de Stevens-Johnson/necrólisis epidérmica tóxica (SSJ)/NET es una enfermedad dermatoampollosa peligrosa para la vida que afecta a la piel y a las mucosas, incluidas la córnea y la conjuntiva [843]. Otras dianas son los sistemas respiratorio, digestivo, hepático, oral, otorrinolaringológico, renal y genitourinario [844]. Esta afección implica muerte generalizada de los queratinocitos y necrosis epidérmica que conduce a una separación de las capas subepiteliales y al desprendimiento del epitelio en ciertos lugares de la piel y superficies mucosas. Desde el punto de vista diagnóstico, el SSJ se distingue de la NET porque el desprendimiento cutáneo afecta a menos del 10 % de la superficie corporal, frente a una pérdida de más del 30 % en la NET. El síndrome SSJ/NET solapado se define por una pérdida del 10-30 % de la piel [845]. El SSJ afecta a niños y adolescentes, mientras que la NET puede producirse a cualquier edad. La incidencia estimada del SSJ es de aproximadamente 0,4-7 casos por millón.

Es preciso distinguir el SSJ/NET de otro trastorno ampolloso de *Staphylococcus aureus* (MRSA) o el *Staphylococcus epidermidis*



**Fig. 11.** Histopatología de la glándula lagrimal en las distintas formas de EOS. (a) En el OSSE existe una infiltración linfocítica intralobulillar pronunciada (▲) y no se evidencia fibrosis. (b) En un paciente con OSNS, la infiltración de células inflamatorias es escasa y, de nuevo, apenas se evidencia fibrosis (▲). Los ácinos mantienen una estructura casi normal. (c) Por el contrario, en un paciente con enfermedad de injerto contra hospedador (EICH) crónica existe una fibrosis periductal intersticial pronunciada (flechas), además de la infiltración linfocítica. La periferia de los lobulillos se ha reemplazado de forma irregular por tejido fibrótico. (Cortesía de Y. Ogawa).

la piel, el eritema multiforme, cuyo desarrollo es más corto y donde la afectación mucosa es limitada. Se desencadena por una infección, generalmente por el virus del herpes simple, a diferencia del SSJ/NET, donde la causa más habitual son fármacos y otros factores químicos y físicos [846].

Los antibióticos [847] son una causa frecuente de SSJ, además de los analgésicos, los antitúberculosos y anticatarrales, los AINE y los antiepilépticos [848], así como los fármacos utilizados para el tratamiento de la gota [849-851]. También se han descrito casos de sensibilidad a la doxiciclina y la acetazolamida [852,853]. El uso de antirretrovíricos para la infección por VIH ha sido una causa de SSJ en el África subsahariana [854,855]. Otras etiologías incluyen los agentes físicos, como la exposición al sol y la radioterapia [846]. También puede ser idiopático.

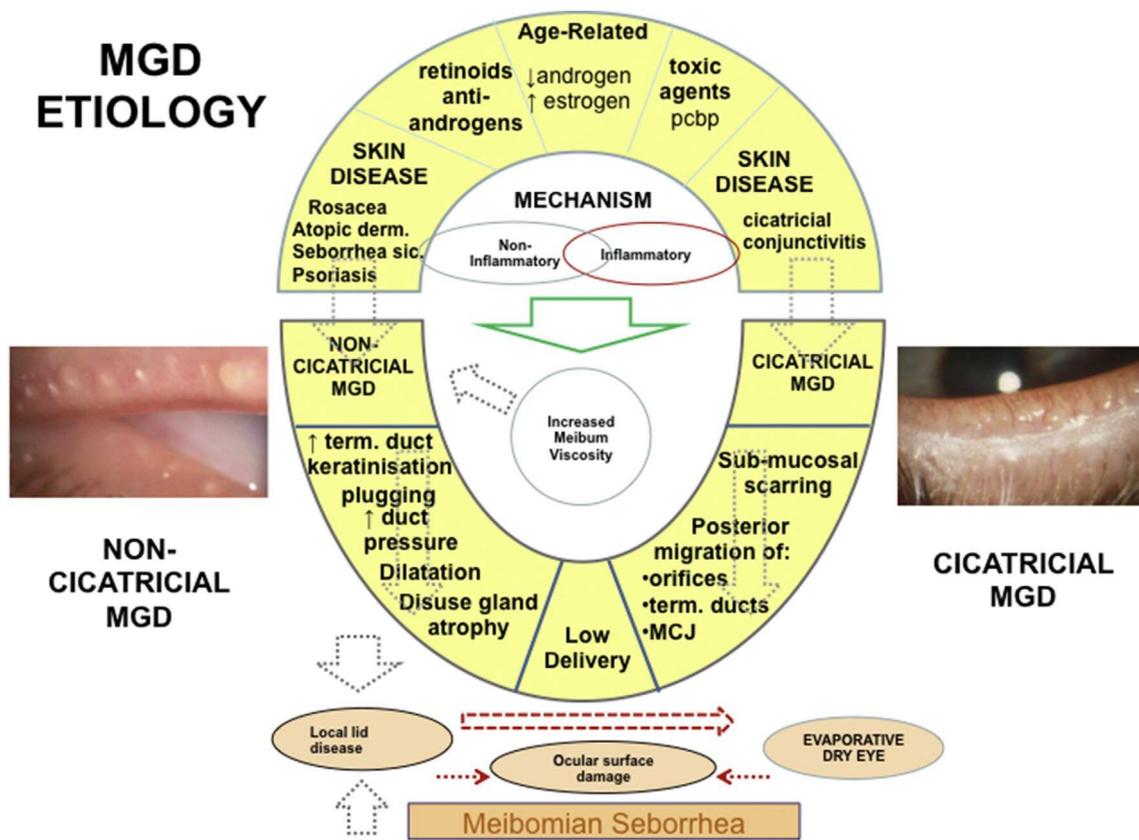
La aparición de SSJ/NET muestra una susceptibilidad genética relacionada con el grupo étnico y que puede ser específica para ciertos fármacos. El HLA-B\*1502 se asocia a SSJ inducido por carbamazepina en personas de ascendencia china Han [856], y se ha identificado al IKZF1 como gen de susceptibilidad al SSJ/NET por anticatarrales, con afectación mucosa grave en Japón, Corea, Brasil e India [850]. HLA-A\*02:06 y HLA-B\*44:03C parecen incrementar el riesgo de afectación mucosa grave entre los japoneses.

Kinoshita y sus colaboradores han propuesto que la susceptibilidad a las complicaciones oculares del SSJ/NET guarda relación con un desequilibrio de los mecanismos que controlan la inmunidad innata en la superficie ocular. Esto puede determinar la colonización de la superficie ocular por bacterias como el

resistentes a la meticilina (MRSE) después de la aparición de la enfermedad, o ser responsables de manifestaciones oculares graves en la NET [857,858]. Ueta et al. [857] han descrito el importante papel que desempeñan las interacciones entre HLA-A y el gen del receptor de tipo toll 3 (TLR3) en la aparición de complicaciones oculares, así como la interacción entre TLR3 y el receptor 3 de prostaglandina E (PTGER3) [859]. Estos autores [859] también han mostrado los polimorfismos genéticos que influyen en la inmunidad innata. Sotozono et al. [858] han hecho hincapié en la importancia de los AINE y de los anticatarrales en la etiología del SSJ/NET.

El SSJ/NET agudo generalmente se considera un trastorno de hipersensibilidad de tipo IV mediado por los linfocitos T, y existen pruebas sólidas del papel de los linfocitos T citotóxicos en su patogenia [846]. En los primeros estadios de la NET, los linfocitos CD8<sup>+</sup> predominan en el líquido de las ampollas y en la epidermis, muchos de los cuales expresan marcadores de superficie que normalmente se encuentran en los linfocitos NK, mientras que los linfocitos CD4<sup>+</sup> se localizan en las capas dérmicas [860]. Posteriormente se produce un incremento de monocitos activados. La muerte celular de los queratinocitos se produce por apoptosis [846,861], ya sea por un proceso del ligando FAS/FAS o porque los linfocitos T activados envían gránulos a las células diana a través de canales inducidos por perforina. Ambos mecanismos activan la cascada de la caspasa intracelular, lo que conduce a una muerte celular apoptótica [862].

# MGD ETIOLOGY



**Fig. 12.** Diagrama esquemático que muestra la etiología y el mecanismo de la disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM). Aunque aún hay muchos aspectos mecánicos que no se comprenden, la figura trata de resumir la visión actual al respecto. La parte superior de la figura ilustra la etiología de las dos formas de DGM que generan escasez de producción de aceite meibomiano, la DGM cicatricial y la no cicatricial. Con la edad se da un incremento del prolapso de la glándula de Meibomio, particularmente a partir de los 50 años, lo que se correlaciona con la aparición de DGM primaria. El descenso de los andrógenos biodisponibles puede contribuir a estos acontecimientos. En los jóvenes, el tratamiento del acné vulgar con ácido *cis*-retinoico puede inducir atrofia glandular y DGM, mientras que en un grupo de mayor edad, la insensibilidad o el bloqueo de los receptores de andrógenos pueden inducir signos de DGM. Los bifenilos policlorados pueden causar un trastorno sistémico con características similares a las de la DGM. Ciertos trastornos cutáneos muestran una estrecha asociación con la DGM. En general, el acné rosácea, la dermatitis atópica, la seborrea seca y la psoriasis están asociadas a DGM no cicatricial, mientras que las enfermedades conjuntivales cicatriciales como el tracoma, el eritema multiforme y el penfigoide conducen a una DGM cicatricial. Un acontecimiento clave en la DGM no cicatricial es la hiperqueratinización del conducto terminal, que conduce a obstrucción y dilatación ductales, así como a atrofia por inactividad de las glándulas. Más adelante puede surgir oclusión de los orificios. La obstrucción puede verse exacerbada por cambios en la composición del aceite que incrementan la viscosidad del meibo. El grado en que se encuentran los cambios inflamatorios alrededor de las glándulas afectadas varía según el estudio, pero es frecuente que existan signos de inflamación en el borde palpebral. Pueden liberarse mediadores inflamatorios y lípidos sobre la superficie ocular causantes de daños epiteliales. En la DGM cicatricial, las cicatrices conjuntivales submucosas arrastran los orificios meibomianos, los conductos terminales y la unión mucocutánea en dirección posterior, a través del borde posterior del párpado y sobre la placa tarsal, donde los conductos estenosados y desplazados dejan de poder administrar aceite eficazmente a la CLPL. La reducida secreción de meibo y los cambios en la composición del aceite conducen a la inestabilidad de la película lagrimal, al aumento de la evaporación y, en último término, al OSE. En la DGM con emisión baja, los síntomas pueden surgir de la propia enfermedad local del párpado, de la enfermedad palpebral con daño en la superficie ocular y del OSE. En la seborrea meibomiana, la expresión glandular libera cantidades abundantes de meibo desde los orificios de la glándula, lo que ha dado paso a la idea de que se trata de una afección hipersecretora. Existe menos prolapso glandular que en la DGM obstructiva, y se producen cambios distintivos en la composición del meibo. Se asocia con dermatitis seborreica y no causa OSE.

La fase aguda de la enfermedad ocular se caracteriza por la aparición de una queratoconjuntivitis membranosa. En la fase crónica, la mayoría de los pacientes presenta inflamación conjuntival, simbléfaron, entropión, triquiasis, deficiencia de células madre limbares y conjuntivalización y neovascularización corneales [863]. Existe una estrecha relación entre la pérdida de células madre epiteliales corneales y el grado de deficiencia visual [864].

Se han registrado diversos cambios en la lágrima de los pacientes con SSJ/NET y la IL-17 se halla elevada, al igual que en otras formas cicatrizantes de EOS grave [865]. Se cree que un descenso de los niveles de dos proteínas de origen lagrimal, la lactoferrina y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), contribuye a los daños en la superficie ocular [866]. La MMP-8, la MMP-9 y la mieloperoxidasa (MPO) se hallaban elevadas en el SSJ, y la proporción entre MMP e inhibidor tisular de la metaloproteinas era alta, lo que indica una posible contribución a la fusión corneal [149].

La EOS suele presentar extrema gravedad en el SSJ/NET, con ausencia total de producción lagrimal. En este caso, la inflamación recidivante induce metaplasia escamosa y queratinización de todo el epitelio conjuntival, con una menor densidad de células caliciformes [867]. Esto se asocia a hiperproliferación epitelial y a expresión de transglutaminasa I [868-870] y de filagrina [871].

Translated into Spanish by Allergan

**9.2.4.4. Penfigoide mucoso y penfigoide cicatricial ocular.** El penfigoide mucoso es una enfermedad progresiva ampollosa autoinmunitaria crónica que afecta a las mucosas de numerosos lugares y ocasionalmente a la piel. Afecta más a las mujeres que a los hombres (M:H 2:1) [872], y suele presentarse en las últimas décadas de la vida ( $\geq 60$  años), aunque puede aparecer incluso en la primera década de vida.

El penfigoide mucoso afecta sobre todo a la mucosa oral (el 85 % de los pacientes) y conjuntival (65 %), y menos a la nasal (20-40 %), a la piel (25-30 %), a la región anogenital o a la faringe (20 %), a la laringe (5-15 %) y al esófago (5-15 %) [873-875]. La afectación conjuntival se denomina penfigoide cicatricial ocular (PCO). Los episodios de inflamación y separación epitelial van seguidos de fibrosis, lo que puede causar estenosis peligrosas para la vida en la laringe o en el esófago o, en el caso del ojo, puede conducir a la ceguera. La gravedad y el número de localizaciones mucosas son variables, y la forma oral puede producirse de forma aislada. En un estudio británico, el penfigoide mucoso ocular (que implica PCO) supuso el 61 % de los casos de conjuntivitis cicatricial de nuevo diagnóstico, con una incidencia estimada de 0,8 por cada millón de personas [804]. En Francia y Alemania se ha comunicado una incidencia de 1,3-2,0 [876,877].

Se ha propuesto una susceptibilidad genética para la PCO por asociaciones con HLA B12, HLA A3, HLA-DR4 y HLA-DQB1\*0301 [878,879]. Igualmente, se han descrito asociaciones con la artritis reumatoide [880] y la granulomatosis de Wegener [881]. La enfermedad puede desencadenarse o exacerbarse por una intervención quirúrgica [882], y ocasionalmente se han notificado MMP como reacción a la exposición a un fármaco.

La patogenia de las MMP implica una pérdida de tolerancia inmunitaria a los componentes de la lámina basal epitelial y una reacción inducida por anticuerpos y mediada por el complemento que conduce a un desprendimiento epitelial [873]. La separación epitelial puede deberse a los efectos citotóxicos de mediadores inflamatorios o a la liberación de proteasas lisosómicas [883]. El TGF- $\beta$  puede desempeñar un papel en el proceso de cicatrización [884].

Se han hallado autoanticuerpos en suero contra antígenos de penfigoide ampolloso (BPAG) 1 y 2, subunidades de integrina  $\alpha 6/\beta 4$ , laminina-5, laminina-6 y colágeno de tipo I. Los BPAG2 y las integrinas  $\alpha 6/\beta 4$  son proteínas transmembranales unidas por la laminina-5 a las fibrillas de anclaje epitelial, compuestas por colágeno de tipo VII. Estos elementos son importantes para la fijación epitelial. El diagnóstico del penfigoide mucoso o PCO se basa en el cuadro clínico y en la demostración, mediante microscopia de inmunofluorescencia directa, de depósitos lineales de IgG, de IgA o de C3 en la lámina basal en una biopsia perilesional.

La presencia de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y de linfocitos B en infiltrados conjuntivales sugiere participación de la inmunidad celular en la PCO [884,885,886], donde los linfocitos Th17 desempeñan un papel destacado [887]. Se han observado células de Langerhans que expresan moléculas coestimulantes para la activación de los linfocitos T (CD86<sup>+</sup>) [888,889], y se considera que los mastocitos del tejido conjuntivo ejercen un papel fundamental en el proceso fibrótico [890]. También se encuentran linfocitos CD14<sup>+</sup> entre los CD45<sup>+</sup> en la conjuntiva con PCO [891].

Por otra parte, se considera que el aumento de la expresión de factor estimulante de las colonias de macrófagos, proteína de choque térmico de unión al colágeno 47, TGF- $\beta 1$  e IL-4 incrementa tanto la inflamación como la cicatrización conjuntivales en el PCO [892-895]. En consonancia con otros trastornos inflamatorios de la superficie ocular, se ha percibido un aumento de los niveles de MMP-8, MMP-9 y MPO en la lágrima de los pacientes con PCO [149,896], así como de IL-8 [896].

Las características clínicas del PCO son fibrosis subepitelial progresiva, acortamiento del fondo de saco, simbléfaron, anquilobléfaron, obstrucción de los conductos meibomianos y EOS. Asimismo, se producen entropión, triquiasis y neovascularización y cicatrización corneales. La fibrosis conjuntival se asemeja a la del EICH y el SSJ/NET. Podría decirse que los estadios son: estadio I - fibrosis subepitelial, estadio II - acortamiento del fondo de saco, estadio III - simbléfaron- y estadio IV - anquilobléfaron y queratinización de la superficie [897].

Al igual que en otras mucosas afectadas, la causa iniciadora del PCO es una separación del epitelio del estroma subyacente seguida de fibrosis subepitelial [898]. Se evolución clínica es lenta, y el diagnóstico se retrasa en comparación con el del SSJ/NET, con una mediana de 225 días transcurridos desde la aparición de los síntomas, en comparación con los 7 días del SSJ/NET [804]. La gravedad puede ser asimétrica entre ambos ojos, pero la enfermedad suele progresar hasta afectar a la conjuntiva palpebral y bulbar bilateralmente [899]. La aparición de la EOS es relativamente tardía en la enfermedad. Como en otras formas de conjuntivitis cicatricial, entre los factores que contribuyen se encuentran la obstrucción de las glándulas lagrimales y de los conductos de las glándulas de Meibomio, la pérdida de células caliciformes conjuntivales [435], la alteración de la expresión de mucinas en el glucocáliz epitelial, la queratinización epitelial y la dificultad para extender la película lagrimal.

**Tabla 12**

Acontecimientos inflamatorios en la conjuntiva de los pacientes con enfermedad del ojo seco deficiente de capa acuosa.

Acontecimiento	Técnica empleada				Tipo de enfermedad del ojo seco
	Citometría de flujo	IHQ o IF*	ARNm: citología de impresión	Hallazgos frente a los sujetos de control	
Metaplasia		SPRR1 $\beta$	SPRR1 $\beta$ , SPRR2a, SPRR2 $\gamma$	Incremento	
Inflamación			IL-1 $\alpha$ y $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ y TGF- $\beta$ 1	Incremento	
		MUC1		Descenso	
		IL-6		Incremento	
		IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$		Incremento	
			IL-8, efrina	Incremento	
			IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ y TGF- $\beta$ 1	Incremento	
Activación inmunitaria			HLA-DR		
	Células HLA-DR +	CD11c + HLA-DR+		Incremento en los pacientes, descenso después del tratamiento	
			HLA-DR	Incremento	
Respuesta de los linfocitos T	Linfocitos CD4+ CXCR3+	CXCL9, -10, y -11 y CXCR3		Incremento	
	Linfocitos CD4+CCR5+		CCR5	Incremento	
		IFN- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ R, IL-13, IL-13R, MUC5AC		Incremento de IFN- $\gamma$ e IFN- $\gamma$ R; sin cambios en IL-13 y en su receptor, descenso de MUC5AC	
			IL1 $\beta$ , IL-6, IL-23, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , MMP-9, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2	Incremento	
Tráfico de células inmunitarias	ICAM-1				
			ICAM-1	Incremento	
Producción de MMP		MMP-9	MMP-9	Incremento	
			MMP-9, transglutaminasa 2	Incremento	
Estrés oxidativo		HEL, 4NE		Incremento	
		Marcadores de peroxidación		Incremento	
		XO generadora de ERO		Incremento	
		Antioxidación de ERO por SOD, Cat y GP		Descenso	
Estrés en el RE			GPR78, sXBP1	Incremento	
Otros			hBD2	Incremento	
			hBD1, hBD3	Sin cambios	
			KLK7, CXCL9	Incremento	
			Acuaporina 3; IFN- $\gamma$ R	Descenso	

Clave: \* = biopsia o citología de impresión; IHQ = inmunohistoquímica; IF = inmunofluorescencia; Cat = catalasa; hBD = defensinas humanas; GP = glutatión peroxidasa; OSNS = ojo seco no asociado al síndrome de Sjögren; OSSS = ojo seco por síndrome de Sjögren; SOD = superóxido dismutasa; SPRR = proteínas pequeñas ricas en prolina; XO = xantina oxidoreductasa / xantina oxidasa; SOD; KLK7 = calicreína 7; GPR78 = proteína regulada por la glucosa de 78 kDa; sXBP1 = proteína de unión a la secuencia X 1 ayustada. Para otras abreviaturas, véase el texto. Encontrará una lista detallada de los biomarcadores lagrimales encontrados en la enfermedad del ojo seco en el informe del Subcomité de Película lagrimal.

**9.2.4.5. Pénfigo.** El pénfigo es una enfermedad autoinmunitaria ampollosa potencialmente mortal de la piel y las mucosas cuya incidencia es de 0,1-0,5 pacientes por 100 000 personas al año. Rara vez se produce en la infancia [900]. Se debe a la formación de autoanticuerpos patógenos dirigidos contra proteínas desmosómicas involucradas en la adhesión intercelular. El pénfigo vulgar (PV), la variante más habitual, se caracteriza por la presencia de anticuerpos IgG circulantes contra la desmogleína 3 (Dsg3) y, en cerca de la mitad de los pacientes, la Dsg1 [901,902].

El hallazgo ocular característico es el PV es la conjuntivitis con hiperemia y secreción mucosa [900]. Las ampollas y erosiones conjuntivales y el simbléfaron son infrecuentes, aunque las biopsias conjuntivales pueden mostrar resultados histopatológicos y por inmunofluorescencia directa similares a los de las biopsias de piel [903]. A pesar de que las manifestaciones oculares del pénfigo vulgar pueden preceder a las lesiones orales o cutáneas desde varios días hasta meses, las secuelas oculares son generalmente más leves que las del PCO y los síntomas suelen mejorar cuando se instaura tratamiento sistémico. Puede suceder que la resolución espontánea de los cambios oculares del pénfigo, en comparación con los del PCO, esté relacionada con la ausencia de afectación de la lámina basal [1210].

**9.2.4.6. Tracoma.** El tracoma es una queratoconjuntivitis cicatrizante crónica que se inicia a causa de infecciones recurrentes por *Chlamydia trachomatis* en la infancia. Las complicaciones cicatriciales, que son causa de ceguera en todo el mundo, suelen producirse en la edad adulta e incluyen opacidad corneal por cicatrización tarsal y conjuntival, deficiencia de células madre limbares y triquiasis. La EOS forma parte del cuadro general, ocasionada por obstrucción de los conductos de las glándulas lagrimales, pérdida de células caliciformes, obstrucción de la glándula de Meibomio en cicatrización y yuxtaposición incorrecta de los párpados [904]. Cuando la enfermedad es crónica, el engrosamiento de los párpados se debe a una lámina subepitelial fibrosa adherente a la placa tarsal [905] cuya cuantificación mediante microscopía confocal *in vivo* (IVCM) muestra una buena correlación con los hallazgos histológicos [906]. Al-Rajhi describió un grado variable de atrofia en las glándulas de Meibomio [905]. No parecen haberse realizado estudios sistemáticos de la evolución de los cambios cicatriciales en las glándulas lagrimales o en las de Meibomio.

**9.2.4.7. Lesión química.** Las lesiones químicas accidentales o deliberadas en los ojos, p. ej., por exposición a ácidos y álcalis, constituyen una causa importante de discapacidad ocular sintomática crónica, lo que incluye pérdida de visión que puede desembocar en ceguera. Suelen acarrear dramáticas consecuencias personales. Cuando son extensas, los efectos de la inflamación y de la destrucción tisular pueden agravarse por la EOS, debido a los daños producidos en la glándula de Meibomio y la superficie ocular, así como la obstrucción de la secreción lagrimal. Su importancia numérica se ha puesto de relieve en un estudio poblacional realizado en Estados Unidos durante un periodo de 2 años, que registró una media de 15 865 casos nuevos de quemaduras químicas al año, lo que produjo una tasa de incidencia de 51,10 casos nuevos por millón al año [907]. Si extrapolamos esta cifra, se prevé un mínimo de 357 710 accidentes por quemaduras

cada año en todo el mundo.

Se trata de un tema importante por derecho propio que este Subcomité no va a tratar con detenimiento, salvo para orientar al lector hacia diversas revisiones excelentes acerca de la fisiopatología, la clasificación y la influencia del alcance topográfico y la gravedad del pronóstico [908-912]. Los planteamientos actuales se basan particularmente en una evaluación del alcance de la lesión limbar y del alcance y la profundidad de la lesión corneal [910,911]. Gupta et al. han llegado a la conclusión de que la subdivisión de las lesiones de grado IV en otras 3 subdivisiones efectuada por Dua [910] poseía valor predictivo en comparación con el método de Roper-Hall [912]. Aunque se reconoce en general que la EOS subsiguiente a una lesión química extensa contribuye a un pronóstico desfavorable, ha habido escasos estudios formales acerca de su contribución [913]. Esta cuestión podría estudiarse mediante un estudio longitudinal y multicéntrico.

### 9.3. *Los estados hiposecretores por insuficiencia de la unidad funcional lagrimal*

Esta sección aborda la EOS producida por hiposecreción lagrimal, frente a la ocasionada por enfermedad orgánica de la glándula lagrimal. En un ojo sano, la secreción lagrimal está bajo el control de la UFL, con aportaciones adicionales de los centros superiores. La producción secretoria depende, por tanto, de la integridad de las ramas aferente y eferente del arco reflejo. La influencia del fallo de ese reflejo sobre la secreción conjuntival y meibomiana es incierta. A continuación veremos la contribución a la EOS de los fallos en la UFL.

#### 9.3.1. *Bloqueo aferente del reflejo*

La producción lagrimal se halla bajo regulación neural, y una alteración en la entrada del trigémino desde la córnea puede causar EOS al bloquear la secreción de proteína lagrimal, electrólitos y agua [13]. Los terminales nerviosos corneales también ejercen una serie de funciones tróficas que contribuyen a la proliferación de las células epiteliales o a su migración [914-916], y posiblemente a su regulación inmunitaria. Puede producirse una pérdida de tono sensorial de varias maneras.

**9.3.1.1. Uso de anestésicos tópicos.** La aplicación bilateral de proximetacaína tópica disminuye la frecuencia de parpadeo aproximadamente en un 30 % y la secreción lagrimal en el 60-75 % por falta de estimulación neurosensorial del trigémino [217]. El uso crónico y el abuso de los anestésicos tópicos puede provocar daños permanentes en la córnea conducentes a opacidad, fusión y perforación corneales [917]. Se considera que la EOS contribuye a estos cambios debido al menos a la falta de lágrima y a la disminución del parpadeo, aunque otros factores adicionales pueden ser la pérdida de funcionalidad de los nervios tróficos y la toxicidad directa.

**9.3.1.2. Lesión del trigémino.** Los daños producidos en el nervio trigémino, ya sea por lesión quirúrgica o accidental, pueden producirse en cualquier punto de su recorrido, desde el núcleo, la raíz o el ganglio del trigémino, su rama oftálmica y en la superficie ocular. La gravedad de sus efectos sobre el ojo depende del alcance de los daños.

9.3.1.3. *Cirugía refractiva.* Las complicaciones por disrupción de la inervación sensorial corneal son una característica de la cirugía refractiva, como la queratoplastia fotorrefractiva (PRK) y la queratomileusis in situ con láser (LASIK) [918], consecuencia en parte de la reducción de secreción lagrimal [259,919], el descenso de la frecuencia de parpadeo [259,920], la pérdida de apoyo trófico [921] y los cambios en la composición y estabilidad de la lágrima [922]. El síndrome clínico de dolor y queratitis puntiforme del colgajo se ha denominado en el pasado EOS por LASIK, y seguiremos refiriéndonos a él de este modo. Se produce hasta en un 60 % de los pacientes durante el primer mes tras la intervención, y disminuye en intensidad a lo largo de los 6-12 meses siguientes [923,924]. Un observador ha registrado hiperosmolaridad lagrimal [925]. La queratitis puntiforme del colgajo, aunque no en la región de la bisagra, respalda el papel causal de la denervación sensorial y la activación neuropática de las terminaciones sensoriales lesionadas –lo que Wilson denominó neuroepiteliopatía inducida por LASIK o LINE [926]–. Igualmente, se ha propuesto que el NGF y otros neuropéptidos, como la sustancia P o el CGRP, pueden ser factores clave en este síndrome [918]. Ambas etiologías no son mutuamente excluyentes, y es probable que puedan darse a la vez EOS por LASIK y LINE, en cuyo caso un indicio de la presencia de EOS sería una epiteliopatía puntiforme que afecte tanto al colgajo del LASIK como a la córnea/conjuntiva de fuera de él, en una distribución típica de EOS. El lector encontrará más información en los informes de los Subcomités de Ojo seco iatrogénico y de Dolor y sensación.

9.3.1.4. *Queratitis neurotrófica.* La queratitis neurotrófica (QN) es una enfermedad poco frecuente de la córnea causada por disfunción de la inervación sensorial corneal. Esta enfermedad se caracteriza por una disminución o ausencia de sensibilidad corneal, combinada con una anestesia más extensa del globo que incluye como mínimo el párpado superior y la mucosa nasal. La gravedad de la queratitis neurotrófica oscila desde la queratitis epitelial puntiforme, la opacidad corneal con neovascularización superficial, la inflamación y pérdida epiteliales graves, el defecto epitelial persistente y las úlceras corneales incoercibles, que pueden progresar a perforación [927]. Dado que el ojo está insensible, el diagnóstico puede retrasarse. Aunque existen numerosas enfermedades oculares y sistémicas que pueden provocar queratitis neurotrófica, la causa más habitual es una infección vírica, particularmente una queratoconjuntivitis por herpes zóster y, rara vez, queratitis por herpes simple. También puede deberse a una compresión nerviosa. En la actualidad es una consecuencia menos frecuente de las intervenciones quirúrgicas de neuralgia del trigémino.

Cuando la división oftálmica del trigémino se ve atacada por H. Zoster, la afectación de la rama nasociliar del nervio oftálmico, precedida por un exantema zosteriforme en la raíz de la nariz, es un factor de riesgo de herpes zóster oftálmico (HZO) [928]. La EOS constituye una característica importante. En un estudio sobre queratitis neurotrófica por HZO, la pérdida sensorial afectaba a la córnea, al párpado superior y a la ceja del lado dañado, así como a la mucosa nasal, como revelaba la pérdida del reflejo nasolagrimal [255]. Se produjeron queratitis puntiforme difusa y descenso pronunciado de la producción lagrimal refleja; esto último se

atribuyó a una pérdida del tono secretomotor tanto de la córnea como de la mucosa nasal ipsilaterales. La existencia de un descenso menor del lagrimeo reflejo en el lado contralateral y de un menor grado de tinción corneal se consideraron debidos a una reducción de la frecuencia de parpadeo y al efecto de la inervación cruzada sobre la producción lagrimal en el ojo contrario [255]. Cabe destacar que, en aquellos pacientes con HZO sin queratitis neurotrófica el reflejo nasolagrimal estaba intacto.

Se cree que una de las características de la queratitis neurotrófica es la pérdida de apoyo trófico. Estos factores tróficos, que promueven la proliferación y diferenciación epiteliales y la cicatrización corneal [929] se expresan en los nervios corneales y en el epitelio, e incluyen el factor de crecimiento nervioso (NGF), la SP, el CGRP, el NPY y el factor insulinoide de crecimiento (IGF-1). Hablaremos de ellos con más detenimiento en el informe del Subcomité de Dolor y sensación.

La combinación clínica de IGF-1 con un péptido derivado de la SP ha resultado prometedora en el tratamiento de la queratitis neurotrófica [930], y en otro estudio preliminar, la aplicación tópica de NGF murino logró eficazmente recuperar la córnea y restaurar la sensibilidad corneal en 12 pacientes con queratitis neurotrófica [931]. Esto se confirmó posteriormente en un grupo mayor de pacientes con queratitis neurotrófica de moderada a grave [932]. Se está llevando a cabo un ensayo clínico con un nuevo colirio hrNGF en pacientes con queratitis neurotrófica de moderada a grave tanto en Europa como en EE. UU.

9.3.1.5. *Uso de lentes de contacto.* Los usuarios de lentes de contacto pueden experimentar molestias oculares, a menudo interpretadas como sequedad, así como un grado variable de disminución de la sensibilidad corneal. Este tema se trata en el Taller de la TFOS sobre las Molestias Ocasionadas por las Lentes de Contacto [933], y se estudiará con más detalle en el informe del Subcomité sobre Ojo seco iatrogénico.

### 9.3.2. Bloqueo secretomotor

9.3.2.1. *Lesión parasimpática.* Pueden producirse daños en la inervación parasimpática de la glándula lagrimal tras una lesión en el *nervio intermedio* durante una intervención quirúrgica por schwannomas vestibulares en el ángulo pontocerebeloso. Un lagofthalmos asociado debido a lesión del VII par craneal puede terminar de agravar la EOS resultante [934]. También se ha descrito EOS como consecuencia de schwannomas que afectaban al nervio petroso superficial mayor o por lesión del nervio en el momento de su extirpación [935,936].

9.3.2.2. *Inhibición farmacológica de la secreción lagrimal.* Se han mencionado numerosos medicamentos sistémicos como factores de riesgo para la EOS, como antidepresivos, anticolinérgicos, antipsicóticos, espasmolíticos y antihistamínicos, así como quimioterápicos, antihipertensivos, antiarrítmicos, antitiroideos y analgésicos opiáceos [937,938]. Estos fármacos se emplean en pacientes ancianos para tratar afecciones frecuentes en ellos, como depresión, enfermedad de Parkinson y artritis. Aproximadamente el 76 % de los estadounidenses de 60 años o más tomaban dos o más medicamentos con receta, y el 37 % cinco o más entre 2007 y 2008 [939]. Otro estudio reveló también que los pacientes que

tomaban descongestivos, antihistamínicos y vitaminas presentaban una mayor incidencia de EOS [940]. Asimismo, cabe suponer que puede haberse subestimado la notificación de la prevalencia de la EOS en los ensayos clínicos.

En el informe del Subcomité de Ojo seco iatrógeno figura un estudio completo sobre la EOS iatrógena.

### 9.3.2.3. Bloqueo combinado aferente y eferente

9.3.2.3.1. *Disautonomía familiar.* La disautonomía familiar (*síndrome de Riley-Day*) es un trastorno autosómico recesivo ocasionado por mutaciones en un gen que codifica una proteína asociada a la IκB cinasa [941]. La disfunción lagrimal, la EOS y el daño corneal constituyen características destacadas de este trastorno, en el que existe una insensibilidad generalizada al dolor desde el nacimiento que va acompañada de una carencia pronunciada tanto de lagrimeo emocional como reflejo. Se produce un defecto progresivo de la inervación cervical simpática y parasimpática de la glándula lagrimal y de la inervación sensorial de la superficie ocular que afecta a las neuronas pequeñas del trigémino tanto mielinizadas (Aδ) como sin mielinizar (C).

## 9.4. Otros trastornos

### 9.4.1. Síndrome de Meige: blefaroespasmó y ojo seco

El blefaroespasmó esencial es una enfermedad caracterizada por una contracción espontánea, excesiva, intermitente o constante de los músculos periorbitarios, principalmente del *orbicular de los párpados*, que se produce sin que exista otra causa neurológica u oftalmológica [942]. En el síndrome de Meige el espasmó se extiende hasta incluir otros músculos faciales, la lengua, la faringe y los músculos cervicales. Se desconoce cuál es la causa del blefaroespasmó, pero en ocasiones puede ser de origen medicamentoso o estar asociado a una enfermedad cerebral. Existen varios trabajos que apuntan a cierta relación entre el blefaroespasmó y la EOS [943,944]. También se ha descrito que el 57 % de los casos de EOS resistente al tratamiento están asociados a síndrome de Meige [945]. En el pasado se han utilizado con éxito psicotrópicos orales o la resección del músculo orbicular [942,946-948], pero en los últimos años se considera que la inyección local de toxina botulínica es el tratamiento más eficaz [944,947,949].

### 9.4.2. Diabetes mellitus

Los pacientes con diabetes se quejan de síntomas de EOS. Existen pruebas de que los parámetros de la película lagrimal se ven alterados en los pacientes con diabetes, con una reducción del tiempo de ruptura de la lágrima y de la secreción lagrimal [950]. También se ha hallado una correlación entre los signos y síntomas de la EOS y el grado de neuropatía periférica y la gravedad de la retinopatía periférica [951]. Entre los factores que se cree que contribuyen a la disminución de la producción lagrimal en la diabetes se encuentran los daños microvasculares producidos en la glándula lagrimal por la hiperglucemia, menor inervación lagrimal por la neuropatía autonómica, descenso del apoyo trófico para el tejido lagrimal y menor reflejo de lagrimeo por afectación de la sensibilidad corneal [951]. La reducción de la estabilidad de la película lagrimal y del TBUT tal vez se deban a la menor producción de mucina en las células caliciformes. La densidad de

las células caliciformes se cree que depende de la inervación corneal, y se ha observado que las disminuciones de dicha inervación reducen la funcionalidad de las células caliciformes [952]. Este mecanismo también está implicado en la EOS subsiguiente al LASIK [918]. (Véase también el informe del Subcomité de Sexo, género y hormonas).

### 9.4.3. Pseudoexfoliación

La pseudoexfoliación (PEX) es un trastorno de la lámina basal cuya frecuencia aumenta con la edad y se caracteriza por la acumulación de cúmulos de microfibrillas sobre la superficie de la cápsula del cristalino, el cuerpo ciliar, el iris, la malla trabecular y la conjuntiva [953,954]. En pacientes con PEX, tanto la prueba de Schirmer como el tiempo de ruptura de la película lagrimal fueron significativamente inferiores a los de un grupo de control [955]. El número de células caliciformes por unidad de superficie de la conjuntiva no era distinto del del grupo de control, pero bajo el microscopio electrónico se encontraban los típicos filamentos de pseudoexfoliación en el estroma en los pacientes con PEX, así como cambios notables en el empaquetamiento de la mucina y en la morfología de las células caliciformes [956].

## 10. Ojo seco evaporativo

### 10.1. Introducción

Como hemos dicho, todas las formas de EOS son evaporativas, en el sentido de que la hiperosmolaridad lagrimal y de la superficie ocular solo puede surgir en respuesta a la evaporación. La pérdida hiperevaporativa implica que el ritmo de pérdida evaporativa por unidad de la superficie ocular se halla por encima del intervalo normal, medido en un parpadeo individual espontáneamente en condiciones ambiente estándar sin imponer DES.

Según el informe TFOS DEWS [1], el OSE se produce como consecuencia de una pérdida de la función de barrera evaporativa de las lágrimas o por una menor humectabilidad de la superficie ocular. Esto ha dado pie a una subclasificación en OSE relacionado con el párpado y EOS relacionada con la superficie ocular. Esta última forma de OSE representa un punto de entrada distinto en el círculo vicioso en el cual la inestabilidad lagrimal, que conduce a una ruptura de la película lagrimal en el intervalo de parpadeo (y un IPO <1), es la iniciadora de la hiperosmolaridad lagrimal. La existencia de formas híbridas de EOS que incluyen un componente evaporativo se trata en otros lugares de este informe y se resume en la Tabla 13.

### 10.2. Ojo seco evaporativo relacionado con el párpado (OSE intrínseco)

#### 10.2.1. Cambios en las glándulas de Meibomio relacionados con la edad

Existe un consenso general en torno a que los ácinos de las glándulas de Meibomio se van perdiendo con la edad. Arita ha estudiado la pérdida de las glándulas de Meibomio mediante meibografía infarroja sin contacto en 236 voluntarios sanos de 4 a 98 años de edad [957]. El prolapso glandular se expresó mediante una puntuación meiboscore combinada para los párpados superior e inferior de un ojo. Se observaron pocos cambios en las glándulas de Meibomio tanto en los hombres como en las mujeres menores de 20 años, momento a partir del cual se observaba un prolapso

significativo con la edad, sin diferencias estadísticas entre ambos sexos. Den et al. [958] señalaron que la puntuación de prolapso de la glándula de Meibomio empezaba a ser positiva a partir de los 40 años de edad, y Mathers et al. [763] realizaron una observación similar, a lo que se sumaba una alteración en la expresibilidad del meibo en consonancia con la DGM obstructiva.

Villani et al. [390], mediante TCO, mostraron un descenso relacionado con la edad en el número de ácnos y en el diámetro de estos, junto con una mayor reflexividad de la secreción y cambios en las paredes acinares, en un estudio de 100 sujetos asintomáticos de 20 a 83 años de edad. Los cambios eran similares en los hombres y en las mujeres, y no iban acompañados de cambios en el tamaño de los orificios. Eran más pronunciados a los 50 y 60 años de edad, lo que contrasta con los hallazgos de Arita et al. [959], que observaron prolapso mediante meibografía a partir de los 20 años de edad. Los estudios histopatológicos de Obata et al. [624] respaldan la aparición de atrofia en los ácnos sin dilatación de estos, situación distinta de la que produce la enfermedad obstructiva.

Estos estudios indican que la pérdida de los ácnos meibomianos con la edad puede por un lado deberse a una atrofia acinar primaria no obstructiva relacionada con la edad, y por otro a una DGM obstructiva. Esto está en línea con las observaciones de Nien et al. [960] a escala celular, con una menor diferenciación y ciclo celular de los meibocitos, junto con una disminución de la expresión del factor de lipogénesis, el receptor y activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR  $\gamma$ ), en sujetos mayores de 50 años. Asimismo, existen cambios relacionados con la edad conocidos en la composición lipídica polar y neutra del meibo [627]. Este artículo también refiere que el envejecimiento en hombres y mujeres iba igualmente acompañado de un grado de eritema palpebral, telangiectasia, descamación, queratinización, márgenes posteriores irregulares, metaplasia de los orificios de las glándulas de Meibomio y opacidad en la secreción de las glándulas de Meibomio significativamente mayores. Tanto la atrofia simple como la DGM obstructiva podrían dar lugar a una menor secreción potencial de meibo con la edad, pero no necesariamente provocar disfunción lagrimal.

#### 10.2.2. *La influencia de las hormonas sexuales en la funcionalidad de las glándulas de Meibomio*

El funcionamiento meibomiano está muy influido por las hormonas sexuales, en particular los andrógenos (véase el informe del Subcomité de Sexo, género y hormonas). En líneas generales, los andrógenos estimulan la síntesis y secreción de lípidos por parte de la glándula de Meibomio y suprimen la expresión de los genes relacionados con la queratinización [36,49,653,961,962]. Por el contrario, una deficiencia de la acción androgénica, como la que se produce en el envejecimiento, en el síndrome de Sjögren, con el tratamiento antiandrogénico y en el síndrome de insensibilidad completa a los andrógenos, se asocia a disfunción de las glándulas de Meibomio, alteración de los perfiles lipídicos del meibo e indicios de menor estabilidad de la película lagrimal [36,622,623,628]. La influencia de las hormonas sexuales y de otros tipos sobre la funcionalidad y las enfermedades de las glándulas de Meibomio se abordan íntegramente en el informe del Subcomité de Sexo, género y hormonas.

#### 10.2.3. *Disfunción de las glándulas de Meibomio*

El término disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM) lo introdujeron por primera vez Korb y Henríquez en 1981, y se ha utilizado durante muchos años para identificar la etiología más frecuente del OSE y para diferenciarlo de otras enfermedades de estas glándulas [963,964]. Se ha integrado en la literatura médica y proporciona un término útil para una afección bien caracterizada. Puede suceder que en sus fases más tempranas adopte la forma de un trastorno funcional que impida la emisión de aceite meibomiano en el borde palpebral, pero en la forma que presenta clínicamente se trata de una enfermedad que entraña modificaciones patológicas en la glándula que pueden ser irreversibles. El término de DGM *obstructiva* lo acuñó Mathers [965]. El lector encontrará una excelente revisión de la historia y del concepto de DGM, así como de su relación con otras formas de blefaritis en el trabajo de Blackie y Korb [184].

10.2.3.1. *Estado de emisión elevada de meibo: seborrea meibomiana.* La DGM se ha subclasificado en estados de emisión elevada y de emisión baja de aceite (Fig. 12). La prevalencia de los estados de emisión elevada no se ha descrito, pero probablemente sea poco frecuente. Se denomina *seborrea meibomiana* [966], y se encuentra asociada a la dermatitis seborreica y a la rosácea. El diagnóstico se ha basado en la *expresión manual* de grandes volúmenes de meibo procedentes de las glándulas afectadas, y la inferencia de que se trata de un estado de hipersecreción meibomiana es una conjetura que se halla a la espera de confirmación. Sería necesario demostrar, en pacientes que se considere que padecen seborrea meibomiana, que la condición de expresabilidad de grandes volúmenes persiste durante un periodo prolongado. Hasta el momento no existen métodos fiables para evaluar la tasa secretora meibomiana, pero el espesor de la CLPL se hallaba significativamente incrementado en un grupo de pacientes con EOS asociada a DGM hipersecretora y a inflamación del borde palpebral [967]. No se ha establecido un papel causal para la DGM hipersecretora y la EOS.

10.2.3.2. *Estados de emisión reducida de meibo: disfunción de las glándulas de Meibomio obstructiva.* La disfunción de las glándulas de Meibomio es la causa más frecuente de la baja emisión de meibo, debido sobre todo a una enfermedad obstructiva. La DGM obstructiva es la causa más frecuente de OSE [37,180,968], y se cree que el OSE dependiente de la DGM es la forma más habitual de EOS en general [36,376,506,969,970,1066,1211,1212]. Se ha definido recientemente en el Taller TFOS sobre DGM como se indica a continuación, y en ese informe se pueden encontrar más detalles [36,506,970]: “La disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM) es una anomalía crónica y difusa de las glándulas meibomianas, comúnmente caracterizada por la obstrucción del conducto terminal y/o cambios cualitativos/cuantitativos en la secreción glandular. Esto puede tener como resultado una alteración de la película lagrimal, síntomas de irritación ocular, inflamación clínicamente aparente y enfermedades de la superficie ocular”.

La DGM puede ser *primaria* o *secundaria*. La DGM primaria aparece espontáneamente y carece de asociaciones conocidas con otras enfermedades. Su prevalencia aumenta con la edad. La DGM secundaria sí que posee asociaciones de este tipo, por ejemplo, con la laxitud palpebral [971] y los tatuajes en el párpado [544]. En particular, la DGM puede acompañar regularmente ciertas

enfermedades de la piel, como la rosácea, la dermatitis atópica y seborreica, la psoriasis y la ictiosis [966,972], y puede estar inducida por una enfermedad inflamatoria de los párpados y de la superficie ocular y por exposiciones a sustancias químicas, como los medicamentos tópicos con cloruro de benzalconio para el glaucoma. La manera en que la DGM contribuye a y se ve ampliada por la EOS ha sido objeto de estudio por parte de Baudouin et al. [385].

La DGM existe en forma *cicatricial* y *no cicatricial* [37].

**10.2.3.2.1. DGM cicatricial.** En la DGM primaria cicatricial, la obstrucción ductal proviene de la elongación, estiramiento y estrechamiento de los conductos terminales, por lo que cada orificio y conducto asociado es arrastrado desde su posición anterior hacia la unión mucocutánea, en la mucosa conjuntiva marginal. Cuando esto sucede, el conducto terminal afectado queda en horizontal y se observa como una cresta indicadora elevada de la mucosa oclusal del borde libre del párpado, lo que representa los conductos terminales arrastrados expuestos a un epitelio mucoso fluidificado [37]. La DGM primaria cicatricial puede afectar a glándulas dispersas del mismo párpado que muestre DGM no cicatricial. Tal vez sea menos frecuente que la DGM obstructiva, pero la frecuencia de su aparición no se ha documentado.

La DGM cicatricial secundaria está causada por cicatrices conjuntivas, y se da en enfermedades cicatriciales de la conjuntiva. También puede acompañar a la rosácea y a la queratoconjuntivitis primaveral. El proceso se extiende más que en la enfermedad primaria, y los orificios y los conductos son arrastrados hacia la mucosa tarsal, donde, en caso de enfermedad cicatricial grave, pueden dejar de visualizarse, ya que se absorben en el tejido cicatricial. Tanto en la forma primaria como en la secundaria de la enfermedad, incluso en una fase temprana cuando los conductos aún son permeables, una vez se han arrastrado los orificios hacia dentro de la mucosa y, por tanto, hacia dentro del menisco lagrimal, las glándulas no son capaces de segregar su aceite sobre la superficie de la película lagrimal. Al aumentar la gravedad, el proceso conduce a una obstrucción ductal. La DGM no se ha estudiado histológicamente y sería beneficioso llevar a cabo un estudio clinicopatológico dirigido específicamente hacia los orificios, los conductos y las glándulas. El Subcomité recomienda seguir esta línea de investigación.

**10.2.3.2.2. DGM no cicatricial.** En la DGM no cicatricial, los conductos terminales se obstruyen por un proceso de hiperqueratinización [494,625] y de desprendimiento de células del revestimiento ductal en la luz del conducto, donde forman tapones queratósicos [36,39,973,974]. El proceso de hiperqueratinización puede estar vinculado a la expresión considerablemente incrementada de genes de queratina en las glándulas de Meibomio de los pacientes con DGM [505]. Además, es probable que a la obstrucción se sume un aumento de la viscosidad de los lípidos meibomianos debido a los cambios en su composición química y a las posibles interacciones de estos lípidos con proteínas de citoqueratina [183,975]. Se desconoce cuál es la contribución relativa de los residuos celulares y del aumento de la viscosidad lipídica al proceso obstructivo.

Los orificios glandulares siguen localizados en la piel del borde palpebral, inicialmente en posición anterior con respecto a la UMC [37] aunque, con la edad, pueden acabar quedándose detrás de ella

al migrar la UMC hacia delante [454]. Esto posee implicaciones terapéuticas, ya que, si se puede restaurar la funcionalidad glandular, los orificios siguen estando en posición para emitir aceite. La obstrucción se ve acompañada de un engrosamiento y enturbiamiento del meibo expresado, lo que bloquea los conductos y provoca taponamiento de los orificios. Por otra parte, dicha obstrucción conduce a una atrofia secundaria de las glándulas por desuso o por presión [494,976,977], lo que se visualiza como un “prolapso” glandular en la meibografía [959]. La pérdida glandular es similar en el ojo derecho y en el izquierdo, y está correlacionada entre los párpados superior e inferior. Sin embargo, existen diferencias regionales, ya que la pérdida es menor en el párpado superior que en el inferior [978,979], y las mayores pérdidas se producen en las zonas nasal y temporal [979,980]. El prolapso guarda una correlación positiva con el grado de DGM, y está relacionado inversamente con la expresibilidad de la glándula de Meibomio, el espesor de la CLPL y el TBUT [959,980-983]. En otro estudio, el prolapso estaba correlacionado positivamente con la puntuación de síntomas del OSDI y la tinción de la superficie ocular [983]. Resulta interesante el hecho de que puede darse una menor expresibilidad, compatible con un diagnóstico de DGM, en ausencia de prolapso meibográfico [980]. (Véase el informe del Subcomité de Película lagrimal para más información).

La DGM no cicatricial se produce sobre todo como un trastorno primario, con una frecuencia creciente a partir de los 50 años de edad [626]. También posee numerosas asociaciones secundarias, lo cual incluye dermatosis tales como rosácea, dermatitis seborreica y dermatitis atópica [966,972]. Asimismo, el retinoide isotretinoína, utilizado para el tratamiento del acné vulgar, provoca atrofia de las glándulas de Meibomio en un porcentaje de pacientes, lo que puede ir acompañado de características propias de la DGM [644,648].

En la DGM no cicatricial, el diagnóstico se basa en los cambios morfológicos producidos en los orificios meibomianos y en los ácnos glandulares observados mediante biomicroscopia, meibografía sin contacto y microscopia confocal. Los orificios se estrechan, y el anillo distintivo que los rodea cuando están sanos se vuelve menos visible [37,984]. En la enfermedad grave, en estadios en los que existe aumento de la vascularidad y aparición de telangiectasia en el borde palpebral, los orificios se pueden distorsionar para acabar mostrando cicatrices y atrofia. En fases más tempranas, las características incluyen el taponamiento de los orificios por residuos celulares y engrosamiento, enturbiamiento o ausencia de excreción expresada. Desde el punto de vista histológico, se ha dicho que existe una reacción inflamatoria limitada [624,625,978], pero se ha descrito infiltración periglandular de células inflamatorias en la DGM según la microscopia confocal. Los infiltrados aparecen como cuerpos redondeados de elevada reflexividad cuyo número disminuye tras un tratamiento intensivo con higiene palpebral, corticoesteroides tópicos, lágrima artificial tópica sin conservantes y antibióticos tópicos y orales, según un ensayo comparativo frente al uso solamente de higiene palpebral y lágrimas artificiales tópicas sin conservantes [985]. También se han observado puntos de hiperreflexión en la DGM asociada al síndrome de Sjögren [733]. Es preciso identificar estos puntos a escala histológica.

Existen métodos para graduar la DGM [984,986,1206], puntuando el grado de prolapso glandular (meibografía) [959,986,987], la cantidad de aceite del depósito del borde palpebral

(meibometría) [186,988] y el aspecto, las características de dispersión y el espesor de la capa lipídica de la película lagrimal (interferometría) [195,989]. Cada vez se está utilizando más la microscopía confocal para cuantificar los cambios glandulares con gran detalle [390].

La DGM es una afección sintomática por derecho propio cuyos síntomas se deben a la afectación del párpado y a la inflamación de la superficie ocular en ausencia de un aumento de la evaporación [376]. Sin embargo, al progresar la enfermedad, el grado y el alcance de la obstrucción producen una menor emisión de meibo en la película lagrimal [36,180], deficiencia de la CLPL [190,978] y pérdida de su función de barrera [175]. Los cambios en la composición lipídica, la reducción del tiempo de dispersión y la inestabilidad de la capa lipídica también desempeñan un papel en el incremento de la velocidad de evaporación que conduce al OSE [195,375,376,965,990,991].

En su resumen de la bibliografía sobre DGM, Blackie y Korb hacen hincapié en que, sin perjuicio de las características de la enfermedad bien establecida, la DGM a menudo puede presentarse como una afección asintomática de aspecto normal en el borde palpebral con la lámpara de hendidura, lo que, según pronostican, es un factor de riesgo de enfermedad sintomática progresiva [184]. Esta forma de DGM, que denominan *DGM no evidente*, (DGMNE), se reconoció desde el comienzo de la descripción de las DGM [964] y ha sido recogida por otros autores [974]. Dado que no existen signos claros de enfermedad, el diagnóstico debe basarse en el cambio en la calidad de las secreciones expresadas. En una población de varones mayores de 60 años, la mayoría tenía al menos un parámetro de DGM anormal, como calidad del meibo no evidente o vascularidad visible en el párpado, y la calidad lipídica baja –pero no el aumento de la vascularidad– mostró una correlación significativa con la edad avanzada y los síntomas de EOS [992].

Blackie et al. [184] hacen hincapié en la necesidad de realizar una expresión de las glándulas de Meibomio con carácter rutinario para detectar DGMNE y recomiendan efectuar expresiones estandarizadas con su dispositivo de expresión creado al efecto [993,994]. Esto ofrece la ventaja añadida de proporcionar una puntuación numérica de la expresión, el número de glándulas de Meibomio que emiten secreción líquida (puntuación MGYLS). Se ha propuesto que los síntomas de EOS pueden precipitarse en los pacientes con DGMNE en condiciones de desecación o de otros tipos de estrés de la superficie ocular, como al llevar lentes de contacto [964], o en entornos con aire acondicionado al trabajar con videoterminales, el denominado “ojo de oficina” [995-998].

**10.2.3.2.3. El volumen de lágrima en la disfunción de las glándulas de Meibomio.** En situación de equilibrio, las dimensiones del menisco lagrimal, como altura, radio de curvatura y sección transversal, son marcadores sustitutos del volumen del menisco y del volumen y el flujo de la lágrima [170]. Como cabía esperar, aparecen reducidas en el OSDA [172,477,999-1001]. En un estudio de Tung et al., la altura y la superficie del menisco lagrimal eran menores a las del grupo de control, tanto en pacientes con OSNS como con OSSS, y guardaban una correlación negativa con los daños corneales epiteliales [999]. Los pacientes con una altura del menisco lagrimal <210 µm tenían un riesgo relativo de 4,65 de desarrollar enfermedad epitelial corneal grave (tinción corneal con fluoresceína >10), con una razón de posibilidades (odds ratio) = 5,59.

Se ha pronosticado que, en el OSE relacionado con DGM, con una funcionalidad lagrimal normal, el flujo lagrimal –y, de ahí, el volumen lagrimal y las dimensiones del menisco–, se mantendrán por una respuesta compensatoria impulsada por la unidad funcional lagrimal [207]. En relación con esto, Tung et al. mostraron una diferencia no significativa con respecto a los valores normales de control en cuanto a altura y superficie del menisco lagrimal en un grupo de pacientes con DGM sintomática con BUT reducida [999]. En otro estudio se llegó a la conclusión de que un incremento en la producción lagrimal probablemente compensaría la pérdida de glándulas de Meibomio en los pacientes con DGM [1002].

**10.2.3.2.4. DGM secundaria a la exposición sistémica a sustancias químicas.** Asimismo, según lo sucedido en epidemias infrecuentes, la exposición sistémica a bifenilos policlorados mediante la ingestión de aceites de cocinar contaminados provoca un trastorno crónico con grandes y extensos cambios cutáneos acneiformes, seborrea meibomiana con excreción espesa y formación de quistes glandulares [633,1003].

**10.2.3.2.5. DGM relacionada con blefaritis anterior.** Se puede producir disfunción de las glándulas de Meibomio junto con blefaritis anterior, particularmente cuando ambas son manifestaciones secundarias de una dermatosis como la rosácea [641,966,1004-1006]. Una posible fuente de inflamación son las bacterias comensales del párpado [1007], cuyas enzimas lipolíticas son capaces de degradar el meibo, con la producción de especies lipídicas alteradas, como ácidos grasos libres, que son irritantes para los tejidos [1008,1009]. McCully y Dougherty [1007] han pasado revista a la plétora de productos bacterianos que son capaces de inducir inflamación, incluidos los lipopolisacáridos (LPS), los lípidos quimiotácticos como el aldehído 4-hidroxinonal (HNE) derivado de ácidos grasos insaturados, las especies reactivas del oxígeno y los mediadores inflamatorios derivados de lípidos, como el ácido araquidónico, que son la fuente de las prostaglandinas y de los leucotrienos. El papel de los microorganismos en la etiología de la DGM no se conoce con detalle, y no todos los estudios declaran un aumento de la población de bacterias comensales ni un perfil bacteriano homogéneo. Un estudio reciente mostró tasas de cultivo significativamente más altas para aerobios (especialmente *S. epidermidis*) y anaerobios (especialmente *P. acnes*) en el meibo exprimido y en los sacos conjuntivales de los pacientes con DGM solo, y un perfil bacteriano más complejo que en los sujetos de control [63]; sin embargo, en otro trabajo no se apreciaron diferencias en el espectro bacteriano, ni en el párpado ni en los cultivos de meibo exprimido, entre los pacientes con DGM y el grupo de control, a pesar de la presencia de blefaritis anterior en el 76 % de los pacientes con DGM [1010]. Se ha invocado una presencia mayor de lo normal de cultivos de meibo positivos para *P. acnes* en la queratoconjuntivitis relacionada con meibomitis (QCRM) para explicar la asociación con la queratitis flictenoide en niñas pequeñas o en chicas adolescentes a través de un mecanismo de hipersensibilidad diferida (HD) [1011].

Otra causa de blefaritis anterior es el ectoparásito Demodex, que se encuentra cada vez más a medida que avanza la edad en la superficie del cuerpo humano [1012-1014]. Demodex folliculorum se encuentra en el pelo y en los folículos de las pestañas, y Demodex brevis dentro de las glándulas sebáceas, incluidas las de Meibomio [1012-1014]. La infestación de los párpados por Demodex

se indica mediante la presencia de caspa cilíndrica alrededor de la base de las pestañas [1015], y se puede confirmar al demostrarse la presencia de estos ácaros en las pestañas depiladas. Se han observado empleando métodos no invasivos en los orificios de las glándulas de Meibomio, mediante microscopía confocal *in vivo* (IVCM) [1016], pero su papel causante en la DGM [1017] y en la EOS no se ha establecido. Este aspecto ha sido examinado por Cheng et al. [1018].

*10.2.3.2.6. Enfermedades determinadas genéticamente de las glándulas de Meibomio.* La EOS puede deberse a una ausencia general de glándulas de Meibomio o a cambios difusos en las glándulas distintos de los que caracterizan a la DGM.

*10.2.3.2.6.1. Agenesia y distiquiasis meibomianas*

Las glándulas de Meibomio pueden estar ausentes total o parcialmente como afección esporádica [1019] o haber sido sustituidas congénitamente por una hilera extra de pestañas (distiquiasis). La distiquiasis también se puede dar dentro de un síndrome más amplio transmitido por herencia dominante de distiquiasis con linfoedema de las extremidades inferiores, producido por mutaciones por truncamiento del factor de transcripción en cabeza de tenedor, FOXC2 [1020]. Existe un modelo murino de este trastorno, causado por la disrupción dirigida de FOXC2 [1021].

Las glándulas de Meibomio pueden verse afectadas difusamente en ciertos trastornos hereditarios infrecuentes, como la displasia ectodérmica anhidrótica, la epidermólisis ampollosa y la ictiosis, y también se ha descrito en el síndrome de Turner.

*10.2.3.2.6.2. Displasia ectodérmica anhidrótica*

La displasia ectodérmica anhidrótica hace referencia a un grupo de trastornos hereditarios acompañados de malformaciones de los anejos cutáneos ectodérmicos, como los dientes, el pelo, las uñas y las glándulas, incluidas las de Meibomio. Más del 90 % de los pacientes muestra una reducción de las cejas, alteraciones de las pestañas y cambios en las glándulas de Meibomio. Se ha visto que el 94 % de estos pacientes sufre síntomas de EOS en una gran serie de casos descrita por Kaercher [1006], que propone que los cambios en las glándulas de Meibomio detectados por meibografía son el signo ocular más fiable de displasia ectodérmica. Es probable que las células epiteliales meibomianas se vean afectadas directamente por el defecto genético y que la glándula y los conductos se vean afectados de manera difusa.

El síndrome de ectrodactilia (mano o pie hendido), displasia ectodérmica y hendidura (labio leporino y/o úvula bifida y fisura palatina) (EEC) está ocasionado por mutaciones en la región de unión al ADN del gen p63, que controla un factor de transcripción activo durante la embriogénesis y que está relacionado con la diferenciación de las células madre en los epitelios estratificados. Puede producirse de forma esporádica o heredarse como trastorno autosómico dominante con penetrancia y expresión fenotípica variables. Esta afección ha sido revisada con detenimiento por Di Iorio et al. [1022], que encontraron ausencia de glándulas de Meibomio en casi el 100 % de su cohorte y disminución de la secreción acuosa en el 60 %. Se ha descrito obstrucción del drenaje lagrimal (incluidas ausencia, estenosis u oclusión de los puntos lagrimales o de los canaliculos) en el 59-100 % de los casos. La causa principal de la morbilidad visual, que genera una densa queratopatía vascular, es la deficiencia de células madre limbares, que se ha observado en el 60,9 % de la serie de Di Iorio.

*10.2.3.2.6.3. Epidermólisis ampollosa*

La EA describe un espectro de trastornos mucocutáneos y ampollosos de origen genético que se caracterizan por fragilidad y ruptura de la piel en respuesta a la fricción o a los traumatismos mecánicos leves [1023,1024]. El nivel de afectación ocular generalmente es paralelo al de la piel, y consiste en la formación recurrente de erosiones y cicatrices corneales y conjuntivales y, en el caso de la conjuntiva, simbléfaron. Las ampollas corneales y conjuntivales reiteradas pueden dar lugar a abrasión corneal, queratopatía puntiforme, simbléfaron, ectropión, entropión y cicatrización corneal, con agudeza visual reducida e incluso ceguera [1025-1028]. Tong et al. [1029] han declarado una incidencia de complicaciones oculares del 4 % en la forma dominante de la EA distrófica (EADD), del 12 % en la forma más frecuente y leve, la EA simple, (EAS), del 40 % en la EA de la unión (EAU) y del 51 % en la forma grave, recesiva y distrófica de EA (EARD). De ellas, la EA de la unión y la EARD son menos frecuentes que la EADD y mucho menos que la EAS.

Existen diversos subtipos de EA en función de las mutaciones que afectan a la integridad funcional de la unión dermoepidérmica y de la región equivalente de la mucosa. Se denominan con arreglo al nivel ultraestructural de la formación de ampollas. En la forma más frecuente, la EAS, se produce una separación dentro de la capa basal del epitelio, con menos probabilidad de formación de cicatrices que en la forma recesiva, donde se produce escisión al nivel de las fibrillas de anclaje [1030]. En la EAU, el nivel de escisión es dentro de la lámina lúcida del complejo hemidesmosómico, y produce una adhesión epitelial defectuosa. Una forma de EAU (EAU Herlitz), provoca enfermedad extendida y la muerte en la infancia [1031].

La frecuencia de anomalías palpebrales en los niños con EA se basaba antiguamente en estudios retrospectivos [1030] y se limitaba a hacer comentarios sobre la presencia o ausencia de "blefaritis" [1032,1033]. Se ha indicado que esto oscila desde el 0,37 % hasta el 17,65 %, en función del subtipo de EA [1034]. Jones et al. [1030] señalan que el Registro Nacional estadounidense de EA considera la blefaritis como un hallazgo poco frecuente, y que las frecuencias más elevadas se dan en la EARD inversa y grave, la EARD generalizada (aproximadamente un 18 % en cada una) y en los subtipos de EAU (6-7 %) [1034]. Por el contrario, Jones et al. [1030], en un gran estudio prospectivo en el Great Ormond St. de Londres, describieron una frecuencia elevada de DGM en todos los subtipos de EA, aunque la mayor frecuencia y gravedad se producía en las formas más graves, particularmente la EARD y la EAU. En este estudio llevado a cabo cuidadosamente, el diagnóstico de DGM se basaba en los hallazgos de taponamiento y encapsulación del orificio glandular, telangiectasia en el borde palpebral, redondeamiento del borde palpebral y retroposición de la unión mucocutánea. Debido a los problemas asociados a la manipulación del párpado, no fue posible realizar expresión glandular ni meibografía en este grupo de pacientes. Los autores no fueron capaces de determinar si la DGM era de origen primario o secundario a la enfermedad de la superficie ocular relacionada con EA, pero hicieron hincapié en que, una vez establecida, debe contribuir a la frecuencia y gravedad de la enfermedad de la superficie ocular por medio de mecanismos relacionados con el párpado y con la EOS y, por tanto, requería tratamiento por derecho propio.

#### 10.2.3.2.6.4. *El síndrome de ictiosis folicular, atriquia y fotofobia*

(IFAF) es un trastorno infrecuente asociado al cromosoma X que se caracteriza por una alopecia no cicatricial, con ausencia de cejas y de pestañas, fotofobia de aparición neonatal e hiperqueratosis folicular cutánea generalizada. Se trata de un trastorno hereditario del metabolismo lipídico. La gravedad oscila desde la enfermedad cutánea leve hasta diversas variantes con múltiples características extracutáneas (anomalías cerebrales, retraso, displasia ectodérmica y deformidades esqueléticas) [1035].

El típico hallazgo cutáneo en la IFAF son las proyecciones foliculares “espinosas”, que proporcionan a la piel un tacto como de rallador de nuez moscada. En ocasiones se perciben hiperqueratosis en los codos, las rodillas y la cara dorsal de los dedos, mientras que las palmas y las plantas de los pies, los dientes, las uñas y las glándulas sudoríparas no se ven afectadas [1035,1036]. Hay ausencia de tallos del pelo y de glándulas sebáceas [1036-1039], lo cual indica un fallo en el desarrollo de la unidad pilosebácea, y Eramo ha descrito glándulas de Meibomio taponadas y espaciadas irregularmente en un niño de 3 años afectado, lo que indica la presencia de DGM o de una enfermedad relacionada con las glándulas de Meibomio [1036]. Aún no está claro si las glándulas de Meibomio como tales están siquiera presentes, y este aspecto del trastorno merece una revisión general. La histopatología de la piel de la pierna en este paciente mostró que la luz central de todos los folículos pilosos solo contenía residuos de queratosis. No había glándulas sebáceas ni tallos del cabello normales. Había presencia de glándulas sudoríparas bien desarrolladas y de infiltrados perivasculares mononucleares leves. En las mujeres portadoras, el rasgo puede ser no penetrante o estar presente con características menores.

Es probable que la fotofobia en esta afección se deba a queratitis, probablemente con una contribución de la DGM. Las erosiones epiteliales puntiformes, el paño y la vascularización progresiva corneales y la opacificación estromal pueden dar paso a una pérdida visual grave [1038].

La IFAF está causada por mutaciones en el gen MBTPS2 (peptidasa del factor de transcripción de membrana, sitio 2 [SIP]), situado en el cromosoma Xp22.1 [1040], que interviene en la regulación de la biosíntesis lipídica. Oeffner et al. han mostrado una correlación de genotipo/fenotipo entre la gravedad clínica y el efecto de las mutaciones sobre la actividad peptidasa [1041]. Como se ha comentado en otros lugares de este informe (sección 4.3), las proteasas SIP y S2P colaboran entre sí para activar los factores de transcripción SREBP y dirigirse a una gran variedad de genes implicados en el metabolismo del colesterol y de los ácidos grasos. Esto está en consonancia con el fallo del desarrollo pilosebáceo en esta afección que aparentemente afecta también a las glándulas de Meibomio.

Un trastorno relacionado, también hereditario como un rasgo ligado al cromosoma X y causado por mutaciones en MBTPS2, es la queratosis folicular espinulosa decalvante (QFED) [1041,1042] que, al igual que la IFAF, exhibe la combinación de ictiosis folicular, alopecia y fotofobia, pero la diferencia reside en que la aparición es más tardía y la distribución de la alopecia es más en placas en la QFED. La aparición de atrofia y de cicatrización de los folículos es una característica posterior, y la alopecia cicatricial contrasta con la alopecia sin cicatrices de la IFAF. Asimismo, la hiperqueratosis de las palmas de las manos y las plantas de los pies y de la cara dorsal

de los dedos se produce en la QFED, pero no en la IFAF [1035]. Fong et al. [1035] han descrito un solapamiento de características clínicas y moleculares entre la IFAF y la QFED.

#### 10.3. *Trastornos de la apertura, la congruencia y la dinámica palpebrales*

Una variante de reciente notificación de lagofthalmos nocturno, el cierre inadecuado de los párpados [544], hace referencia a la incapacidad de los párpados aparentemente cerrados para desechar el aire de la superficie ocular durante el sueño. Puede ser responsable de síntomas producidos inmediatamente al levantarse. El diagnóstico se realiza con una “prueba de luz” mediante un transiluminador que se presiona contra los párpados cerrados. Se ha descrito una correlación intensa entre una prueba de luz positiva y los síntomas producidos inmediatamente después de levantarse en un estudio de nivel 2.

Como se ha dicho antes, no es infrecuente un cierre incompleto de los párpados de cierto grado en sujetos normales durante el parpadeo [343,409]. En los sujetos normales se produce una mayor exposición y evaporación de la superficie ocular al mirar hacia arriba [288], por lo que puede imponerse DES en el lugar de trabajo al realizar actividades que requieran atender a artículos situados en estanterías altas y elevar al máximo los globos oculares estando con la cabeza inclinada hacia abajo, como al apuntar al jugar al billar. Las elevaciones sobre la superficie del globo, cerca del limbo, también pueden dificultar la dispersión de la lágrima y provocar sequedad localizada y formación de dellen [1043,1044].

El cierre incompleto del párpado o la deformidad de este, conducentes a una mayor exposición o mala restauración de la película lagrimal, se acepta como causa de desecación ocular después de una parálisis del VII par craneal (lagofthalmos) o después de una intervención quirúrgica en los párpados [1045]. La relación entre la parálisis del VII par craneal y el desarrollo de DGM [1046-1048] es de especial interés, y su mecanismo merece seguir estudiándose. Wan et al. han mostrado una correlación clara entre la duración y la gravedad de la parálisis del VII par craneal y la aparición y evolución de la DGM [1048]. El tiempo de ruptura lagrimal era reducido en todos los grupos del VII par craneal.

Un incremento en la anchura de la fisura palpebral o la prominencia del globo exponen a la película lagrimal a una mayor evaporación [1049] y al riesgo de desecación ocular y de hiperosmolaridad lagrimal. En la orbitopatía de Graves (OG), el efecto del prolapso sobre la exposición se ve agravado por la retracción del párpado y el desfase de este, un parpadeo o cierre de párpados incompleto y por restricción de los movimientos oculares, cada uno de los cuales puede poner en peligro la dispersión de la lágrima [197]. Kim et al. hallaron un incremento del prolapso de la glándula de Meibomio en la OG, lo cual estaba correlacionado con el acortamiento del TBUT, el grado de exoftalmia y la altura de la apertura palpebral [1050]. También se encuentra un mayor prolapso glandular con el uso de prótesis oculares [1051], y también hay una asociación con la laxitud palpebral [1052], con rasgos de EOS que incluyen descenso de la puntuación en la prueba de Schirmer, TBUT reducido y aumento de la tinción corneal [971]. Se puede establecer un paralelismo entre estas afecciones, con la propuesta de que el prolapso glandular puede ser consecuencia de una stasis del meibo por parpadeo incompleto o imperfecto. Un factor contribuyente también puede ser la acción de la

hiperosmolaridad lagrimal y de los mediadores inflamatorios en el vértice de los meniscos lagrimales, cerca de los conductos meibomianos terminales [451].

#### 10.3.1. Otros trastornos relacionados con el parpadeo

Una reducida frecuencia de parpadeo puede ser una base potencial de EOS en la enfermedad de Parkinson (EP) y en la oftalmoplejia progresiva [1053], donde, además, la dispersión de la lágrima se ve dificultada por una acción de parpadeo alterada y una reducción de los movimientos oculares. Otros factores contribuyentes en la EP son el descenso de emisión de aceite meibomiano, la disminución del lagrimeo reflejo por disfunción autonómica [1054] y posiblemente los efectos de la deficiencia de andrógenos sobre las glándulas lagrimales y de Meibomio [1055].

#### 10.4. Ojo seco evaporativo relacionado con la superficie ocular

##### 10.4.1. Enfermedad del ojo alérgico

Entre las alergias oculares se encuentran diversas afecciones clínicas (como la conjuntivitis alérgica estacional [CAE], la conjuntivitis alérgica perenne [CAP], la queratoconjuntivitis primaveral [QCP] y la queratoconjuntivitis atópica [QCA]) que pueden ser enfermedades oculares desde leves hasta graves e incluso poner en peligro la visión.

Aunque en la fisiopatología de la enfermedad del ojo alérgico, a diferencia de la de la EOS, interviene sobre todo un mecanismo de linfocitos Th2, estas afecciones pueden tener ciertas características clínicas y bioquímicas en común.

Así pues:

- En ambas la conjuntiva está hiperémica o inflamada, el epitelio corneal puede estar dañado y los nervos corneales afectados; la película lagrimal es rica en citocinas inflamatorias, en mediadores y en neuromediadores capaces de iniciar y mantener una inflamación crónica. Se ha incluido la disfunción de las glándulas de Meibomio como una característica de la enfermedad del ojo alérgico [1056] y puede ser una fuente de EOS. La fibrosis y la cicatrización son consecuencias frecuentes de afecciones alérgicas graves como la QCA y la QCP debido a la inflamación prolongada.
- Se ha descrito hiperreactividad mucosa a estímulos ambientales inespecíficos, tanto en la alergia ocular como en la EOS. Los pacientes con QCP presentan hiperreactividad a agentes inespecíficos y no alérgicos, como la histamina, la contaminación del aire u otros agentes medioambientales [1057-1060]. De modo similar, en la EOS, tanto en modelos experimentales como en seres humanos, los signos de daño en la superficie ocular se inducen por el estrés oxidativo [767,770,772] o por factores ambientales que se encuentran habitualmente, como el aire acondicionado y el polvo, o los contaminantes como el humo [772,1061].
- Tanto la alergia como la EOS muestran una respuesta favorable a los antiinflamatorios tópicos, como los corticosteroides y la ciclosporina. Las lágrimas artificiales, que se utilizan habitualmente para los pacientes con EOS, pueden mejorar los síntomas en todas las variedades clínicas de alergia ocular [1,770,1062,1063].
- Ambas afecciones ejercen un impacto negativo sobre la

calidad de vida a medida que evolucionan. En particular, el aumento de las molestias y un descenso de la funcionalidad visual pueden estar presentes en las formas graves de cada enfermedad, particularmente a la hora de realizar tareas visuales que requieran una atención continua (p, ej., conducir, leer, trabajar con el ordenador y prestar atención en el colegio).

Por el contrario, la alergia ocular y la EOS ocular representan dos entidades clínicas diferenciadas en cuyo mecanismo patógeno intervienen células inmunitarias distintas y que poseen una histopatología diferente (por ejemplo, aumento de las células caliciformes en la alergia [1064] y reducción del número de estas en la EOS) [434]. La alergia ocular es una enfermedad juvenil, mientras que la EOS es más frecuente a edades posteriores, cuando los signos y síntomas de la alergia desaparecen generalmente. También difieren en la cualidad de los síntomas experimentados, ya que los pacientes alérgicos se quejan en particular de prurito y de fotofobia, y los pacientes con EOS refieren sensación de arenilla y de cuerpo extraño.

El prurito intenso es típico de la QCP y, junto con la fotofobia, es el síntoma continuo y más importante de la enfermedad del ojo alérgico [1065]. Aunque en ocasiones se considera un síntoma de la EOS, no se han descrito su frecuencia, su intensidad ni su referencia topográfica. Sería interesante saber si se trata de un síntoma de EOS secundario a alguna forma de blefaritis en lugar de específicamente de la propia EOS.

La afectación corneal en forma de queratitis puntiforme difusa o de úlcera en escudo es típica de las formas graves de alergia. Por el contrario, la EOS se asocia a un patrón de fluoresceína diferente que incluye la afectación de la superficie ocular interpalpebral y más expuesta [74,1066].

Hay algunos marcadores biológicos de inflamación que pueden ser comunes tanto a la EOS como a la enfermedad por ojo alérgico, pero los eosinófilos, los productos derivados de estos y los mastocitos son hallazgos típicos en la enfermedad del ojo alérgico [543,1067,1068]. Su ausencia en un paciente con síntomas en la

**Tabla 13**  
Subtipos híbridos de la enfermedad del ojo seco.

Subtipo	Ejemplo
OSDA orgánico debido a patología de la glándula lagrimal, combinado con un OSE orgánico dependiente de la DGM	En el síndrome de Sjögren
Combinación de un OSDA orgánico, un OSE dependiente de la DGM y un OSE secundario a enfermedad de la superficie ocular.	EICH o, en diversos grados, otras formas de conjuntivitis cicatrizante. Existen obstrucción de los conductos de la glándula lagrimal, DGM cicatrizante y enfermedad de la superficie ocular secundaria a la enfermedad sistémica primaria.
OSDA orgánico con un OSE funcional	En el OSDA grave existen dispersión defectuosa de la CLPL y pronóstico de OSE funcional
OSE orgánico con un OSDA funcional.	Cuando la EOS es grave, disminuye la sensibilidad corneal. Se pronostica que, en el OSE, esto conduce a una pérdida de tono compensatorio y sensorial hacia la glándula lagrimal y a un estado con deficiencia acuosa funcional.

OSDA que evoluciona hacia OSE

Cuando se produce la ruptura de la lágrima dentro del intervalo de parpadeo, la córnea se somete a una evaporación excesiva en el punto de la ruptura. Así pues, se prevé que cualquier OSDA con una gravedad suficiente se convertirá en OSE. Las proteínas de la lágrima de origen lagrimal deben estar a un nivel normal.

superficie ocular descarta el diagnóstico de enfermedad por ojo alérgico, aunque su presencia no excluye la EOS. La confirmación de una ruptura acortada de la película lagrimal en pacientes con biomarcadores alérgicos respaldaría la presencia de ambas afecciones [1069]. Existen algunas entidades clínicas, como las producidas en mujeres jóvenes con ovarios poliquisticos, que muestran características de ambas afecciones [1070]. Aunque el mecanismo de esto no se ha establecido, es probable que las hormonas sexuales y la resistencia a la insulina desempeñen un papel (véase el informe del Subcomité de Sexo, género y hormonas).

Las enfermedades por ojo alérgico y la EOS son entidades clínicas diferenciadas, pero ciertas características comunes a ambas apuntan hacia una interacción compleja de mecanismos en los que intervienen los sistemas inmunitario, endocrino y nervioso.

#### 10.4.2. Deficiencia de vitamina A

La vitamina A regula el crecimiento epitelial, la proliferación celular y la diferenciación [1071,1072]. La insuficiencia sistémica de vitamina A sigue siendo una causa importante de mortalidad y ceguera infantil en numerosos países de ingresos bajos y medios [1073,1074]. En los ojos, la deficiencia de vitamina A induce xeroftalmia [1075], lo que incluye ceguera nocturna [1076], xerosis conjuntival [1077], manchas de Bitot [1078–1080], xerosis corneal [1081] y queratomalacia [1077]. Se reconocen dos formas de EOS, que pueden darse simultáneamente. Una se debe a humectación defectuosa de la superficie ocular y la otra a insuficiencia de las glándulas lagrimales [1082]. La mala humectación puede producirse por defecto del glucocáliz epitelial en la superficie ocular, por pérdida de células caliciformes y de la mucina del glucocáliz y, finalmente, por metaplasia y queratinización epitelial de la superficie ocular. Paradójicamente, en la actualidad, se puede encontrar xeroftalmia en los países desarrollados tras someterse a cirugía bariátrica para la obesidad, debido a que disminuye la absorción de vitamina A en el intestino delgado [659].

La deficiencia de vitamina A en el modelo animal puede inducir queratinización epitelial y metaplasia escamosa (con formación de manchas de Bitot) [1083,1084], y también un descenso profundo de la densidad de las células caliciformes conjuntivales [1077,1083,1085]. La vitamina A interviene en la biosíntesis de glicoconjugados y en la glucosilación de la mucina en el epitelio de la superficie ocular [1086,1087]. Existen indicios de síntesis anormal de mucina en la deficiencia de vitamina A. En el modelo de rata no se detectaron ni ARNm de la mucina rMUC4 asociada a membrana ni ARNm de la mucina secretora rMUC5AC en los animales con deficiencia de vitamina A [1088]. En las células epiteliales conjuntivales humanas, el ácido retinoico se asoció a una regulación al alza de MUC16 a través de una acción sobre la fosfolipasa

secretora A2 del grupo IIA [1089]. Asimismo, en un modelo primario de cultivo de células epiteliales de limbo corneal humano, el ácido retinoico estimula la expresión de MUC1, MUC4 y MUC16 y mejora la funcionalidad de la barrera glucocalicial de manera dependiente de la dosis [1090]. El ácido retinoico también destruye las glándulas de Meibomio. Véase el informe del Subcomité de Ojo seco iatrogénico.

#### 10.4.3. Ojo seco por tiempo de ruptura breve

El término *EOS por tiempo de ruptura breve* (OSTRB) hace referencia a una forma sintomática de EOS con un tiempo de ruptura con fluoresceína  $\leq 5$  s, que se da en presencia de una secreción y aclaramiento lagrimales normales, un funcionamiento normal de las glándulas de Meibomio y ausencia de asociación con daños epiteliales [1069]. Entre sus síntomas se encuentran la sequedad, la fatiga ocular y la visión borrosa, y afecta considerablemente a la calidad de vida (CdV).

En el estudio de Yamamoto et al., en aquellos pacientes que presentaban una ruptura “tipo mancha” (= 0 s), las mujeres mostraban afectación con más frecuencia que los hombres (proporción 3:1), con una frecuencia máxima a los 60 años en las mujeres y a los 20 años en los hombres [1091]. El OSTRB parece ser una forma frecuente de EOS en los lugares de trabajo de Japón. En el estudio de Osaka con empleados de oficina que realizaban jornadas laborales prolongadas en VDT, a 244 de los 303 sujetos reclutados (80,5 %) se les diagnosticó OSTRB [1092] muy sintomática [165] asociada a descenso de la agudeza visual funcional [298] y de la calidad de vida [1093,1094], así como a pérdida de productividad [442]. El esclarecimiento de esto debe recibir alta prioridad.

El mecanismo del OSTRB aún no se ha establecido, pero las investigaciones actuales indican que se precipita por una humectación defectuosa de la superficie ocular. En un estudio en el que se comparó a pacientes con OSTRB u OSDA con sujetos de control normales, los pacientes de cada grupo mostraron un tiempo de ruptura con fluoresceína  $\leq 5$  s y se excluyó la DGM [425]. Ni los valores de la prueba de Schirmer ni las puntuaciones de tinción vital difirieron significativamente entre los sujetos con OSTRB y los sanos. La expresión de ARNm tanto de MUC1 como de MUC16 era significativamente inferior en los pacientes que en los sujetos de control, pero no hubo diferencias entre los dos grupos de pacientes, lo que implica que es posible que la pérdida de humectabilidad haya desempeñado un papel similar en cada grupo. Curiosamente, la citología de impresión conjuntival no mostró diferencias significativas en cuanto a densidad de células caliciformes o nivel de metaplasia escamosa entre los tres grupos. Cuando se ha evaluado, la capa lipídica de la película lagrimal era normal antes de la ruptura, lo que indica que esta última no está desencadenada por una deficiencia de lípidos lagrimales. El origen de los síntomas en ausencia de una tinción significativa de la superficie ocular también es un misterio, y por el momento se cree que está relacionado con la hiperosmolaridad de la superficie inducida en el punto de ruptura.

En un estudio con 96 empleados de oficina japoneses que trabajaban regularmente con VDT, la prevalencia de EOS verificada y probable era del 9 % y del 57 %, respectivamente. La concentración media de MUC5AC era menor en la lágrima de los usuarios de VDT con EOS verificada que en aquellos sin EOS, y la concentración media de MUC5AC en la lágrima era inferior en el

grupo que trabajaba más horas [1095]. Asimismo, la concentración de MUC5AC era más baja en los sujetos con fatiga ocular sintomática que en los individuos asintomáticos [1095]. Estos resultados indican en su conjunto que las circunstancias del uso prolongado de VDT inducen cambios en la expresión de mucina que reducen la humectabilidad de la superficie ocular y contribuyen a los síntomas de EOS en esta comunidad. El patrón de ruptura lagrimal en el OSTRB es el que se denomina de “manchas” o de “hoyuelos”, y se están llevando a cabo estudios para explorar si estos patrones están relacionados en particular con deficiencia de mucina en la superficie [178]. Los patrones de ruptura denominados de “líneas” y de “zonas” se asocian a OSDA: la ruptura en *líneas* se aprecia en el OSDA de leve a moderado y la ruptura por *zonas* en el OSDA grave.

Se ha anunciado cierto éxito en el tratamiento del OSTRB con dicuafosol sódico por vía tópica, un agonista purinérgico que estimula la producción de agua y gel de mucina conjuntival [1096], y también con rebamipida, que se ha dicho que incrementa la densidad de las células caliciformes y la producción de gel de mucina [1097,1098]. Según parece, ambos agentes incrementan la expresión de mucinas asociadas a membrana. (Véase el informe del Subcomité para Manejo y tratamiento para más información).

#### 10.4.4. Enfermedad de la superficie ocular por agentes tópicos

(Véase el informe del Subcomité de Ojo seco iatrogénico).

## 11. Resumen y recomendaciones

El Subcomité ha pasado revista a cómo se ve afectada la fisiología de la superficie ocular y cómo influye en la aparición y evolución de la EOS. Existe bastante información acerca del control de la secreción lagrimal en el ser humano, pero no tanta sobre la de las glándulas de Meibomio, los epitelios de la superficie y las células caliciformes. Es preciso desarrollar métodos para medir su rendimiento secretor *in vivo*.

La estructura y el funcionamiento de la película lagrimal precorneal siguen siendo objeto de estudio intenso. Una opinión actual indica que la capa lipídica de la película lagrimal no constituye por sí sola una barrera importante para la pérdida de agua, y que su papel principal es estabilizar la dispersión de la película lagrimal. No obstante, aún se considera que la deficiencia e inestabilidad de la capa lipídica potencian la pérdida de agua lo suficiente como para generar una hiperosmolaridad clínicamente importante en la superficie ocular y que esto contribuye a los daños en la superficie ocular de la EOS.

Aún se está debatiendo la cuestión de si existe una subfase acuosa inmediatamente debajo de la CLPL, como propone Wolff. La observación clínica indica que el líquido que llega a los meniscos procedente de la película lagrimal emergente en el movimiento ascendente del parpadeo es más acuoso que la propia película precorneal, y parece probable que se mantenga una capa acuosa entre la CLPL y la capa mucoacuosa subyacente, cuyo comportamiento es claramente como el de un gel. La capa mucoacuosa que se deposita sobre la córnea durante el parpadeo se deriva sobre todo de la conjuntiva tarsal superior, y es probable que difiera de la que reviste la conjuntiva bulbar expuesta, que debe de surgir tanto de la conjuntiva bulbar como de la tarsal. Este aspecto puede ser relevante para la QLS. En los ojos sanos, las zonas de

adelgazamiento inducido por los meniscos pueden marcarse sobre la película lagrimal precorneal en distintas posiciones de la mirada y asociarse a inestabilidad lagrimal, con la consiguiente amenaza para su integridad. Este fenómeno debe explorarse con más detenimiento en los ojos sanos en condiciones de DES, además de en pacientes con EOS.

Se ha planteado la hipótesis de que la línea fisiológica de tinción conjuntival, denominada línea de Marx, se debe a una región de hiperosmolaridad en el vértice del menisco. El aumento de la permeabilidad del epitelio postulado también en este sitio podría conceder a las proteínas proinflamatorias acceso a los conductos meibomianos terminales, lo que explicaría la asociación entre el desplazamiento anterógrado de la línea de Marx con la edad y la aparición de DGM. Merecería la pena investigar la composición del glucocáliz en este punto (expresión de mucinas y de galectina-3), así como de las uniones herméticas de la capa 1 en muestras humanas. Se podría explorar su permeabilidad mediante dextranos fluorescentes.

No son infrecuentes los parpadeos parciales tanto en el ojo seco como en el normal, pero se dan con más frecuencia en la EOS. Esto es importante para el mecanismo de la EOS debido a su efecto sobre la pérdida evaporativa. Esto también puede provocar la aparición de epitelopatía puntiforme en la parte inferior del globo en estados de EOS.

La película lagrimal se dispersa por la superficie ocular expuesta mediante el parpadeo, pero los *movimientos* del ojo también contribuyen a extenderla sobre la córnea periférica y la conjuntiva bulbar. Los acontecimientos de cizallamiento entre el globo y la región de limpiaparabrisas de los párpados superior o inferior pueden ser diferentes, ya que con el parpadeo la fricción se dirige más hacia la zona limpiaparabrisas del párpado superior, y al mirar hacia abajo más hacia la zona limpiaparabrisas del párpado inferior; los movimientos horizontales de la mirada realizan contribuciones adicionales. Tal vez esto explique cómo afecta la epitelopatía de la zona limpiaparabrisas del párpado tanto al borde palpebral superior como al inferior. La fricción que ejerce el parpadeo será superior en la zona media del párpado superior, donde la velocidad lineal del recorrido es mayor.

Los conceptos físicos de lubricación límite y lubricación hidrodinámica han encontrado una aplicación útil en la dinámica del movimiento del párpado y del globo. Se ha descrito recientemente un nuevo lubricante límite producido en el epitelio corneal y conjuntival, la lubricina, que puede tener importancia para la EOS. Es posible que la deficiencia de lágrima acuosa y la pérdida de lubricantes en la superficie ocular que se producen en diversas formas de EOS expliquen el aumento de la frecuencia de epitelopatía puntiforme, QLS, queratitis filamentaria y ELP en la EOS y los síntomas asociados a estas afecciones. También pueden explicar las sensaciones de pesadez y la dificultad en la EOS para abrir el ojo al despertarse.

El glucocáliz epitelial es un componente integral de las membranas apicales de las células epiteliales de la superficie. Ahora se conoce mejor su composición molecular. Proporciona humectabilidad a la superficie ocular y explica sus funciones lubricante y algunas de las de barrera. La contribución de las uniones herméticas intercelulares a esta barrera también se conoce bien. El epitelio sufre un recambio continuo y, a medida que las células viejas maduran y mueren, se pierden la integridad y la

función de barrera de esta capa para estas células. Es probable que las fuerzas friccionales entre los párpados y el globo durante el parpadeo y los movimientos del ojo participen en el proceso de desprendimiento. Aunque se dice que el desprendimiento epitelial se incrementa en la EOS, no parece haberse medido formalmente la velocidad a la que esto se produce. Se ha planteado que la pérdida de la función de barrera en las células predesprendidas es la responsable del bajo nivel de tinción puntiforme en el epitelio corneal y conjuntival normal. Cerca del 17 % de las córneas normales muestran algún grado de tinción puntiforme tras la instilación de fluoresceína al 0,125 %, y se considera que todas las córneas lo hacen a lo largo de cierto periodo de tiempo. Los aspectos temporales de dicha tinción en el individuo merecen un estudio más detallado. Recomendamos que, en los ensayos clínicos, no se considere la ausencia de tinción como indicador de normalidad por defecto. Dado que la tintoriabilidad depende de la concentración del colorante instilado y del tiempo de exploración, es necesario estandarizar los métodos de graduación.

Las consideraciones sobre los modelos indican que en los ojos sanos la osmolaridad lagrimal de los meniscos es ligeramente inferior a la de la superficie ocular expuesta, y esta discrepancia aumenta con el incremento de la hiperosmolaridad del menisco en la EOS. Es previsible que, en la EOS, se extienda una oleada de hiperosmolaridad impulsada por la pérdida evaporativa desde el epicentro de una ruptura lagrimal, llegando a niveles elevados de consecuencias patológicas y sintomáticas en la superficie ocular, lo que no se reflejará plenamente extrayendo muestras del menisco. Cuanto antes aparezca la ruptura en el intervalo de parpadeo, más largo será el periodo de exposición a la hiperosmolaridad. En la clínica especializada recomendamos medir rutinariamente el índice de protección ocular en los pacientes con EOS con el fin de cuantificar esta amenaza. Un nivel elevado de osmolaridad en una muestra de menisco implica un nivel mucho mayor en la superficie ocular.

El Subcomité ha encontrado pruebas crecientes en favor del papel de la hiperosmolaridad tisular de la superficie ocular como elemento central en la EOS, situación generada por la exposición a lágrimas hiperosmolares, particularmente tras una ruptura de la película lagrimal. Al tiempo que hace hincapié en esto, el Subcomité reconoce que los elevados niveles de osmolaridad previstos aún no se han medido directamente en la superficie corneal, y recomienda dar prioridad al desarrollo de métodos para medir la molaridad a escala tisular.

Un mecanismo de defensa neutrofílico (NETosis), que se sabe provoca daños en las mucosas en otras enfermedades, como la fibrosis quística, puede originar daños en la superficie ocular en la EOS, amplificados por el aumento del desprendimiento epitelial, la hiperosmolaridad lagrimal y el descenso de la actividad nucleasa lagrimal. El ADN liberado en la lágrima (ADNe) de las células epiteliales descamadas y los neutrófilos invasores puede, de manera independiente o combinada con otros componentes de origen neutrofílico, causar daños en la superficie ocular. Los neutrófilos, al morir, pueden liberar su contenido celular al espacio extracelular para formar trampas extracelulares de neutrófilos o NET antimicrobianas pegajosas. Estas forman mallas extracelulares que contienen cromatina descondensada, histonas, elastasa de neutrófilos y péptidos antimicrobianos, cada uno de los cuales puede ser tóxico individualmente para las células epiteliales. Dado

que la lágrima está invadida fisiológicamente por abundantes neutrófilos durante el cierre nocturno de los ojos, parece importante explorar la relación entre la formación de NET y los fenómenos de las lágrimas con los ojos cerrados. El Subcomité recomienda la investigación de las lágrimas con los ojos cerrados y de muestras de citología de impresión conjuntival en pacientes con EOS inmediatamente después de permanecer periodos prolongados con los ojos cerrados.

En el informe TFOS DEWS [1] se planteó el concepto de círculo vicioso de acontecimientos inflamatorios en la superficie ocular como base para la autoperpetuación de la EOS. Las pruebas indican que la hiperosmolaridad lagrimal podría iniciar una cascada perjudicial de inflamación en la superficie ocular que puede reducir la humectabilidad, provocar inestabilidad y ruptura de la película lagrimal y, por tanto, amplificar la hiperosmolaridad lagrimal. Cabe destacar que una etiología de EOS determinada puede entrar en el círculo vicioso en cualquier punto para participar en este proceso (Fig. 5). Desde entonces se han acumulado abundantes pruebas en favor de este concepto a escala experimental y clínica, por lo que se ha obtenido un conocimiento detallado de la activación e invasión de las células inmunitarias y de los mediadores inflamatorios y las proteasas involucradas. Otras pruebas experimentales en un modelo murino indican que la inflamación de la superficie ocular puede persistir después de la exposición a DES y tal vez ser capaz de perpetuar las características clínicas de la enfermedad. La disociación potencial entre causa y efecto podría explicar en parte la discrepancia entre ciertos signos objetivos y síntomas de los pacientes descritos en la literatura especializada.

En la EOS por cualquier causa, la hiperosmolaridad lagrimal se inicia por medio de uno o dos mecanismos. En el OSDA existe una secreción lagrimal deficiente, pero una velocidad de evaporación normal de una película lagrimal de volumen reducido. En el OSE, la hiperosmolaridad proviene de una evaporación excesiva de la lágrima en presencia de una funcionalidad lagrimal normal. Dado que todas las formas de EOS se deben a una pérdida de agua de la película lagrimal, la precipitación de la hiperosmolaridad en la superficie ocular se ve muy influida por el entorno, lo que incluye la humedad ambiental, el flujo de aire y la temperatura, además del intervalo de parpadeo, la apertura del párpado y la prominencia del globo. Las condiciones desfavorables pueden o bien desencadenar la aparición de EOS o exacerbar su gravedad. El efecto del entorno se ha puesto de relieve por la afección recientemente descrita del OSTRB observada en empleados de oficina japoneses. Los factores ergonómicos y ambientales que precipitan esta forma de EOS requieren un mayor estudio.

Es evidente que existen muchas *formas híbridas de EOS* donde la deficiencia lagrimal y el aumento de la pérdida evaporativa colaboran para generar una mayor hiperosmolaridad en la superficie ocular. Todo esto aparece resumido en la Tabla 13. Estos estados híbridos deben tenerse en cuenta en los criterios de inclusión de los ensayos clínicos y en los análisis de los resultados por subgrupos. Cuando un ojo seco es suficientemente grave como para causar ruptura lagrimal dentro del intervalo de parpadeo, se añade un componente evaporativo adicional a cualquier forma de EOS, por lo que cualquier OSDA adquirirá un componente evaporativo y se amplificará la base evaporativa de cualquier OSE existente. Sería necesario llevar a cabo estudios para contrastar esta previsión en los que se comparara el índice de protección ocular

con la tasa de evaporación y la osmolaridad lagrimal.

Este estado híbrido no debe impedirnos ver el mecanismo desencadenante de la EOS. Se prevé que los niveles de las proteínas lagrimales lisozima, lactoferrina y peroxidasa en la lágrima seguirán siendo normales cuando la causa inicial sea OSE, pero estarán disminuidos en caso de OSDA debido a la destrucción acinar lagrimal. Esta hipótesis debe ponerse a prueba sobre el terreno. Es preciso revisar el vocabulario para dar cabida a estas y otras formas de EOS híbrida.

Existen distintos *modelos animales de EOS* que abordan los diversos mecanismos fisiopatológicos responsables de la EOS, como la insuficiencia de las glándulas lagrimales, la DGM, los trastornos de la inervación, los mecanismos humorales y el estrés ambiental. Se ha utilizado la manipulación genética para explorar los factores que incluyen en la susceptibilidad. Su estudio proporciona ideas generadoras de hipótesis sobre las causas de la EOS humana y, dado que los animales domésticos pueden sufrir EOS autoinmunitaria espontánea, los hallazgos pueden revestir interés clínico tanto veterinario como humano. Asimismo, brindan una oportunidad para el estudio toxicológico y farmacocinético de nuevos fármacos potencialmente capaces de salvar la visión.

Los modelos murinos DES y SCP permiten establecer el desarrollo cronológico de la EOS desde sus inicios. En estos modelos se ha detectado toda una constelación de citocinas y quimiocinas que provocan daños en la superficie ocular, con diferentes resultados en función del modelo experimental.

Los modelos de EOS autoinmunitaria que simulan el síndrome de Sjögren dependen de la susceptibilidad genética. En varios modelos se ha explorado la influencia de los linfocitos T autorreactivos, de la señalización disruptora del TGF- $\beta$  o del sistema de ligandos Fas-Fas, de la inducción de la apoptosis glandular, de la manipulación de las hormonas sexuales y de la generación de autoanticuerpos encontrados en la enfermedad humana. En la mayoría de estos modelos las enfermedades evolucionan espontáneamente con el tiempo hasta un nivel de gravedad variable. A diferencia de los modelos DES y SCP, se desconoce cuál es el desencadenante específico de la aparición de la enfermedad. Por tanto, estos modelos en los que se administra DES a ratones modificados genéticamente son de un especial interés para salvar la falta de conocimientos entre el inicio y la susceptibilidad en distintos sistemas de modelos. Aún no se ha explorado debidamente el papel de la susceptibilidad genética en el OSNS humano relacionado con la edad.

Se han desarrollado tanto modelos de edad avanzada como crónicos de EOS con diferencias sexuales en cuanto a gravedad, lo que incluye el daño corneal (C57BL/6) y la densidad de células caliciformes (MRL.lpr.B6), que son de gran interés en relación con la enfermedad humana. Se ha visto que las citocinas de los linfocitos T colaboradores (Th1 y Th2) ejercen efectos opuestos sobre el desarrollo y el mantenimiento de las células caliciformes conjuntivales. La citocina IL-13 de los Th2 induce diferenciación de las células caliciformes y producción de moco, y la citocina IFN- $\gamma$  de los Th1 provoca pérdida de células caliciformes en un modelo DES de EOS. En ciertos modelos se ha percibido un sesgo sexual hacia la sialoadenitis frente a la dacrioadenitis.

Este Subcomité se ha tomado cierta molestia para comparar y contrastar las características clínicas y patológicas del síndrome de Sjögren, puesto que afecta a las glándulas lagrimales y salivales. Se

pueden llevar a cabo investigaciones en el futuro en distintos niveles. El tejido lagrimal fresco es escaso, pero debe abrirse la oportunidad de crear bancos de tejidos de glándulas lagrimales y salivales de cadáveres con fines de investigación obtenidos de pacientes con síndrome de Sjögren y OSNS bien caracterizados.

Debe profundizarse en el *papel potencial de los desencadenantes víricos* del síndrome de Sjögren en los individuos con predisposición genética. Cuando tanto la exposición como la infección son tan frecuentes como las del virus de Epstein Barr, esta tarea puede parecer desalentadora a simple vista, pero se puede disponer de los datos de sangre almacenada de un gran número de individuos expuestos y no expuestos, y se han utilizado epidemiológicamente para estudiar el papel del VEB como factor de riesgo para la esclerosis múltiple y el LES [1099–1101]. Debe aprovecharse este planteamiento para el estudio del síndrome de Sjögren.

### Agradecimientos

El Subcomité desea agradecer la colaboración de Jutta Horwath-Winter por revisar los aspectos esenciales de este informe, a Barbara Caffery, Donald Korb y Tannin Schmidt por sus contribuciones a las secciones sobre el síndrome de Sjögren, el parpadeo y las fuerzas friccionales, así como a Maria Markoulli y Driss Zoukhri por todo su esfuerzo en la preparación del artículo.

### Referencias bibliográficas

- [1] Report of the international dry eye workshop (DEWS). *Ocul Surf* 2007;5: 65–204.
- [2] Dean C, Ito M, Makarenkova HP, Faber SC, Lang RA. Bmp7 regulates branching morphogenesis of the lacrimal gland by promoting mesenchymal proliferation and condensation. *Development* 2004;131:4155–65.
- [3] Makarenkova HP, Ito M, Govindarajan V, Faber SC, Sun L, McMahon G, et al. FGF10 is an inducer and Pax6 a competence factor for lacrimal gland development. *Development* 2000;127:2563–72.
- [4] Grishina I, Lattes B. A novel Cdk2 interactor is phosphorylated by Cdc7 and associates with components of the replication complexes. *Cell Cycle* 2005;4: 1120–6.
- [5] Fernandez-Valencia R, Gomez Pellico L. Functional anatomy of the human saccus lacrimalis. *Acta Anat* 1990;139:54–9.
- [6] Bron AJ. Lacrimal streams: the demonstration of human lacrimal fluid secretion and the lacrimal ductules. *Br J Ophthalmol* 1986;70:241–5.
- [7] Seifert P, Spitznas M, Koch F, Cusumano A. The architecture of human accessory lacrimal glands. *Ger J Ophthalmol* 1993;2:444–54.
- [8] Bergmanson JP, Doughty MJ, Blocker Y. The acinar and ductal organisation of the tarsal accessory lacrimal gland of Wolfring in rabbit eyelid. *Exp Eye Res* 1999;68:411–21.
- [9] Allansmith MR, Kajiyama G, Abelson MB, Simon MA. Plasma cell content of main and accessory lacrimal glands and conjunctiva. *Am J Ophthalmol* 1976;82:819–26.
- [10] Seifert P, Spitznas M. Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) innervation of the human eyelid glands. *Exp Eye Res* 1999;68:685–92.
- [11] Wiczorek R, Jakobiec FA, Sacks EH, Knowles DM. The immunoarchitecture of the normal human lacrimal gland. Relevance for understanding pathologic conditions. *Ophthalmology* 1988;95:100–9.
- [12] Dartt DA. Regulation of tear secretion. *Adv Exp Med Biol* 1994;350:1–9.
- [13] Dartt DA. Neural regulation of lacrimal gland secretory processes: relevance in dry eye diseases. *Prog Retin Eye Res* 2009;28:155–77.
- [14] Knop E, Knop N. The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection. *J Anat* 2005;206:271–85.
- [15] Dartt DA. Signal transduction and control of lacrimal gland protein secretion: a review. *Curr Eye Res* 1989;8:619–36.
- [16] Jager K, Wu G, Sel S, Garreis F, Brauer L, Paulsen FP. MUC16 in the lacrimal apparatus. *Histochem Cell Biol* 2007;127:433–8.
- [17] Jumblatt MM, McKenzie RW, Steele PS, Emberts CG, Jumblatt JE. MUC7 expression in the human lacrimal gland and conjunctiva. *Cornea* 2003;22: 41–5.
- [18] Paulsen F, Langer G, Hoffmann W, Berry M. Human lacrimal gland mucins. *Cell Tissue Res* 2004;316:167–77.

- [19] Mircheff AK. Lacrimal gland fluid and electrolyte secretion: a review. *Curr Eye Res* 1989;8:607–17.
- [20] Mircheff AK. Water and electrolyte secretion and fluid modification. In: Albert D, Jakobiec F, editors. *Principles and Practice of Ophthalmology: Basic Sciences*. Philadelphia: WB Saunders Company; 1994. p. 466–72.
- [21] Makarenkova HP, Dartt DA. Myoepithelial cells: their origin and function in lacrimal gland morphogenesis, homeostasis, and repair. *Curr Mol Biol Rep* 2015;1:115–23.
- [22] Leeson TS, Leeson CR. Myoepithelial cells in the exorbital lacrimal and parotid glands of the rat in frozen-etched replicas. *Am J Anat* 1971;132: 133–45.
- [23] Botelho SY. Tears and the lacrimal gland. *Sci Am* 1964;211:78–86.
- [24] Sibony PA, Walcott B, McKeon C, Jakobiec FA. Vasoactive intestinal polypeptide and the innervation of the human lacrimal gland. *Arch Ophthalmol* 1988;106:1085–8.
- [25] Hodges RR, Dartt DA. Regulatory pathways in lacrimal gland epithelium. *Int Rev Cytol* 2003;231:129–96.
- [26] Gupta A, Heigle T, Pflugfelder SC. Nasolacrimal stimulation of aqueous tear production. *Cornea* 1997;16:645–8.
- [27] Berthong M. Pathologic changes secondary to radiation. *World J Surg* 1986;10:155–70.
- [28] Ackermann P, Hetz S, Dieckow J, Schicht M, Richter A, Kruse C, et al. Isolation and investigation of presumptive murine lacrimal gland stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:4350–63.
- [29] Shatos MA, Haugaard-Kedstrom L, Hodges RR, Dartt DA. Isolation and characterization of progenitor cells in uninjured, adult rat lacrimal gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:2749–59.
- [30] Zoukhri D. Mechanisms involved in injury and repair of the murine lacrimal gland: role of programmed cell death and mesenchymal stem cells. *Ocul Surf* 2010;8:60–9.
- [31] Zoukhri D, Fix A, Alroy J, Kublin CL. Mechanisms of murine lacrimal gland repair after experimentally induced inflammation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:4399–406.
- [32] Zoukhri D. Effect of inflammation on lacrimal gland function. *Exp Eye Res* 2006;82:885–98.
- [33] Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009;139:871–90.
- [34] Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008;133:704–15.
- [35] You S, Avidan O, Tariq A, Ahluwalia I, Stark PC, Kublin CL, et al. Role of epithelial-mesenchymal transition in repair of the lacrimal gland after experimentally induced injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:126–35.
- [36] Knop E, Knop N, Millar T, Obata H, Sullivan DA. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1938–78.
- [37] Foulks GN, Bron AJ. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *Ocul Surf* 2003;1:107–26.
- [38] Andersen H, Ehlers N, Matthiessen ME. Histochemistry and development of the human eyelids. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1965;43:642–68.
- [39] Jester JV, Nicolaidis N, Kiss-Palvolgyi I, Smith RE. Meibomian gland dysfunction. II. The role of keratinization in a rabbit model of MGD. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:936–45.
- [40] Knop E, Knop N, Zhivov A, Kraak R, Korb DR, Blackie C, et al. The lid wiper and mucocutaneous junction anatomy of the human eyelid margins: an in vivo confocal and histological study. *J Anat* 2011;218:449–61.
- [41] Cox SM, Nichols JJ. The neurobiology of the meibomian glands. *Ocul Surf* 2014;12:167–77.
- [42] Kam WR, Sullivan DA. Neurotransmitter influence on human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:8543–8.
- [43] Sullivan DA, Liu Y, Kam WR, Ding J, Green KM, Shaffer SA, et al. Serum-induced differentiation of human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:3866–77.
- [44] Schirra F, Suzuki T, Richards SM, Jensen RV, Liu M, Lombardi MJ, et al. Androgen control of gene expression in the mouse meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3666–75.
- [45] Ding J, Kam WR, Dieckow J, Sullivan DA. The influence of 13-cis retinoic acid on human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:4341–50.
- [46] Ding J, Liu Y, Sullivan DA. Effects of insulin and high glucose on human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56: 7814–20.
- [47] Ding J, Sullivan DA. The effects of insulin-like growth factor 1 and growth hormone on human meibomian gland epithelial cells. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:593–9.
- [48] Gidfar S, Afsharkhamesh N, Sanjari S, Djalilian AR. Notch signaling in meibomian gland epithelial cell differentiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:859–65.
- [49] Khandelwal P, Liu S, Sullivan DA. Androgen regulation of gene expression in human meibomian gland and conjunctival epithelial cells. *Mol Vis* 2012;18: 1055–67.
- [50] Liu S, Hatton MP, Khandelwal P, Sullivan DA. Culture, immortalization, and characterization of human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:3993–4005.
- [51] Liu S, Kam WR, Ding J, Hatton MP, Sullivan DA. Effect of growth factors on the proliferation and gene expression of human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:2541–50.
- [52] Liu Y, Ding J. The combined effect of azithromycin and insulin-like growth factor-1 on cultured human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:5596–601.
- [53] Liu Y, Kam WR, Ding J, Sullivan DA. Can tetracycline antibiotics duplicate the ability of azithromycin to stimulate human meibomian gland epithelial cell differentiation? *Cornea* 2015;34:342–6.
- [54] Liu Y, Kam WR, Ding J, Sullivan DA. Effect of azithromycin on lipid accumulation in immortalized human meibomian gland epithelial cells. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:226–8.
- [55] Liu Y, Kam WR, Ding J, Sullivan DA. One man's poison is another man's meat: using azithromycin-induced phospholipidosis to promote ocular surface health. *Toxicology* 2014;320:1–5.
- [56] Liu Y, Kam WR, Sullivan DA. Influence of omega 3 and 6 fatty acids on human meibomian gland epithelial cells. *Cornea* 2016;35:1122–6.
- [57] Liu Y, Knop E, Knop N, Sullivan DA, List EO, Kopchick JJ, et al. Growth hormone influence on the morphology and size of the mouse meibomian gland. *J Ophthalmol* 2016;2016:5728071.
- [58] Liu Y, Kam WR, Fernandes P, Sullivan DA. The effect of solithromycin, a cationic amphiphilic drug, on the proliferation and differentiation of human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017. ARVO abstract #4379.
- [59] Kam W, Sullivan D. Suppressive effects of 17 $\beta$ -estradiol on immortalized human meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013. ARVO e-abstract #4316.
- [60] Sahin A, Kam WR, Darabad RR, Topilow K, S DA. Regulation of leukotriene B4 secretion by human corneal, conjunctival, and meibomian gland epithelial cells. *Arch Ophthalmol* 2012;130:1013–8.
- [61] Zhang Y, Kam WR, Liu Y, Chen X, Sullivan DA. Influence of pilocarpine and timolol on human meibomian gland epithelial cells. *Cornea* 2017;36: 719–24.
- [62] Kam W, Sullivan DA, Sullivan BD, Venkiteshwar. Does hyperosmolarity induce an irreversible process leading to human corneal epithelial cell death? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016. ARVO Abstract #6161.
- [63] Zhang SD, He JN, Niu TT, et al. Bacteriological profile of ocular surface flora in meibomian gland dysfunction. *Ocul Surf* 2017;15:242–7.
- [64] Butovich IA. Lipidomic analysis of human meibum using HPLC-MSn. *Methods Mol Biol* 2009;579:221–46.
- [65] Brown SH, Kunnen CM, Papas EB, Lazon de la Jara P, Willcox MD, Blanksby SJ, et al. Intersubject and Interday variability in human tear and meibum lipids: a pilot study. *Ocul Surf* 2016;14:43–8.
- [66] Brown SH, Kunnen CM, Duchoslav E, Dolla NK, Kelso MJ, Papas EB, et al. A comparison of patient matched meibum and tear lipids. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:7417–24.
- [67] Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Biochemistry*. fifth ed. New York: W. H. Freeman and Co; 2002.
- [68] Schirra F, Suzuki T, Dickinson DP, Townsend DJ, Gipson IK, Sullivan DA. Identification of steroidogenic enzyme mRNAs in the human lacrimal gland, meibomian gland, cornea, and conjunctiva. *Cornea* 2006;25:438–42.
- [69] Schirra F, Richards SM, Liu M, Suzuki T, Yamagami H, Sullivan DA. Androgen regulation of lipogenic pathways in the mouse meibomian gland. *Exp Eye Res* 2006;83:291–6.
- [70] Rawson RB. The site-2 protease. *Biochim Biophys Acta* 2013;1828:2801–7.
- [71] Horton JD, Shah NA, Warrington JA, Anderson NN, Park SW, Brown MS, et al. Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:12027–32.
- [72] Swinnen JV, Heemers H, van de Sande T, de Schrijver E, Brusselmans K, Heyns W, et al. Androgens, lipogenesis and prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004;92:273–9.
- [73] Megarbane H, Megarbane A. Ichthyosis follicularis, alopecia, and photophobia (IFAP) syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:29.
- [74] Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea* 2003;22:640–50.
- [75] Knop N, Knop E. Ultrastructural anatomy of CALT follicles in the rabbit reveals characteristics of M-cells, germinal centres and high endothelial venules. *J Anat* 2005;207:409–26.
- [76] Wolff [Not Available] *Homeopath Fr* 1946;22:189.
- [77] Bron AJ. The Doyné lecture. Reflections on the tears. *Eye (Lond)* 1997;11(Pt 5):583–602.

- [78] Mantelli F, Massaro-Giordano M, Macchi I, Lambiase A, Bonini S. The cellular mechanisms of dry eye: from pathogenesis to treatment. *J Cell Physiol* 2013;228:2253–6.
- [79] Bron AJ. The definition and classification of dry eye disease. In: Chan C, editor. *Dry Eye: A Practical Approach*. Springer; 2015.
- [80] Pellegrini G, Golisano O, Paterna P, Lambiase A, Bonini S, Rama P, et al. Location and clonal analysis of stem cells and their differentiated progeny in the human ocular surface. *J Cell Biol* 1999;145:769–82.
- [81] Dartt DA. Regulation of mucin and fluid secretion by conjunctival epithelial cells. *Prog Retin Eye Res* 2002;21:555–76.
- [82] Schmidt TA, Sullivan DA, Knop E, Richards SM, Knop N, Liu S, et al. Transcription, translation, and function of lubricin, a boundary lubricant, at the ocular surface. *JAMA Ophthalmol* 2013;131:766–76.
- [83] Argueso P, Gipson IK. Epithelial mucins of the ocular surface: structure, biosynthesis and function. *Exp Eye Res* 2001;73:281–9.
- [84] Levin MH, Verkman AS. Aquaporin-dependent water permeation at the mouse ocular surface: in vivo microfluorimetric measurements in cornea and conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4423–32.
- [85] Knop E, Knop N, Claus P. Local production of secretory IgA in the eye-associated lymphoid tissue (EALT) of the normal human ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:2322–9.
- [86] Barrandon Y. The biology of epidermal stem cells. *Ann Dermatol Venerol* 1998;125(Suppl 2):55–6.
- [87] Lajtha LG. Stem cell concepts. *Nouv Rev Fr Hematol* 1979;21:59–65.
- [88] Dua HS, Miri A, Alomar T, Yeung AM, Said DG. The role of limbal stem cells in corneal epithelial maintenance: testing the dogma. *Ophthalmology* 2009;116:856–63.
- [89] Dziasko MA, Daniels JT. Anatomical features and cell-cell interactions in the human limbal epithelial stem cell niche. *Ocul Surf* 2016;14:322–30.
- [90] Ramos T, Scott D, Ahmad S. An update on ocular surface epithelial stem cells: cornea and conjunctiva. *Stem Cells Int* 2015;2015:601731.
- [91] Tseng SC, He H, Zhang S, Chen SY. Niche regulation of limbal epithelial stem cells: relationship between inflammation and regeneration. *Ocul Surf* 2016;14:100–12.
- [92] Wei ZG, Sun TT, Lavker RM. Rabbit conjunctival and corneal epithelial cells belong to two separate lineages. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:523–33.
- [93] Wei ZG, Wu RL, Lavker RM, Sun TT. In vitro growth and differentiation of rabbit bulbar, fornix, and palpebral conjunctival epithelia. Implications on conjunctival epithelial transdifferentiation and stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:1814–28.
- [94] Pe'er J, Zajicek G, Greifner H, Kogan M. Streaming conjunctiva. *Anat Rec* 1996;245:36–40.
- [95] Wirtschauer JD, Ketcham JM, Weinstock RJ, Tabesh T, McLoon LK. Mucocutaneous junction as the major source of replacement palpebral conjunctival epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:3138–46.
- [96] Stewart RM, Sheridan CM, Hiscott PS, Czanner G, Kaye SB. Human conjunctival stem cells are predominantly located in the medial canthal and inferior Forniceal areas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:2021–30.
- [97] Kessing SV. Mucous gland system of the conjunctiva. A quantitative normal anatomical study. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1968;(Suppl 95):91+.
- [98] Perez-Vilar J, Hill RL. The structure and assembly of secreted mucins. *J Biol Chem* 1999;274:31751–4.
- [99] Gipson IK. Distribution of mucins at the ocular surface. *Exp Eye Res* 2004;78:379–88.
- [100] Mantelli F, Argueso P. Functions of ocular surface mucins in health and disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008;8:477–83.
- [101] Knop N, Korb DR, Blackie CA, Knop E. The lid wiper contains goblet cells and goblet cell crypts for ocular surface lubrication during the blink. *Cornea* 2012;31:668–79.
- [102] Knop N, Knop E. The crypt system of the human conjunctiva. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:867–72.
- [103] Gordon YJ, Romanowski EG, McDermott AM. A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. *Curr Eye Res* 2005;30:505–15.
- [104] Knop E, Korb DR, Blackie CA, Knop N. The lid margin is an underestimated structure for preservation of ocular surface health and development of dry eye disease. *Dev Ophthalmol* 2010;45:108–22.
- [105] De Paiva CS, Raince JK, McClellan AJ, Shanmugam KP, Pangelinan SB, Volpe EA, et al. Homeostatic control of conjunctival mucosal goblet cells by NKT-derived IL-13. *Mucosal Immunol* 2011;4:397–408.
- [106] Diebold Y, Rios JD, Hodges RR, Rawe I, Dartt DA. Presence of nerves and their receptors in mouse and human conjunctival goblet cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2270–82.
- [107] Rios JD, Forde K, Diebold Y, Lightman J, Zieske JD, Dartt DA. Development of conjunctival goblet cells and their neuroreceptor subtype expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:2127–37.
- [108] Rios JD, Zoukhri D, Rawe IM, Hodges RR, Zieske JD, Dartt DA. Immunolocalization of muscarinic and VIP receptor subtypes and their role in stimulating goblet cell secretion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:1102–11.
- [109] Dartt DA, Kessler TL, Chung EH, Zieske JD. Vasoactive intestinal peptide-stimulated glycoconjugate secretion from conjunctival goblet cells. *Exp Eye Res* 1996;63:27–34.
- [110] Hodges RR, Bair JA, Carozza RB, Li D, Shatos MA, Dartt DA. Signaling pathways used by EGF to stimulate conjunctival goblet cell secretion. *Exp Eye Res* 2012;103:99–113.
- [111] Fujihara T, Murakami T, Fujita H, Nakamura M, Nakata K. Improvement of corneal barrier function by the P2Y(2) agonist INS365 in a rat dry eye model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:96–100.
- [112] Jumblatt JE, Jumblatt MM. Regulation of ocular mucin secretion by P2Y2 nucleotide receptors in rabbit and human conjunctiva. *Exp Eye Res* 1998;67:341–6.
- [113] Rios JD, Ghinelli E, Gu J, Hodges RR, Dartt DA. Role of neurotrophins and neurotrophin receptors in rat conjunctival goblet cell secretion and proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:1543–51.
- [114] Hingorani M, Metz D, Lightman SL. Characterisation of the normal conjunctival leukocyte population. *Exp Eye Res* 1997;64:905–12.
- [115] Allansmith MR, Greiner JV, Baird RS. Number of inflammatory cells in the normal conjunctiva. *Am J Ophthalmol* 1978;86:250–9.
- [116] Allansmith M, de Ramus A, Maurice D. The dynamics of IgG in the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1979;18:947–55.
- [117] Knop N, Knop E. Conjunctiva-associated lymphoid tissue in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1270–9.
- [118] Knop E, Knop N. Conjunctiva-associated lymphoid tissue (CALT) in the human eye - components and topographical distribution. *Ophthalmic Res* 1999;31(Suppl):156.
- [119] Knop E, Knop N. A functional unit for ocular surface immune defense formed by the lacrimal gland, conjunctiva and lacrimal drainage system. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:835–44.
- [120] Dua HS, Gomes JA, Jindal VK, Appa SN, Schwarting R, Eagle Jr RC, et al. Mucosa specific lymphocytes in the human conjunctiva, corneoscleral limbus and lacrimal gland. *Curr Eye Res* 1994;13:87–93.
- [121] Wotherspoon AC, Hardman-Lea S, Isaacson PG. Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) in the human conjunctiva. *J Pathol* 1994;174:33–7.
- [122] Nichols B, Dawson CR, Togni B. Surface features of the conjunctiva and cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1983;24:570–6.
- [123] Cope C, Dilly PN, Kaura R, Tiffany JM. Wettability of the corneal surface: a reappraisal. *Curr Eye Res* 1986;5:777–85.
- [124] Gipson IK, Argueso P. Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. *Int Rev Cytol* 2003;231:1–49.
- [125] Liotet S, Van Bijsterveld OP, Kogbe O, Laroche L. A new hypothesis on tear film stability. *Ophthalmologica* 1987;195:119–24.
- [126] Cai K, Wei R. Interleukin-7 expression in tears and orbital tissues of patients with Graves' ophthalmopathy. *Endocrine* 2013;44:140–4.
- [127] Sumiyoshi M, Ricciuto J, Tisdale A, Gipson IK, Mantelli F, Argueso P. Anti-adhesive character of mucin O-glycans at the apical surface of corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:197–203.
- [128] Blalock TD, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Heimer SR, Gilmore MS, Ramesh V, et al. Functions of MUC16 in corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:4509–18.
- [129] Ricciuto J, Heimer SR, Gilmore MS, Argueso P. Cell surface O-glycans limit *Staphylococcus aureus* adherence to corneal epithelial cells. *Infect Immun* 2008;76:5215–20.
- [130] Govindarajan B, Gipson IK. Membrane-tethered mucins have multiple functions on the ocular surface. *Exp Eye Res* 2010;90:655–63.
- [131] Inatomi T, Spurr-Michaud S, Tisdale AS, Gipson IK. Human corneal and conjunctival epithelia express MUC1 mucin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:1818–27.
- [132] Inatomi T, Spurr-Michaud S, Tisdale AS, Zhan Q, Feldman ST, Gipson IK. Expression of secretory mucin genes by human conjunctival epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:1684–92.
- [133] Argueso P, Spurr-Michaud S, Russo CL, Tisdale A, Gipson IK. MUC16 mucin is expressed by the human ocular surface epithelia and carries the H185 carbohydrate epitope. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:2487–95.
- [134] Argueso P, Guzman-Aranguez A, Mantelli F, Cao Z, Ricciuto J, Panjwani N. Association of cell surface mucins with galectin-3 contributes to the ocular surface epithelial barrier. *J Biol Chem* 2009;284:23037–45.
- [135] Moniaux N, Escande F, Porchet N, Aubert JP, Batra SK. Structural organization and classification of the human mucin genes. *Front Biosci* 2001;6:D1192–206.
- [136] Yin BW, Lloyd KO. Molecular cloning of the CA125 ovarian cancer antigen: identification as a new mucin, MUC16. *J Biol Chem* 2001;276:27371–5.
- [137] Komatsu M, Yee L, Carraway KL. Overexpression of sialomucin complex, a rat homologue of MUC4, inhibits tumor killing by lymphokine-activated killer cells. *Cancer*

- Res 1999;59:2229–36.
- [138] Carraway KL, Hull SR. Cell surface mucin-type glycoproteins and mucin-like domains. *Glycobiology* 1991;1:131–8.
- [139] Hattrup CL, Gendler SJ. Structure and function of the cell surface (tethered) mucins. *Annu Rev Physiol* 2008;70:431–57.
- [140] Hilkens J, Vos HL, Wesseling J, Boer M, Storm J, van der Valk S, et al. Is episialin/MUC1 involved in breast cancer progression? *Cancer Lett* 1995;90: 27–33.
- [141] Wesseling J, van der Valk SW, Vos HL, Sonnenberg A, Hilkens J. Episialin (MUC1) overexpression inhibits integrin-mediated cell adhesion to extra-cellular matrix components. *J Cell Biol* 1995;129:255–65.
- [142] Cascio S, Zhang L, Finn OJ. MUC1 protein expression in tumor cells regulates transcription of proinflammatory cytokines by forming a complex with nuclear factor-kappaB p65 and binding to cytokine promoters: importance of extracellular domain. *J Biol Chem* 2011;286:42248–56.
- [143] Roy LD, Sahraei M, Subramani DB, Besmer D, Nath S, Tinder TL, et al. MUC1 enhances invasiveness of pancreatic cancer cells by inducing epithelial to mesenchymal transition. *Oncogene* 2011;30:1449–59.
- [144] Pflugfelder SC, Liu Z, Monroy D, Li DQ, Carvajal ME, Price-Schiavi SA, et al. Detection of sialomucin complex (MUC4) in human ocular surface epithelium and tear fluid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1316–26.
- [145] O'Brien TJ, Beard JB, Underwood LJ, Dennis RA, Santin AD, York L. The CA 125 gene: an extracellular superstructure dominated by repeat sequences. *Tumour Biol* 2001;22:348–66.
- [146] O'Brien TJ, Beard JB, Underwood LJ, Shigemasa K. The CA 125 gene: a newly discovered extension of the glycosylated N-terminal domain doubles the size of this extracellular superstructure. *Tumour Biol* 2002;23:154–69.
- [147] Gipson IK, Spurr-Michaud S, Tisdale A, Menon BB. Comparison of the transmembrane mucins MUC1 and MUC16 in epithelial barrier function. *PLoS One* 2014;9: e100393.
- [148] Argueso P, Tisdale A, Spurr-Michaud S, Sumiyoshi M, Gipson IK. Mucin characteristics of human corneal-limbal epithelial cells that exclude the rose bengal anionic dye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:113–9.
- [149] Arafat SN, Suelves AM, Spurr-Michaud S, Chodosh J, Foster CS, Dohlman CH, et al. Neutrophil collagenase, gelatinase, and myeloperoxidase in tears of patients with stevens-johnson syndrome and ocular cicatricial pemphigoid. *Ophthalmology* 2014;121:79–87.
- [150] Mantelli F, Schaffer L, Dana R, Head SR, Argueso P. Glycogene expression in conjunctiva of patients with dry eye: downregulation of Notch signaling. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2666–72.
- [151] Ahmad N, Gabius HJ, Andre S, Kaltner H, Sabesan S, Roy R, et al. Galectin-3 precipitates as a pentamer with synthetic multivalent carbohydrates and forms heterogeneous cross-linked complexes. *J Biol Chem* 2004;279: 10841–7.
- [152] Barondes SH, Castronovo V, Cooper DN, Cummings RD, Drickamer K, Feizi T, et al. Galectins: a family of animal beta-galactoside-binding lectins. *Cell* 1994;76:597–8.
- [153] Rabinovich GA, Toscano MA, Jackson SS, Vasta GR. Functions of cell surface galectin-glycoprotein lattices. *Curr Opin Struct Biol* 2007;17:513–20.
- [154] Argueso P. Glycobiology of the ocular surface: mucins and lectins. *Jpn J Ophthalmol* 2013;57:150–5.
- [155] Uchino Y, Mauris J, Woodward AM, Dieckow J, Amparo F, Dana R, et al. Alteration of galectin-3 in tears of patients with dry eye disease. *Am J Ophthalmol* 2015;159:1027 e3–35 e3.
- [156] Jumblatt MM, McKenzie RW, Jumblatt JE. MUC5AC mucin is a component of the human precorneal tear film. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:43–9.
- [157] McKenzie RW, Jumblatt JE, Jumblatt MM. Quantification of MUC2 and MUC5AC transcripts in human conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:703–8.
- [158] Corrales RM, Galarreta D, Herreras JM, Saez V, Arranz I, Gonzalez MJ, et al. Conjunctival mucin mRNA expression in contact lens wear. *Optom Vis Sci* 2009;86:1051–8.
- [159] Spurr-Michaud S, Argueso P, Gipson I. Assay of mucins in human tear fluid. *Exp Eye Res* 2007;84:939–50.
- [160] Woodward AM, Argueso P. Expression analysis of the transmembrane mucin MUC20 in human corneal and conjunctival epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:6132–8.
- [161] Kinoshita S. Ocular surface reconstruction by tissue engineering. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi* 2002;106:837–68. discussion 869.
- [162] King-Smith PE, Fink BA, Fogt N, Nichols KK, Hill RM, Wilson GS. The thickness of the human precorneal tear film: evidence from reflection spectra. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3348–59.
- [163] Bron AJ, Yokoi N, Gaffney EA, Tiffany JM. A solute gradient in the tear meniscus. I. A hypothesis to explain Marx's line. *Ocul Surf* 2011;9:70–91.
- [164] McDonald JE. Surface phenomena of the tear film. *Am J Ophthalmol* 1969;67: 56–64.
- [165] Yokoi N, Uchino M, Uchino Y, Dogru M, Kawashima M, Komuro A, et al. Importance of tear film instability in dry eye disease in office workers using visual display terminals: the Osaka study. *Am J Ophthalmol* 2015;159: 748–54.
- [166] Bron AJ, Yokoi N, Yang Z, Georgiev GA. The pre-corneal fluid shell. What is the effect of drop instillation? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;2015. ARVO poster, Abstract 2496.
- [167] Doane MG. Dynamics of the human blink. *Ber Zusammenkunft Dtsch Ophtholmol Ges* 1979:13–7.
- [168] Yokoi N, Kinoshita S, Bron AJ, Tiffany JM, Sugita J, Inatomi T. Tear meniscus changes during cotton thread and Schirmer testing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3748–53.
- [169] Yokoi N, Bron AJ, Tiffany JM, Maruyama K, Komuro A, Kinoshita S. Relationship between tear volume and tear meniscus curvature. *Arch Ophthalmol* 2004;122:1265–9.
- [170] Mishima S, Gasset A, Klyce Jr SD, Baum JL. Determination of tear volume and tear flow. *Invest Ophthalmol* 1966;5:264–76.
- [171] Mainstone JC, Bruce AS, Golding TR. Tear meniscus measurement in the diagnosis of dry eye. *Curr Eye Res* 1996;15:653–61.
- [172] Shen M, Li J, Wang J, Ma H, Cai C, Tao A, et al. Upper and lower tear menisci in the diagnosis of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2722–6.
- [173] Mishima S. Some physiological aspects of the precorneal tear film. *Arch Ophthalmol* 1965;73:233–41.
- [174] Tomlinson A, Doane MG, McFadyen A. Inputs and outputs of the lacrimal system: review of production and evaporative loss. *Ocul Surf* 2009;7: 186–98.
- [175] Craig JP, Tomlinson A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optom Vis Sci* 1997;74:8–13.
- [176] Gaffney EA, Tiffany JM, Yokoi N, Bron AJ. A mass and solute balance model for tear volume and osmolarity in the normal and the dry eye. *Prog Retin Eye Res* 2010;29:59–78.
- [177] Nichols JJ, Mitchell GL, King-Smith PE. Thinning rate of the precorneal and prelens tear films. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2353–61.
- [178] Yokoi N, Kato H, Sakai R, Georgiev GA, Kinoshita S. Investigation of the difference in clinical manifestations in different patterns of tear film breakup. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:1978.
- [179] King-Smith PE, Hinel EA, Nichols JJ. Application of a novel interferometric method to investigate the relation between lipid layer thickness and tear film thinning. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:2418–23.
- [180] Bron AJ, Tiffany JM. The contribution of meibomian disease to dry eye. *Ocul Surf* 2004;2:149–65.
- [181] Tiffany JM. The lipid secretion of the meibomian glands. *Adv Lipid Res* 1987;22:1–62.
- [182] Georgiev GA, Yokoi N, Ivanova S, Tonchev V, Nencheva Y, Krastev R. Surface relaxations as a tool to distinguish the dynamic interfacial properties of films formed by normal and diseased meibomian lipids. *Soft Matter* 2014;10: 5579–88.
- [183] Butovich IA, Lu H, McMahon A, Ketelson H, Senchyna M, Meadows D, et al. Biophysical and morphological evaluation of human normal and dry eye meibum using hot stage polarized light microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:87–101.
- [184] Blackie CA, Korb DR, Knop E, Bedi R, Knop N, Holland EJ. Nonobvious obstructive meibomian gland dysfunction. *Cornea* 2010;29:1333–45.
- [185] Chew CK, Hykin PG, Jansweijer C, Dikstein S, Tiffany JM, Bron AJ. The casual level of meibomian lipids in humans. *Curr Eye Res* 1993;12:255–9.
- [186] Chew CK, Jansweijer C, Tiffany JM, Dikstein S, Bron AJ. An instrument for quantifying meibomian lipid on the lid margin: the Meibometer. *Curr Eye Res* 1993;12:247–54.
- [187] Holly FJ, Lemp MA. Tear physiology and dry eyes. *Surv Ophthalmol* 1977;22: 69–87.
- [188] McCulley JP, Shine W. A compositional based model for the tear film lipid layer. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1997;95:79–88. discussion 88–93.
- [189] Butovich IA. On the lipid composition of human meibum and tears: comparative analysis of nonpolar lipids. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49: 3779–89.
- [190] Green-Church KB, Butovich I, Willcox M, Borchman D, Paulsen F, Barabino S, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on tear film lipids and lipid-protein interactions in health and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1979–93.
- [191] Millar TJ. Elucidate the contribution of proteins to tears. A challenge for researchers. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2006;81:187–90.
- [192] Bron AJ, Tomlinson A, Foulks GN, Pepose JS, Baudouin C, Geerling G, et al. Rethinking dry eye disease: a perspective on clinical implications. *Ocul Surf* 2014;12:S1–31.
- [193] King-Smith PE, Fink BA, Hill RM, Koelling KW, Tiffany JM. The thickness of the tear film. *Curr Eye Res* 2004;29:357–68.
- [194] Yokoi N, Yamada H, Mizukusa Y, Bron AJ, Tiffany JM, Kato T, et al. Rheology of tear film lipid layer spread in normal and aqueous tear-deficient dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:5319–24.
- [195] Goto E, Tseng SC. Kinetic analysis of tear interference images in aqueous tear deficiency dry eye before and after punctal occlusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:1897–905.
- [196] Sullivan DA, Tsubota K, Dartt DA, Stern ME, Sullivan RM, Bromberg BB, editors.

- Lacrimal Gland, Tear Film and Dry Eye Syndromes 3. Basic Science and Clinical Relevance. New York: Kluwer Academic/Plenum Press; 2002.
- [197] Yokoi N, Bron AJ, Georgiev GA. The precorneal tear film as a fluid shell: the effect of blinking and saccades on tear film distribution and dynamics. *Ocul Surf* 2014;12:252–66.
- [198] Yan-*ez*-Soto B, Mannis MJ, Schwab IR, Li JY, Leonard BC, Abbott NL, et al. Interfacial phenomena and the ocular surface. *Ocul Surf* 2014;12:178–201.
- [199] Rolando M, Valente C, Barabino S. New test to quantify lipid layer behavior in healthy subjects and patients with keratoconjunctivitis sicca. *Cornea* 2008;27:866–70.
- [200] Cher I. A new look at lubrication of the ocular surface: fluid mechanics behind the blinking eyelids. *Ocul Surf* 2008;6:79–86.
- [201] Holly FJ, Lemp MA. Wettability and wetting of corneal epithelium. *Exp Eye Res* 1971;11:239–50.
- [202] Norn MS. Vital staining of the canaliculus lacrimalis and the palpebral border (Marx' line). *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1966;44:948–59.
- [203] Norn MS. Dead, degenerate, and living cells in conjunctival fluid and mucous thread. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1969;47:1102–15.
- [204] Garreis F, Gottschalt M, Paulsen FP. Antimicrobial peptides as a major part of the innate immune defense at the ocular surface. *Dev Ophthalmol* 2010;45: 16–22.
- [205] Van Haeringen NJ. Clinical biochemistry of tears. *Surv Ophthalmol* 1981;26: 84–96.
- [206] Paulsen F. Cell and molecular biology of human lacrimal gland and nasolacrimal duct mucins. *Int Rev Cytol* 2006;249:229–79.
- [207] Bron AJ, Yokoi N, Gafney E, Tiffany JM. Predicted phenotypes of dry eye: proposed consequences of its natural history. *Ocul Surf* 2009;7:78–92.
- [208] Mackie IA, Seal DV. The questionably dry eye. *Br J Ophthalmol* 1981;65:2–9.
- [209] Sack RA, Tan KO, Tan A. Diurnal tear cycle: evidence for a nocturnal inflammatory constitutive tear fluid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33: 626–40.
- [210] Fullard RJ, Carney LG. Diurnal variation in human tear enzymes. *Exp Eye Res* 1984;38:15–26.
- [211] Fullard RJ, Carney LG. Human tear enzyme changes as indicators of the corneal response to anterior hypoxia. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1985;63: 678–83.
- [212] Carney LG, Hill RM. Human tear pH. Diurnal variations. *Arch Ophthalmol* 1976;94:821–4.
- [213] Terry JE, Hill RM. Human tear osmotic pressure: diurnal variations and the closed eye. *Arch Ophthalmol* 1978;96:120–2.
- [214] Bonanno JA, Polse KA. Measurement of in vivo human corneal stromal pH: open and closed eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1987;28:522–30.
- [215] McNamara NA, Chan JS, Han SC, Polse KA, McKenney CD. Effects of hypoxia on corneal epithelial permeability. *Am J Ophthalmol* 1999;127:153–7.
- [216] Daum KM, Hill RM. Human tears: glucose instabilities. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1984;62:530–6.
- [217] Jordan A, Baum J. Basic tear flow. Does it exist? *Ophthalmology* 1980;87: 920–30.
- [218] Sack RA, Beaton A, Sathe S, Morris C, Willcox M, Bogart B. Towards a closed eye model of the pre-ocular tear layer. *Prog Retin Eye Res* 2000;19:649–68.
- [219] Fullard RJ, Tucker DL. Changes in human tear protein levels with progressively increasing stimulus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:2290–301.
- [220] Sack RA, Underwood PA, Tan KO, Sutherland H, Morris CA. Vitronectin: possible contribution to the closed-eye external host-defense mechanism. *Ocul Immunol Inflamm* 1993;1:327–36.
- [221] Sathe S, Sakata M, Beaton AR, Sack RA. Identification, origins and the diurnal role of the principal serine protease inhibitors in human tear fluid. *Curr Eye Res* 1998;17:348–62.
- [222] Lan JX, Willcox MD, Jackson GD, Thakur A. Effect of tear secretory IgA on chemotaxis of polymorphonuclear leucocytes. *Aust N Z J Ophthalmol* 1998;26(Suppl 1):S36–9.
- [223] Conners MS, Stoltz RA, Davis KL, Dunn MW, Abraham NG, Levere RD, et al. A closed eye contact lens model of corneal inflammation. Part 2: inhibition of cytochrome P450 arachidonic acid metabolism alleviates inflammatory sequelae. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:841–50.
- [224] Willcox MD, Morris CA, Thakur A, Sack RA, Wickson J, Boey W. Complement and complement regulatory proteins in human tears. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:1–8.
- [225] Sonawane S, Khanolkar V, Namavari A, Chaudhary S, Gandhi S, Tibrewal S, et al. Ocular surface extracellular DNA and nuclease activity imbalance: a new paradigm for inflammation in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:8253–63.
- [226] Lande R, Gregorio J, Facchinetti V, Chatterjee B, Wang YH, Homey B, et al. Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. *Nature* 2007;449:564–9.
- [227] Pisetsky DS. The origin and properties of extracellular DNA: from PAMP to DAMP. *Clin Immunol* 2012;144:32–40.
- [228] Schnare M, Holt AC, Takeda K, Akira S, Medzhitov R. Recognition of CpG DNA is mediated by signaling pathways dependent on the adaptor protein MyD88. *Curr Biol* 2000;10:1139–42.
- [229] Hayashi F, Means TK, Luster AD. Toll-like receptors stimulate human neutrophil function. *Blood* 2003;102:2660–9.
- [230] Nance SC, Yi AK, Re FC, Fitzpatrick EA. MyD88 is necessary for neutrophil recruitment in hypersensitivity pneumonitis. *J Leukoc Biol* 2008;83: 1207–17.
- [231] Krysko DV, Agostinis P, Krysko O, Garg AD, Bachert C, Lambrecht BN, et al. Emerging role of damage-associated molecular patterns derived from mitochondria in inflammation. *Trends Immunol* 2011;32:157–64.
- [232] Chinnery HR, McLenachan S, Binz N, Sun Y, Forrester JV, Degli-Esposti MA, et al. TLR9 ligand CpG-ODN applied to the injured mouse cornea elicits retinal inflammation. *Am J Pathol* 2012;180:209–20.
- [233] Gottenberg JE, Cagnard N, Lucchesi C, Letourneur F, Mistou S, Lazure T, et al. Activation of IFN pathways and plasmacytoid dendritic cell recruitment in target organs of primary Sjogren's syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:2770–5.
- [234] Barabino S, Chen Y, Chauhan S, Dana R. Ocular surface immunity: homeostatic mechanisms and their disruption in dry eye disease. *Prog Retin Eye Res* 2012;31:271–85.
- [235] Corrales RM, Villarreal A, Farley W, Stern ME, Li DQ, Pflugfelder SC. Strain-related cytokine profiles on the murine ocular surface in response to desiccating stress. *Cornea* 2007;26:579–84.
- [236] Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze J, Wahn V, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2007;176:231–41.
- [237] Saffarzadeh M, Juemann C, Queisser MA, Lochnit G, Barreto G, Galuska SP, et al. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones. *PLoS One* 2012;7: e32366.
- [238] Xu J, Zhang X, Pelayo R, Monestier M, Ammolto CT, Semeraro F, et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med* 2009;15:1318–21.
- [239] Reinholz M, Ruzicka T, Schaubert J. Cathelicidin LL-37: an antimicrobial peptide with a role in inflammatory skin disease. *Ann Dermatol* 2012;24: 126–35.
- [240] Song JS, Kang CM, Rhee CK, et al. Effects of elastase inhibitor on the epithelial cell apoptosis in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Exp Lung Res* 2009;35:817–29.
- [241] Blalock TD, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Gipson IK. Release of membrane-associated mucins from ocular surface epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:1864–71.
- [242] Akin ML, Berry M, Dick AD, Khan-Lim D. Normal but not altered mucins activate neutrophils. *Cell Tissue Res* 2004;318:545–51.
- [243] Medina E. Neutrophil extracellular traps: a strategic tactic to defeat pathogens with potential consequences for the host. *J Innate Immun* 2009;1: 176–80.
- [244] Tibrewal S, Ivanir Y, Sarkar J, Nayeb-Hashemi N, Bouchard CS, Kim E, et al. Hyperosmolar stress induces neutrophil extracellular trap formation: implications for dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:7961–9.
- [245] Tibrewal S, Sarkar J, Jassim SH, Gandhi S, Sonawane S, Chaudhary S, et al. Tear fluid extracellular DNA: diagnostic and therapeutic implications in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:8051–61.
- [246] Sullivan BD, Crews LA, Sonmez B, de la Paz MF, Comert E, Charoenrook V, et al. Clinical utility of objective tests for dry eye disease: variability over time and implications for clinical trials and disease management. *Cornea* 2012;31:1000–8.
- [247] Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004;78:409–16.
- [248] Paulsen F. The human nasolacrimal ducts. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 2003;170(III-XI):1–106.
- [249] Rozsa AJ, Beuerman RW. Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit. *Pain* 1982;14:105–20.
- [250] McGowan DP, Lawrenson JG, Ruskell GL. Touch sensitivity of the eyelid margin and palpebral conjunctiva. *Acta Ophthalmol* 1994;72:57–60.
- [251] Ruskell GL. Distribution of pterygopalatine ganglion efferents to the lacrimal gland in man. *Exp Eye Res* 2004;78:329–35.
- [252] Willshire C, Buckley RJ, Bron AJ. Central connections of the lacrimal functional unit. *Cornea* 2017. in press.
- [253] Schargus M, Geerling G. The “wet” dry eye. *Ophthalmology* 2009;116:235–8. 40–41.
- [254] Cross DA, Krupin T. Implications of the effects of general anesthesia on basal tear production. *Anesth Analg* 1977;56:35–7.
- [255] Heigle TJ, Pflugfelder SC. Aqueous tear production in patients with neurotrophic keratitis. *Cornea* 1996;15:135–8.
- [256] Murube J, Murube L, Murube A. Origin and types of emotional tearing. *Eur J Ophthalmol* 1999;9:77–84.

- [257] Standring S. *Grays Anatomy 40th Edition. Anatomical Basis Of Clinical Practice*. 40. London: Churchill Livingstone; 2008. p. 415.
- [258] Collins M, Seeto R, Campbell L, Ross M. Blinking and corneal sensitivity. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1989;67:525–31.
- [259] Toda I, Asano-Kato N, Komai-Hori Y, Tsubota K. Dry eye after laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* 2001;132:1–7.
- [260] Collins MJ, Kloevekor-Norgall K, Buehren T, Voetz SC, Lingelbach B. Regression of lid-induced corneal topography changes after reading. *Optom Vis Sci* 2005;82:843–9.
- [261] Tsubota K. Tear dynamics and dry eye. *Prog Retin Eye Res* 1998;17:565–96.
- [262] Tsubota K, Fujishima H, Toda I, Katagiri S, Kawashima Y, Saito I. Increased levels of Epstein-Barr virus DNA in lacrimal glands of Sjogren's syndrome patients. *Acta Ophthalmol Scand* 1995;73:425–30.
- [263] Tsubota K, Satake Y, Shimazaki J. Treatment of severe dry eye. *Lancet* 1996;348:123.
- [264] Alex A, Edwards A, Hays JD, Kerckstra M, Shih A, de Paiva CS, et al. Factors predicting the ocular surface response to desiccating environmental stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:3325–32.
- [265] Moore QL, De Paiva CS, Pflugfelder SC. Effects of dry eye therapies on environmentally induced ocular surface disease. *Am J Ophthalmol* 2015;160:135 e1–42 e1.
- [266] Montes-Mico R, Alio JL, Charman WN. Dynamic changes in the tear film in dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:1615–9.
- [267] Pflugfelder SC. Tear dysfunction and the cornea: LXVIII Edward Jackson memorial lecture. *Am J Ophthalmol* 2011;152:900 e1–9 e1.
- [268] Baudouin C, Aragona P, Messmer EM, Tomlinson A, Calonge M, Boboridis KG, et al. Role of hyperosmolarity in the pathogenesis and management of dry eye disease: proceedings of the OCEAN group meeting. *Ocul Surf* 2013;11: 246–58.
- [269] Lemp MA, Bron AJ, Baudouin C, Benitez Del Castillo JM, Geffen D, Tauber J, et al. Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *Am J Ophthalmol* 2011;151:792 e1–8 e1.
- [270] Tomlinson A, Khanal S, Ramaesh K, Diaper C, McFadyen A. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:4309–15.
- [271] Sullivan BD, Pepose JS, Foulks GN. Progressively increased variation in tear osmolarity mirrors dry eye severity. *JAMA Ophthalmol* 2015;133:1481–2.
- [272] Bron AJ, Tiffany JM, Yokoi N, Gouveia SM. Using osmolarity to diagnose dry eye: a compartmental hypothesis and review of our assumptions. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:1087–95.
- [273] Begley CG, Himebaugh N, Renner D, Liu H, Chalmers R, Simpson T, et al. Tear breakup dynamics: a technique for quantifying tear film instability. *Optom Vis Sci* 2006;83:15–21.
- [274] Liu H, Begley CG, Chalmers R, Wilson G, Srinivas SP, Wilkinson JA. Temporal progression and spatial repeatability of tear breakup. *Optom Vis Sci* 2006;83: 723–30.
- [275] Harrison WW, Begley CG, Liu H, Chen M, Garcia M, Smith JA. Menisci and fullness of the blink in dry eye. *Optom Vis Sci* 2008;85:706–14.
- [276] Liu H, Begley C, Chen M, Bradley A, Bonanno J, McNamara NA, et al. A link between tear instability and hyperosmolarity in dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:3671–9.
- [277] Braun RJ, Gewecke NR, Begley CG, King-Smith PE, Siddique JI. A model for tear film thinning with osmolarity and fluorescein. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:1133–42.
- [278] Braun RJ, King-Smith PE, Begley CG, Li L, Gewecke NR. Dynamics and function of the tear film in relation to the blink cycle. *Prog Retin Eye Res* 2015;45: 132–64.
- [279] Peng CC, Cerretani C, Braun RJ, Radke CJ. Evaporation-driven instability of the precorneal tear film. *Adv Colloid Interface Sci* 2014;206:250–64.
- [280] Nichols JJ, King-Smith PE, Hinel EA, Thangavelu M, Nichols KK. The use of fluorescent quenching in studying the contribution of evaporation to tear thinning. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:5426–32.
- [281] Sullivan BD, Whitmer D, Nichols KK, Tomlinson A, Foulks GN, Geerling G, et al. An objective approach to dry eye disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:6125–30.
- [282] Szalai E, Berta A, Szekecz Z, Szucs G, Modis Jr L. Evaluation of tear osmolarity in non-Sjogren and Sjogren syndrome dry eye patients with the TearLab system. *Cornea* 2012;31:867–71.
- [283] Fortes MB, Diment BC, Di Felice U, Gunn AE, Kendall JL, Esmaelpour M, et al. Tear fluid osmolarity as a potential marker of hydration status. *Med Sci Sports Exerc* 2011;43:1590–7.
- [284] Walsh NP, Fortes MB, Esmaelpour M. Influence of modest changes in whole-body hydration on tear fluid osmolarity: important considerations for dry eye disease detection. *Cornea* 2011;30:1517. author reply 1517–1518.
- [285] Walsh NP, Fortes MB, Raymond-Barker P, Bishop C, Owen J, Tye E, et al. Is whole-body hydration an important consideration in dry eye? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:6622–7.
- [286] Craig JP, Tomlinson A. Effect of age on tear osmolarity. *Optom Vis Sci* 1995;72:713–7.
- [287] Arciniegua JC, Wojtowicz JC, Mohamed EM, McCulley JP. Changes in the evaporation rate of tear film after digital expression of meibomian glands in patients with and without dry eye. *Cornea* 2011;30:843–7.
- [288] Tsubota K, Nakamori K. Effects of ocular surface area and blink rate on tear dynamics. *Arch Ophthalmol* 1995;113:155–8.
- [289] Ousler 3rd GW, Rodriguez JD, Smith LM, Lane KJ, Heckley C, Angeli E, et al. Optimizing reading tests for dry eye disease. *Cornea* 2015;34:917–21.
- [290] Jansen ME, Begley CG, Himebaugh NH, Port NL. Effect of contact lens wear and a near task on tear film break-up. *Optom Vis Sci* 2010;87:350–7.
- [291] Tsubota K, Shimmura S, Shinozaki N, Holland EJ, Shimazaki J. Clinical application of living-related conjunctival-limbal allograft. *Am J Ophthalmol* 2002;133:134–5.
- [292] Rieger G. The importance of the precorneal tear film for the quality of optical imaging. *Br J Ophthalmol* 1992;76:157–8.
- [293] Tutt R, Bradley A, Begley C, Thibos LN. Optical and visual impact of tear break-up in human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:4117–23.
- [294] Puell MC, Benitez-del-Castillo JM, Martinez-de-la-Casa J, Sanchez-Ramos C, Vico E, Perez-Carrasco MJ, et al. Contrast sensitivity and disability glare in patients with dry eye. *Acta Ophthalmol Scand* 2006;84:527–31.
- [295] Diaz-Valle D, Arriola-Villalobos P, Garcia-Vidal SE, Sanchez-Pulgarin M, Borrego Sanz L, Gegundez-Fernandez JA, et al. Effect of lubricating eyedrops on ocular light scattering as a measure of vision quality in patients with dry eye. *J Cataract Refract Surg* 2012;38:1192–7.
- [296] Ridder 3rd WH, Tomlinson A, Huang JF, Li J. Impaired visual performance in patients with dry eye. *Ocul Surf* 2011;9:42–55.
- [297] Kaido M, Dogru M, Ishida R, Tsubota K. Concept of functional visual acuity and its applications. *Cornea* 2007;26:S29–35.
- [298] Kaido M, Uchino MN, Uchino Y, Dogru M, Kawashima M, et al. Dry-eye screening by using a functional visual acuity measurement system: the Osaka Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:3275–81.
- [299] Lemp MA. Tear substitutes in the treatment of dry eyes. *Int Ophthalmol Clin* 1973;13:145–53.
- [300] Ousler 3rd GW, Hagberg KW, Schindelar M, Welch D, Abelson MB. The Ocular Protection Index. *Cornea* 2008;27:509–13.
- [301] Ruiz-Ederra J, Levin MH, Verkman AS. In situ fluorescence measurement of tear film [Na<sup>+</sup>], [K<sup>+</sup>], [Cl<sup>-</sup>], and pH in mice shows marked hypertonicity in aquaporin-5 deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2132–8.
- [302] Ogasawara K, Mitsubayashi K, Tsuru T, Karube I. Electrical conductivity of tear fluid in healthy persons and keratoconjunctivitis sicca patients measured by a flexible conductometric sensor. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996;234:542–6.
- [303] Gupta Y, Gupta M, Rizvi SA, Gupta M. 'Xerosis meter': a new concept in dry eye evaluation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244:9–13.
- [304] Tsubota K, Yamada M. Tear evaporation from the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:2942–50.
- [305] Uchiyama E, Aronowicz JD, Butovich IA, McCulley JP. Increased evaporative rates in laboratory testing conditions simulating airplane cabin relative humidity: an important factor for dry eye syndrome. *Eye Contact Lens* 2007;33: 174–6.
- [306] Enriquez-de-Salamanca A, Castellanos E, Stern ME, Fernandez I, Carreno E, Garcia-Vazquez C, et al. Tear cytokine and chemokine analysis and clinical correlations in evaporative-type dry eye disease. *Mol Vis* 2010;16:862–73.
- [307] Beardsley RM, De Paiva CS, Power DF, Pflugfelder SC. Desiccating stress decreases apical corneal epithelial cell size—modulation by the metalloproteinase inhibitor doxycycline. *Cornea* 2008;27:935–40.
- [308] Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2006;24: 99–146.
- [309] Luo L, Li DQ, Doshi A, Farley W, Corrales RM, Pflugfelder SC. Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4293–301.
- [310] Li DQ, Chen Z, Song XJ, Farley W, Pflugfelder SC. Hyperosmolarity Stimulates Production of MMP-9, IL-1 $\alpha$  and TNF- $\beta$  by Human Corneal Epithelial Cells Via a c-Jun NH2-terminal kinase pathway. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43. EAbstract 1981.
- [311] Li DQ, Chen Z, Song XJ, Luo L, Pflugfelder SC. Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4302–11.
- [312] Li DQ, Lokeswar BL, Solomon A, Monroy D, Ji Z, Pflugfelder SC. Regulation of MMP-9 production by human corneal epithelial cells. *Exp Eye Res* 2001;73: 449–59.
- [313] Kim HS, Luo L, Pflugfelder SC, Li DQ. Doxycycline inhibits TGF-beta1-induced MMP-9 via Smad and MAPK pathways in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:840–8.
- [314] Huet E, Vallee B, Delbe J, Mourah S, Pruliere-Escabasse V, Tremouilleres M, et al. EMMPRIN modulates epithelial barrier function through a MMP-mediated occludin

- cleavage: implications in dry eye disease. *Am J Pathol* 2011;179: 1278–86.
- [315] Pflugfelder SC, de Paiva CS, Tong L, Luo L, Stern ME, Li DQ. Stress-activated protein kinase signaling pathways in dry eye and ocular surface disease. *Ocul Surf* 2005;3:5154–7.
- [316] Chotikavanich S, de Paiva CS, D.-Q L, Chen JJ, Bian F, Farley WJ, et al. Pro- duction and activity of matrix Metalloproteinase-9 on the ocular surface increase in dysfunctional tear syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50: 3203–9.
- [317] Schargus M, Ivanova S, Kakkassery V, Dick HB, Joachim S. Correlation of Tear Film Osmolarity and 2 Different MMP-9 Tests With Common Dry Eye Tests in a Cohort of Non-Dry Eye Patients. *Cornea* 2015;34:739–44.
- [318] VanDerMeid KR, Su SP, Ward KW, Zhang JZ. Correlation of tear inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases with four dry eye diagnostic tests. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:1512–8.
- [319] Gabison EE, Huet E, Baudouin C, Menashi S. Direct epithelial-stromal inter- action in corneal wound healing: Role of EMMPRIN/CD147 in MMPs in- duction and beyond. *Prog Retin Eye Res* 2009;28:19–33.
- [320] Labbe A, Gabison E, Brignole-Baudouin F, Riancho L, Menashi S, Baudouin C. Increased extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) expression in the conjunctival epithelium exposed to antiglaucoma treat- ments. *Curr Eye Res* 2015;40:40–7.
- [321] Mauris J, Mantelli F, Woodward AM, Cao Z, Bertozzi CR, Panjwani N, et al. Modulation of ocular surface glycocalyx barrier function by a galectin-3 N- terminal deletion mutant and membrane-anchored synthetic glycopol- ymers. *PLoS One* 2013;8: e72304.
- [322] Pult H, Korb DR, Murphy PJ, Riede-Pult BH, Blackie C. A new model of central lid margin apposition and tear film mixing in spontaneous blinking. *Cont Lens Anterior Eye* 2015;38:173–80.
- [323] Ehlers N. The Precorneal Film. *Biomicroscopical, Histological and Chemical Investigations. Acta Ophthalmol Suppl* 1965;(Suppl 81):81–134.
- [324] Korb DR, Herman JP, Blackie CA, Scaffidi RC, Greiner JV, Exford JM, et al. Prevalence of lid wiper epitheliopathy in subjects with dry eye signs and symptoms. *Cornea* 2010;29:377–83.
- [325] Pult H, Tosatti SG, Spencer ND, Asfour JM, Ebenhoch M, Murphy PJ. Spon- taneous Blinking from a Tribological Viewpoint. *Ocul Surf* 2015;13:236–49.
- [326] Jones MB, Fulford GR, Please CP, McElwain DL, Collins MJ. Elastohydrody- namics of the eyelid wiper. *Bull Math Biol* 2008;70:323–43.
- [327] Bielecki P, Komor U, Bielecka A, Musken M, Puchalka J, Pletz MW, et al. Ex vivo transcriptional profiling reveals a common set of genes important for the adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to chronically infected host sites. *Environ Microbiol* 2013;15:570–87.
- [328] Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM. Platelet-rich plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): surgical adjuvants, preparations for in situ regenerative medi- cine and tools for tissue engineering. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13: 1121–30.
- [329] Swann DA, Slayter HS, Silver FH. The molecular structure of lubricating glycoprotein-I, the boundary lubricant for articular cartilage. *J Biol Chem* 1981;256:5921–5.
- [330] Cheriyan T, Schmid TM, Spector M. Presence and distribution of the lubri- cating protein, lubricin, in the meibomian gland in rabbits. *Mol Vis* 2011;17: 3055–61.
- [331] Morrison S, Sullivan DA, Sullivan BD, Sheardown H, Schmidt TA. Dose- dependent and synergistic effects of proteoglycan 4 on boundary lubrication at a human cornea- polydimethylsiloxane biointerface. *Eye Contact Lens* 2012;38:27–35.
- [332] Samsom ML, Morrison S, Masala N, Sullivan BD, Sullivan DA, Sheardown H, et al. Characterization of full-length recombinant human Proteoglycan 4 as an ocular surface boundary lubricant. *Exp Eye Res* 2014;127:14–9.
- [333] Lambiase A, Sullivan BD, Schmidt TA, Sullivan DA, Jay G, Truitt ERI, et al. A two- week, randomized, double-masked study to evaluate safety and efficacy of lubricin (150 µg/ml) eye drops versus sodium hyaluronate (HA) 0.18% eye drops (Vismed®) in patients with moderate dry eye disease. *Ocul Surf* 2017;15:77–87.
- [334] Doane MG. Interactions of eyelids and tears in corneal wetting and the dy- namics of the normal human eyeblink. *Am J Ophthalmol* 1980;89:507–16.
- [335] Cher I. Another way to think of tears: blood, sweat, and... “dacruon”. *Ocul Surf* 2007;5:251–4.
- [336] Cher I. Fluids of the ocular surface: concepts, functions and physics. *Clin Exp Ophthalmol* 2012;40:634–43.
- [337] Dunn AC, Sawyer WG, Angelini TE. Gemini Interfaces in Aqueous Lubrication with Hydrogels. *Tribol Lett* 2014;54:59–66.
- [338] Pandit JC, Nagyova B, Bron AJ, Tiffany JM. Physical properties of stimulated and unstimulated tears. *Exp Eye Res* 1999;68:247–53.
- [339] Tiffany JM. The viscosity of human tears. *Int Ophthalmol* 1991;15:371–6.
- [340] Tiffany JM, Bron AJ, Mossa F, Dikstein S. Delivery of meibomian oil using the Clinical Meibometer. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:333–8.
- [341] Donald C, Hamilton L, Doughty M. A quantitative assessment of the location and width of Marx's line along the marginal zone of the human eyelid. *Optom Vis Sci* 2003;80:564–72.
- [342] Korb DR, Herman JP, Greiner JV, Scaffidi RC, Finnemore VM, Exford JM, et al. Lid wiper epitheliopathy and dry eye symptoms. *Eye Contact Lens* 2005;31: 2–8.
- [343] Pult H, Riede-Pult BH, Murphy PJ. The relation between blinking and conjunctival folds and dry eye symptoms. *Optom Vis Sci* 2013;90:1034–9.
- [344] Korb DR, Greiner JV, Herman JP, Hebert E, Finnemore VM, Exford JM, et al. Lid-wiper epitheliopathy and dry-eye symptoms in contact lens wearers. *CLAO J* 2002;28:211–6.
- [345] Parsons JT, Bova FJ, Fitzgerald CR, Mendenhall WM, Million RR. Severe dry- eye syndrome following external beam irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994;30:775–80.
- [346] Shiraishi A, Yamaguchi M, Ohashi Y. Prevalence of upper- and lower-lid- wiper epitheliopathy in contact lens wearers and non-wearers. *Eye Contact Lens* 2014;40:220–4.
- [347] Shaw AJ, Collins MJ, Davis BA, Carney LG. Eyelid pressure and contact with the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:1911–7.
- [348] Bron AJ, Argueso P, Irkec M, Bright FV. Clinical staining of the ocular surface: mechanisms and interpretations. *Prog Retin Eye Res* 2015;44:36–61.
- [349] Tseng SC. Concept and application of limbal stem cells. *Eye (Lond)* 1989;3(Pt 2):141–57.
- [350] Bandamwar KL, Pappas EB, Garrett Q. Fluorescein staining and physiological state of corneal epithelial cells. *Cont Lens Anterior Eye* 2014;37:213–23.
- [351] Dundas M, Walker A, Woods RL. Clinical grading of corneal staining of non- contact lens wearers. *Ophthalmic Physiol Opt* 2001;21:30–5.
- [352] Norn MS. Vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1962;40:389–401.
- [353] Korb DR, Korb JM. Corneal staining prior to contact lens wearing. *J Am Optom Assoc* 1970;41:228–32.
- [354] Korb DR, Herman JP. Corneal staining subsequent to sequential fluorescein instillations. *J Am Optom Assoc* 1979;50:361–7.
- [355] Josephson JE, Caffery BE. Corneal staining after instillation of topical anes- thetic (SSII). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988;29:1096–9.
- [356] Caffery BE, Josephson JE. Corneal staining after sequential instillations of fluorescein over 30 days. *Optom Vis Sci* 1991;68:467–9.
- [357] Brautaset RL, Nilsson M, Leach N, Miller WL, Gire A, Quintero S, et al. Corneal and conjunctival epithelial staining in hydrogel contact lens wearers. *Eye Contact Lens* 2008;34:312–6.
- [358] Efron N. Response to re: putting vital stains in context. *Clin Exp Optom* 2013;96:511–2.
- [359] Lakkis C, Brennan NA. Bulbar conjunctival fluorescein staining in hydrogel contact lens wearers. *CLAO J* 1996;22:189–94.
- [360] Norn MS. Desiccation of the precorneal film. I. Corneal wetting-time. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1969;47:865–80.
- [361] Soni PS, Horner DG, Ross J. Ocular response to lens care systems in adoles- cent soft contact lens wearers. *Optom Vis Sci* 1996;73:70–85.
- [362] Schwallie JD, Long Jr WD, McKenney CD. Day to day variations in ocular surface staining of the bulbar conjunctiva. *Optom Vis Sci* 1998;75:55–61.
- [363] Mokhtarzadeh M, Casey R, Glasgow BJ. Fluorescein punctate staining traced to superficial corneal epithelial cells by impression cytology and confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:2127–35.
- [364] Morgan PB, Maldonado-Codina C. Corneal staining: do we really understand what we are seeing? *Cont Lens Anterior Eye* 2009;32:48–54.
- [365] Ward KW. Superficial punctate fluorescein staining of the ocular surface. *Optom Vis Sci* 2008;85:8–16.
- [366] Luensmann D, Moezzi A, Peterson RC, Woods C, Fonn D. Corneal staining and cell shedding during the development of solution-induced corneal staining. *Optom Vis Sci* 2012;89:868–74.
- [367] Zhou J, Begley CG, Wright A, Wilson G, Tokarski T. Characterization of cells collected from the normal human ocular surface by contact lens cytology. *Cornea* 2000;19:824–32.
- [368] Ren H, Wilson G. Apoptosis in the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:1017–25.
- [369] Estil S, Primo EJ, Wilson G. Apoptosis in shed human corneal cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3360–4.
- [370] Feenstra RP, Tseng SC. What is actually stained by rose bengal? *Arch Oph- thalmol* 1992;110:984–93.
- [371] Feenstra RP, Tseng SC. Comparison of fluorescein and rose bengal staining. *Ophthalmology* 1992;99:605–17.
- [372] Wilson G, Ren H, Laurent J. Corneal epithelial fluorescein staining. *J Am Optom Assoc* 1995;66:435–41.
- [373] Kikkawa Y. Normal corneal staining with fluorescein. *Exp Eye Res* 1972;14: 13–20.
- [374] Bandamwar KL, Garrett Q, Pappas EB. Mechanisms of superficial micro- punctate corneal staining with sodium fluorescein: the contribution of pooling. *Cont Lens*

- Anterior Eye 2012;35:81–4.
- [375] Shimazaki J, Goto E, Ono M, Shimmura S, Tsubota K. Meibomian gland dysfunction in patients with Sjogren syndrome. *Ophthalmology* 1998;105: 1485–8.
- [376] Shimazaki J, Sakata M, Tsubota K. Ocular surface changes and discomfort in patients with meibomian gland dysfunction. *Arch Ophthalmol* 1995;113: 1266–70.
- [377] Baudouin C. A new approach for better comprehension of diseases of the ocular surface. *J Fr Ophthalmol* 2007;30:239–46.
- [378] De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, Farley WJ, Li DQ, Stern ME, et al. Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Exp Eye Res* 2006;83:526–35.
- [379] Baudouin C. The pathology of dry eye. *Surv Ophthalmol* 2001;45(Suppl 2): S211–20.
- [380] Yeh S, Song XJ, Farley W, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC. Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:124–9.
- [381] Brignole F, Pisella PJ, Goldschild M, De Saint Jean M, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1356–63.
- [382] Kunert KS, Tisdale AS, Gipson IK. Goblet cell numbers and epithelial proliferation in the conjunctiva of patients with dry eye syndrome treated with cyclosporine. *Arch Ophthalmol* 2002;120:330–7.
- [383] Argueso P, Balaram M, Spurr-Michaud S, Keutmann HT, Dana MR, Gipson IK. Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjogren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:1004–11.
- [384] Zhao H, Jumblatt JE, Wood TO, Jumblatt MM. Quantification of MUC5AC protein in human tears. *Cornea* 2001;20:873–7.
- [385] Baudouin C, Messmer EM, Aragona J P, Geerling G, Akova YA, Benitez-Del-Castillo J, et al. Revisiting the vicious circle of dry eye disease: a focus on the pathophysiology of meibomian gland dysfunction. *Br J Ophthalmol* 2016;100:300–6.
- [386] Abrea K, Callan C, Kottaiyan R, Zhang A, Yoon G, Aquavella JV, et al. Temperatures of the Ocular Surface, Lid, and Periocular Regions of Sjogren's, Evaporative, and Aqueous-Deficient Dry Eyes Relative to Normals. *Ocul Surf* 2016;14:64–73.
- [387] De Paiva CS, Pflugfelder SC. Corneal epitheliopathy of dry eye induces hyperesthesia to mechanical air jet stimulation. *Am J Ophthalmol* 2004;137: 109–15.
- [388] Xu KP, Yagi Y, Toda I, Tsubota K. Tear function index. A new measure of dry eye. *Arch Ophthalmol* 1995;113:84–8.
- [389] Bourcier T, Acosta MC, Borderie V, Borrás F, Gallar J, Bury T, et al. Decreased corneal sensitivity in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2341–5.
- [390] Villani E, Magnani F, Viola F, Santaniello A, Scorza R, Nucci P, et al. In vivo confocal evaluation of the ocular surface morpho-functional unit in dry eye. *Optom Vis Sci* 2013;90:576–86.
- [391] Begley C, Simpson T, Liu H, Salvo E, Wu Z, Bradley A, et al. Quantitative analysis of tear film fluorescence and discomfort during tear film instability and thinning. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:2645–53.
- [392] Vehof J, Sillevius Smitt-Kamminga N, Kozareva D, Nibourg SA, Hammond CJ. Clinical Characteristics of Dry Eye Patients With Chronic Pain Syndromes. *Am J Ophthalmol* 2016;162:59 e2–65 e2.
- [393] Pflugfelder SC, Maskin SL, Anderson B, Chodosh J, Holland EJ, De Paiva CS, et al. A randomized, double-masked, placebo-controlled, multicenter comparison of loteprednol etabonate ophthalmic suspension, 0.5%, and placebo for treatment of keratoconjunctivitis sicca in patients with delayed tear clearance. *Am J Ophthalmol* 2004;138:444–57.
- [394] Hirata H, Rosenblatt MI. Hyperosmolar tears enhance cooling sensitivity of the corneal nerves in rats: possible neural basis for cold-induced dry eye pain. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:5821–33.
- [395] Madrid R, de la Peña E, Donovan-Rodriguez T, Belmonte C, Viana F. Variable threshold of trigeminal cold-thermosensitive neurons is determined by a balance between TRPM8 and Kv1 potassium channels. *J Neurosci* 2009;29: 3120–31.
- [396] Chen L, Li J, Guo T, Ghosh S, Koh SK, Tian D, et al. Global Metabonomic and Proteomic Analysis of Human Conjunctival Epithelial Cells (IOBA-NHC) in Response to Hyperosmotic Stress. *J Proteom Res* 2015;14:3982–95.
- [397] Tabery HM. Dual appearance of fluorescein staining in vivo of diseased human corneal epithelium. A non-contact photomicrographic study. *Br J Ophthalmol* 1992;76:43–4.
- [398] Tabery HM. Micropunctate fluorescein staining of the human corneal surface: microerosions or cystic spaces? A non-contact photomicrographic in vivo study. *Acta Ophthalmol Scand* 1997;75:134–6.
- [399] Watanabe H, Fabricant M, Tisdale AS, Spurr-Michaud SJ, Lindberg K, Gipson IK. Human corneal and conjunctival epithelia produce a mucin-like glycoprotein for the apical surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36: 337–44.
- [400] Danjo Y, Watanabe H, Tisdale AS, George M, Tsumura T, Abelson MB, et al. Alteration of mucin in human conjunctival epithelia in dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:2602–9.
- [401] Pflugfelder SC, Tseng SC, Yoshino K, Monroy D, Felix C, Reis BL. Correlation of goblet cell density and mucosal epithelial membrane mucin expression with rose bengal staining in patients with ocular irritation. *Ophthalmology* 1997;104:223–35.
- [402] Glasgow BJ, Gasyimov OK, Casey RC. Exfoliative epitheliopathy of bullous keratopathy with breaches in the MUC16 Glycocalyx. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:4060–4.
- [403] Komuro A, Yokoi N, Fukuoka H, Kinoshita S. Evaluation of Galectin-3 expression in rose bengal-stained conjunctival epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:3994.
- [404] Williams KK, Watsky MA. Bicarbonate promotes dye coupling in the epithelium and endothelium of the rabbit cornea. *Curr Eye Res* 2004;28: 109–20.
- [405] McMonnies CW. An examination of the relationship between ocular surface tear osmolarity compartments and epitheliopathy. *Ocul Surf* 2015;13: 110–7.
- [406] Abelson MB, Holly FJ. A tentative mechanism for inferior punctate keratopathy. *Am J Ophthalmol* 1977;83:866–9.
- [407] Collin SP, Collin HB. The corneal epithelial surface in the eyes of vertebrates: environmental and evolutionary influences on structure and function. *J Morphol* 2006;267:273–91.
- [408] Cruz AA, Garcia DM, Pinto CT, Cechetti SP. Spontaneous eyeblink activity. *Ocul Surf* 2011;9:29–41.
- [409] Himebaugh NL, Begley CG, Bradley A, Wilkinson JA. Blinking and tear break-up during four visual tasks. *Optom Vis Sci* 2009;86:E106–14.
- [410] Ousler 3rd GW, Abelson MB, Johnston PR, Rodriguez J, Lane K, Smith LM. Blink patterns and lid-contact times in dry-eye and normal subjects. *Clin Ophthalmol* 2014;8:869–74.
- [411] Zubkov VS, Breward CJ, Gaffney EA. Meniscal tear film fluid dynamics near Marx's line. *Bull Math Biol* 2013;75:1524–43.
- [412] Chen AL, Riley DE, King SA, Joshi AC, Serra A, Liao K, et al. The disturbance of gaze in progressive supranuclear palsy: implications for pathogenesis. *Front Neurol* 2010;1:147.
- [413] Richardson C, Smith T, Schaefer A, Turnbull D, Griffiths P. Ocular motility findings in chronic progressive external ophthalmoplegia. *Eye (Lond)* 2005;19:258–63.
- [414] Fells P. Management of dysthyroid eye disease. *Br J Ophthalmol* 1991;75: 245–6.
- [415] Tanioka H, Yokoi N, Komuro A, Shimamoto T, Kawasaki S, Matsuda A, et al. Investigation of the corneal filament in filamentary keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:3696–702.
- [416] Hamilton W, Wood TO. Filamentary keratitis. *Am J Ophthalmol* 1982;93: 466–9.
- [417] Theodore FH. Superior limbic keratoconjunctivitis. *Eye Ear Nose Throat Mon* 1963;42:25–8.
- [418] Nelson JD. Superior limbic keratoconjunctivitis (SLK). *Eye (Lond)* 1989;3(Pt 2):180–9.
- [419] Tenzel RR. Comments on superior limbic filamentous keratitis: II. *Arch Ophthalmol* 1968;79:508.
- [420] Yokoi N. Tear dynamics and dry eye. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2004;108: 275–6.
- [421] Yokoi N, Inatomi T, Kinoshita S. Surgery of the conjunctiva. *Dev Ophthalmol* 2008;41:138–58.
- [422] Yokoi N, Komuro A, Maruyama K, Tsuzuki M, Miyajima S, Kinoshita S. New surgical treatment for superior limbic keratoconjunctivitis and its association with conjunctivochalasis. *Am J Ophthalmol* 2003;135:303–8.
- [423] Stephens DN, McNamara NA. Altered Mucin and Glycoprotein Expression in Dry Eye Disease. *Optom Vis Sci* 2015;92:931–8.
- [424] Watanabe H, Maeda N, Kiritoshi A, Hamano T, Shimomura Y, Tano Y. Expression of a mucin-like glycoprotein produced by ocular surface epithelium in normal and keratinized cells. *Am J Ophthalmol* 1997;124: 751–7.
- [425] Shimazaki-Den S, Dogru M, Higa K, Shimazaki J. Symptoms, visual function, and mucin expression of eyes with tear film instability. *Cornea* 2013;32: 1211–8.
- [426] Jones DT, Monroy D, Ji Z, Pflugfelder SC. Alterations of ocular surface gene expression in Sjogren's syndrome. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:533–6.
- [427] Corrales RM, de Paiva CS, Li DQ, Farley WJ, Henriksson JT, Bergmanson JP, et al. Entrapment of conjunctival goblet cells by desiccation-induced cornification. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:3492–9.
- [428] Hayashi Y, Kao WW, Kohno N, Nishihara-Hayashi M, Shiraishi A, Uno T, et al. Expression patterns of sialylated epitope recognized by KL-6 monoclonal antibody in ocular surface epithelium of normals and dry eye patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:2212–7.
- [429] Caffery B, Joyce E, Heynen ML, Jones L, Ritter 3rd R, Gamache DA, et al. MUC16 expression in Sjogren's syndrome, KCS, and control subjects. *Mol Vis* 2008;14:2547–55.
- [430] Gipson IK, Spurr-Michaud SJ, Senchyna M, Ritter 3rd R, Schaumberg D. Comparison of mucin levels at the ocular surface of postmenopausal women with and without a history of dry eye. *Cornea* 2011;30:1346–52.

- [431] Srinivasan S, Heynen ML, Martell E, Ritter 3rd R, Jones L, Senchyna M. Quantification of MUCIN 1, cell surface associated and MUCIN16, cell surface associated proteins in tears and conjunctival epithelial cells collected from postmenopausal women. *Mol Vis* 2013;19:970–9.
- [432] Garcher C, Bron A, Baudouin C, Bildstein L, Bara JCA. 19-9 ELISA test: a new method for studying mucus changes in tears. *Br J Ophthalmol* 1998;82: 88–90.
- [433] Argueso P, Tisdale A, Mandel U, Letko E, Foster CS, Gipson IK. The cell-layer-and cell-type-specific distribution of GalNAc-transferases in the ocular surface epithelia is altered during keratinization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:86–92.
- [434] Ralph RA. Conjunctival goblet cell density in normal subjects and in dry eye syndromes. *Invest Ophthalmol* 1975;14:299–302.
- [435] Kinoshita S, Kiorpes TC, Friend J, Thoft RA. Goblet cell density in ocular surface disease. A better indicator than tear mucin. *Arch Ophthalmol* 1983;101:1284–7.
- [436] Nelson JD, Wright JC. Conjunctival goblet cell densities in ocular surface disease. *Arch Ophthalmol* 1984;102:1049–51.
- [437] Blodi BA, Byrne KA, Tabbara KF. Goblet cell population among patients with inactive trachoma. *Int Ophthalmol* 1988;12:41–5.
- [438] Albietz J, Sanfilippo P, Troutbeck R, Lenton LM. Management of filamentary keratitis associated with aqueous-deficient dry eye. *Optom Vis Sci* 2003;80: 420–30.
- [439] Murube J, Rivas L. Impression cytology on conjunctiva and cornea in dry eye patients establishes a correlation between squamous metaplasia and dry eye clinical severity. *Eur J Ophthalmol* 2003;13:115–27.
- [440] Zhang BG, Du T, Zang MD, Chang Q, Fan ZY, Li JF, et al. Androgen receptor promotes gastric cancer cell migration and invasion via AKT-phosphorylation dependent upregulation of matrix metalloproteinase 9. *Oncotarget* 2014;5:10584–95.
- [441] Pflugfelder SC, Stern ME. Mucosal environmental sensors in the pathogenesis of dry eye. *Expert Rev Clin Immunol* 2014;10:1137–40.
- [442] Uchino M, Uchino Y, Dogru M, Kawashima M, Yokoi N, Komuro A, et al. Dry eye disease and work productivity loss in visual display users: the Osaka study. *Am J Ophthalmol* 2014;157:294–300.
- [443] Versura P, Maltarello MC, Cellini M, Caramazza R, Laschi R. Detection of mucus glycoconjugates in human conjunctiva by using the lectin-colloidal gold technique in TEM. II. A quantitative study in dry-eye patients. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1986;64:451–5.
- [444] Tapasztó B, Veres A, Kosina-Hagyó K, Somfai GM, Nemeth J. OCT Imaging of lid-parallel conjunctival folds in soft contact lens wearers. *Optom Vis Sci* 2011;88:1206–13.
- [445] Nemeth J, Fodor E, Lang Z, Kosina-Hagyó K, Berta A, Komar T, et al. Lid-parallel conjunctival folds (LIPCOF) and dry eye: a multicentre study. *Br J Ophthalmol* 2012;96:1380–5.
- [446] Meller D, Tseng SC. Conjunctivochalasis: literature review and possible pathophysiology. *Surv Ophthalmol* 1998;43:225–32.
- [447] Watanabe A, Yokoi N, Kinoshita S, Hino Y, Tsuchihashi Y. Clinicopathologic study of conjunctivochalasis. *Cornea* 2004;23:294–8.
- [448] Murube J. Characteristics and etiology of conjunctivochalasis: historical perspective. *Ocul Surf* 2005;3:7–14.
- [449] Pult H, Riede-Pult BH. Impact of conjunctival folds on central tear meniscus height. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:1459–66.
- [450] Norn M. Meibomian orifices and Marx's line. Studied by triple vital staining. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1985;63:698–700.
- [451] Bron AJ, Yokoi N, Gaffney EA, Tiffany JM. A solute gradient in the tear meniscus. II. Implications for lid margin disease, including meibomian gland dysfunction. *Ocul Surf* 2011;9:92–7.
- [452] Korb DR, Blackie CA. Debridement-scaling: a new procedure that increases Meibomian gland function and reduces dry eye symptoms. *Cornea* 2013;32: 1554–7.
- [453] Li S, Gallup M, Chen YT, McNamara NA. Molecular mechanism of proinflammatory cytokine-mediated squamous metaplasia in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:2466–75.
- [454] Yamaguchi M, Kutsuna M, Uno T, Zheng X, Kodama T, Ohashi Y. Marx line: fluorescein staining line on the inner lid as indicator of meibomian gland function. *Am J Ophthalmol* 2006;141:669–75.
- [455] Rottach KG, Das VE, Wohlgemuth W, Zivotofsky AZ, Leigh RJ. Properties of horizontal saccades accompanied by blinks. *J Neurophysiol* 1998;79: 2895–902.
- [456] de Paiva CS, Chotikavanich S, Pangelinan SB, Pitcher III JD, Fang B, Zheng X, et al. IL-17 disrupts corneal barrier following desiccating stress. *Mucosal Immunol* 2009;2:243–53.
- [457] Streilein JW. Ocular immune privilege: the eye takes a dim but practical view of immunity and inflammation. *J Leukoc Biol* 2003;74:179–85.
- [458] Lam H, Bleiden L, de Paiva CS, Farley W, Stern ME, Pflugfelder SC. Tear cytokine profiles in dysfunctional tear syndrome. *Am J Ophthalmol* 2009;147:198–205. e191.
- [459] Jensen OL, Gluud BS, Birgens HS. The concentration of lactoferrin in tears of normals and of diabetics. *Acta Ophthalmol(Copenh)* 1986;64:83–7.
- [460] Vinding T, Eriksen JS, Nielsen NV. The concentration of lysozyme and secretory IgA in tears from healthy persons with and without contact lens use. *Acta Ophthalmol(Copenh)* 1987;65:23–6.
- [461] Zhou L, Huang LQ, Beuerman RW, Grigg ME, Li SF, Chew FT, et al. Proteomic analysis of human tears: defensin expression after ocular surface surgery. *J Proteom Res* 2004;3:410–6.
- [462] Ueta M. Innate immunity of the ocular surface and ocular surface inflammatory disorders. *Cornea* 2008;27(Suppl 1):S31–40.
- [463] Simmons KT, Xiao Y, Pflugfelder SC, de Paiva CS. Inflammatory Response to Lipopolysaccharide on the Ocular Surface in a Murine Dry Eye Model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:2443–51.
- [464] Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990;346: 425–34.
- [465] Narayanan S, Corrales RM, Farley W, McDermott AM, Pflugfelder SC. Interleukin-1 receptor-1-deficient mice show attenuated production of ocular surface inflammatory cytokines in experimental dry eye. *Cornea* 2008;27: 811–7.
- [466] Yoon KC, Jeong IY, Park YG, Yang SY. Interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$  levels in tears of patients with dry eye syndrome. *Cornea* 2007;26: 431–7.
- [467] Yoon KC, Park CS, You IC, Choi HJ, Lee KH, Im SK, et al. Expression of CXCL9, -10, -11, and CXCR3 in the tear film and ocular surface of patients with dry eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:643–50.
- [468] Choi W, Li Z, Oh HJ, Im SK, Lee SH, Park SH, et al. Expression of CCR5 and its ligands CCL3, -4, and -5 in the tear film and ocular surface of patients with dry eye disease. *Curr Eye Res* 2012;37:12–7.
- [469] Carreno E, Enriquez-de-Salamanca A, Teson M, Garcia-Vazquez C, Stern ME, Whitcup SM, et al. Cytokine and chemokine levels in tears from healthy subjects. *Acta Ophthalmol* 2010;88:e250–258.
- [470] Zlotnick A, Mitchell RS, Brenner SL. recA protein filaments bind two molecules of single-stranded DNA with off rates regulated by nucleotide cofactor. *J Biol Chem* 1990;265:17050–4.
- [471] Pisella PJ, Brignole F, Debbasch C, Lozato PA, Creuzot-Garcher C, Bara J, et al. Flow cytometric analysis of conjunctival epithelium in ocular rosacea and keratoconjunctivitis sicca. *Ophthalmology* 2000;107:1841–9.
- [472] Perez VL, Pflugfelder SC, Zhang S, Shojaei A, Haque R. Lifitegrast, a novel integrin antagonist for treatment of dry eye disease. *Ocul Surf* 2016;14: 207–15.
- [473] <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm510720.htm>.
- [474] Gao Y, Min K, Zhang Y, Su J, Greenwood M, Gronert K. Female-specific downregulation of tissue polymorphonuclear neutrophils drives impaired regulatory T cell and amplified effector T cell responses in autoimmune dry eye disease. *J Immunol* 2015;195:3086–99.
- [475] Coursey TG, Bohat R, Barbosa FL, Pflugfelder SC, de Paiva CS. Desiccating stress-induced chemokine expression in the epithelium is dependent on upregulation of NKG2D/RAE-1 and release of IFN- $\gamma$  in experimental dry eye. *J Immunol* 2014;193:5264–72.
- [476] Zhang X, Volpe EA, Gandhi NB, Schaumburg CS, Siemasko KF, Pangelinan SB, et al. NK cells promote Th-17 mediated corneal barrier disruption in dry eye. *PLoS One* 2012;7. e36822.
- [477] Chen Q, Zhang X, Cui L, Huang Q, Chen W, Ma H, et al. Upper and lower tear menisci in Sjogren's syndrome dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52: 9373–8.
- [478] De Paiva CS, Villarreal AL, Corrales RM, Rahman MT, Chang VY, Farley WJ, et al. Dry eye-induced conjunctival epithelial squamous metaplasia is modulated by interferon- $\gamma$ . *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48: 2553–60.
- [479] Schaumburg CS, Siemasko KF, De Paiva CS, Wheeler LA, Niederkorn JY, Pflugfelder SC, et al. Ocular surface APCs are necessary for autoreactive T cell-mediated experimental autoimmune lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol* 2011;187:3653–62.
- [480] You IC, Coursey TG, Bian F, Barbosa FL, de Paiva CS, Pflugfelder SC. Macrophage phenotype in the ocular surface of experimental murine dry eye disease. *Arch Immunol Ther Exp Warsz* 2015;63:299–304.
- [481] Bialasiewicz AA, Schaudig U, Ma JX, Vieth S, Richard G. Alpha/beta- and gamma/delta-T-cell-receptor-positive lymphocytes in healthy and inflamed human conjunctiva. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996;234:467–71.
- [482] Stern ME, Schaumburg CS, Siemasko KF, Gao J, Wheeler LA, Grupe DA, et al. Autoantibodies contribute to the immunopathogenesis of experimental dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:2062–75.
- [483] Kunert KS, Tisdale AS, Stern ME, Smith JA, Gipson IK. Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Arch Ophthalmol* 2000;118:1489–96.
- [484] Bacman S, Berra A, Sterin-Borda L, Borda E. Muscarinic acetylcholine receptor antibodies as a new marker of dry eye Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*

- 2001;42:321–7.
- [485] Takada K, Takiguchi M, Konno A, Inaba M. Autoimmunity against a tissue kallikrein in IQI/Jic Mice: a model for Sjogren's syndrome. *J Biol Chem* 2005;280:3982–8.
- [486] Jiang G, Ke Y, Sun D, Li H, Ihnen M, Jumbblatt MM, et al. A new model of experimental autoimmune keratoconjunctivitis sicca (KCS) induced in Lewis rat by the autoantigen K1k1b22. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50: 2245–54.
- [487] Niederkorn JY, Stern ME, Pflugfelder SC, De Paiva CS, Corrales RM, Gao J, et al. Desiccating stress induces T cell-mediated Sjogren's Syndrome-like lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol* 2006;176:3950–7.
- [488] Stern ME, Gao J, Schwab TA, Ngo M, Tieu DD, Chan CC, et al. Conjunctival T-cell subpopulations in Sjogren's and non-Sjogren's patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:2609–14.
- [489] Herretes S, Ross DB, Duffort S, Barreras H, Tan Y, Murillo JC, et al. Recruitment of Donor T Cells to the Eyes during Ocular GVHD in Recipients of MHC- Matched Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplants. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 56, 2015, 2348–2357.
- [490] Siebelmann S, Gehlsen U, Huttman G, Koop N, Bolke T, Gebert A, et al. Development, alteration and real time dynamics of conjunctiva-associated lymphoid tissue. *PLoS One* 2013;8. e82355.
- [491] Knop E, Knop N. Influence of the eye-associated lymphoid tissue (EALT) on inflammatory ocular surface disease. *Ocul Surf* 2005;3:5180–6.
- [492] Steven P, Rupp J, Huttman G, Koop N, Lensing C, Laqua H, et al. Experimental induction and three-dimensional two-photon imaging of conjunctiva-associated lymphoid tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:1512–7.
- [493] Steven P, Gebert A. Conjunctiva-associated lymphoid tissue - current knowledge, animal models and experimental prospects. *Ophthalmic Res* 2009;42:2–8.
- [494] Gutgesell VJ, Stern GA, Hood CI. Histopathology of meibomian gland dysfunction. *Am J Ophthalmol* 1982;94:383–7.
- [495] Obata H, Horiuchi H, Miyata K, Tsuru T, Machinami R. Histopathological study of the meibomian glands in 72 autopsy cases. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1994;98:765–71.
- [496] Sahin A, Kam WR, Rahimi Darabad R, Liu Y, Sullivan DA. Influence of lipopolysaccharide on proinflammatory gene expression in human corneal, conjunctival and meibomian gland epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017. ARVO abstract #3946.
- [497] Meyaard L. The inhibitory collagen receptor LAIR-1 (CD305). *J Leukoc Biol* 2008;83:799–803.
- [498] Omiya R, Tsushima F, Narazaki H, Sakoda Y, Kuramasu A, Kim Y, et al. Leucocyte-associated immunoglobulin-like receptor-1 is an inhibitory regulator of contact hypersensitivity. *Immunology* 2009;128:543–55.
- [499] Qu XD, Lehrer RI. Secretory phospholipase A2 is the principal bactericide for staphylococci and other gram-positive bacteria in human tears. *Infect Immun* 1998;66:2791–7.
- [500] Hieshima K, Ohtani H, Shibano M, Izawa D, Nakayama T, Kawasaki Y, et al. CCL28 has dual roles in mucosal immunity as a chemokine with broad-spectrum antimicrobial activity. *J Immunol* 2003;170:1452–61.
- [501] Davis RSK, Sullivan DA, Liu Y. Inhibitory effect of human meibomian gland epithelial cells on the growth rate of *Pseudomonas aeruginosa*. (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016. ARVO Abstract #5705.
- [502] Perera C, McNeil HP, Geczy CL. S100 Calgranulins in inflammatory arthritis. *Immunol Cell Biol* 2010;88:41–9.
- [503] Hsu K, Champai boon C, Guenther BD, Sorenson BS, Khammanivong A, Ross KF, et al. Anti-infective protective properties of S100 calgranulins. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem* 2009;8:290–305.
- [504] Champai boon C, Sappington KJ, Guenther BD, Ross KF, Herzberg MC. Calprotectin S100A9 calcium-binding loops I and II are essential for keratinocyte resistance to bacterial invasion. *J Biol Chem* 2009;284:7078–90.
- [505] Liu S, Richards SM, Lo K, Hattori M, Fay A, Sullivan DA. Changes in gene expression in human meibomian gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:2727–40.
- [506] Nelson JD, Shimazaki J, Benitez-del-Castillo JM, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the definition and classification subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1930–7.
- [507] Schrader S, Mircheff AK, Geerling G. Animal models of dry eye. In: Geerling G, Brewitt H, editors. *Surgery for the Dry eye*. Freiburg: Karger; 2008. p. 298–312.
- [508] Dursun D, Wang M, Monroy D, Li DQ, Lokeshwar BL, Stern ME, et al. A mouse model of keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43: 632–8.
- [509] Barabino S, Shen L, Chen L, Rashid S, Rolando M, Dana MR. The controlled-environment chamber: a new mouse model of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2766–71.
- [510] Chen W, Zhang X, Zhang J, Chen J, Wang S, Wang Q, et al. A murine model of dry eye induced by an intelligently controlled environmental system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:1386–91.
- [511] Lee HS, Chauhan SK, Okanobo A, Nallasamy N, Dana R. Therapeutic efficacy of topical epigallocatechin gallate in murine dry eye. *Cornea* 2011;30:1465–72.
- [512] Goyal S, Chauhan SK, Dana R. Blockade of prolymphangiogenic vascular endothelial growth factor C in dry eye disease. *Arch Ophthalmol* 2012;130: 84–9.
- [513] Sadrai Z, Stevenson W, Okanobo A, Chen Y, Dohlman TH, Hua J, et al. PDE4 inhibition suppresses IL-17-associated immunity in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:3584–91.
- [514] de Paiva CS, Schwartz CE, Gjørstrup P, Pflugfelder SC. Resolvin E1 (RX-10001) reduces corneal epithelial barrier disruption and protects against goblet cell loss in a murine model of dry eye. *Cornea* 2012;31:1299–303.
- [515] Krauss AH, Corrales RM, Pellegrino FS, Tukler-Henriksson J, Pflugfelder SC, de Paiva CS. Improvement of Outcome Measures of Dry Eye by a Novel Integrin Antagonist in the Murine Desiccating Stress Model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:5888–95.
- [516] De Paiva CS, Yoon KC, Pangelinan SB, Pham S, Puthenparambil LM, Chuang EY, et al. Cleavage of functional IL-2 receptor alpha chain (CD25) from murine corneal and conjunctival epithelia by MMP-9. *J Inflamm (Lond)* 2009;6:31.
- [517] Corrales RM, Stern ME, De Paiva CS, Welch J, Li DQ, Pflugfelder SC. Desiccating stress stimulates expression of matrix metalloproteinases by the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3293–302.
- [518] Coursey TG, Tukler Henriksson J, Chen M, de Paiva CS, Pflugfelder SC. IFN- $\gamma$  induced unfolded Protein Response in Conjunctival Goblet Cells as Cause of Mucin Deficiency in Sjögren's Syndrome. *Am J Pathol* 2016;186:1547–58.
- [519] Pflugfelder SC, Farley W, Luo L, Chen LZ, de Paiva CS, Olmos LC, et al. Matrix metalloproteinase-9 knockout confers resistance to corneal epithelial barrier disruption in experimental dry eye. *Am J Pathol* 2005;166:61–71.
- [520] de Paiva CS, Pangelinan SB, Chang E, Yoon KC, Farley WJ, Li DQ, et al. Essential role for c-Jun N-terminal kinase 2 in corneal epithelial response to desiccating stress. *Arch Ophthalmol* 2009;127:1625–31.
- [521] Stevenson W, Chauhan SK, Dana R. Dry eye disease: an immune-mediated ocular surface disorder. *Arch Ophthalmol* 2012;130:90–100.
- [522] Chen Y, Chauhan SK, Saban DR, Sadrai Z, Okanobo A, Dana R. Interferon-gamma-secreting NK cells promote induction of dry eye disease. *J Leukoc Biol* 2011;89:965–72.
- [523] Chauhan SK, Jin Y, Goyal S, Lee HS, Fuchsluger TA, Lee HK, et al. A novel prolymphangiogenic function for Th17/IL-17. *Blood* 2011;118:4630–4.
- [524] Goyal S, Chauhan SK, El Annan J, Nallasamy N, Zhang Q, Dana R. Evidence of corneal lymphangiogenesis in dry eye disease: a potential link to adaptive immunity? *Arch Ophthalmol* 2010;128:819–24.
- [525] El Annan J, Chauhan SK, Ecoiffier T, Zhang Q, Saban DR, Dana R. Characterization of effector T cells in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:3802–7.
- [526] Chauhan SK, Dana R. Role of Th17 cells in the immunopathogenesis of dry eye disease. *Mucosal Immunol* 2009;2:375–6.
- [527] Coursey TG, Gandhi NB, Volpe EA, Pflugfelder SC, de Paiva CS. Chemokine receptors CCR6 and CXCR3 are necessary for CD4(+) T cell mediated ocular surface disease in experimental dry eye disease. *PLoS One* 2013;8. e78508.
- [528] Dohlman TH, Chauhan SK, Kodati S, Hua J, Chen Y, Omoto M, et al. The CCR6/ CCL20 axis mediates Th17 cell migration to the ocular surface in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:4081–91.
- [529] Chauhan SK, El AJ, Ecoiffier T, Goyal S, Zhang Q, Saban DR, et al. Autoimmunity in dry eye is due to resistance of Th17 to Treg suppression. *J Immunol* 2009;182:1247–52.
- [530] Zhang X, Chen W, De Paiva CS, Corrales RM, Volpe EA, McClellan AJ, et al. Interferon-gamma exacerbates dry eye-induced apoptosis in conjunctiva through dual apoptotic pathways. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52: 6279–85.
- [531] Yoon KC, De Paiva CS, Qi H, Chen Z, Farley WJ, Li DQ, et al. Expression of Th-1 chemokines and chemokine receptors on the ocular surface of C57BL/6 mice: effects of desiccating stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:2561–9.
- [532] Pflugfelder SC, De Paiva CS, Moore QL, Volpe EA, Li DQ, Gumus K, et al. Aqueous tear deficiency increases conjunctival interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) expression and goblet cell loss. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56: 7545–50.
- [533] Niederkorn JY, Stevens C, Mellon J, Mayhew E. CD4+ T-cell-independent rejection of corneal allografts. *Transplantation* 2006;81:1171–8.
- [534] Rodriguez-Pinto D, Moreno J. B cells can prime naive CD4+ T cells in vivo in the absence of other professional antigen-presenting cells in a CD154-CD40- dependent manner. *Eur J Immunol* 2005;35:1097–105.
- [535] Dursun D, Wang M, Monroy D, Li DQ, Lokeshwar BL, Stern M, et al. Experimentally induced dry eye produces ocular surface inflammation and epithelial disease. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:647–55.
- [536] Pellegrino FS, Volpe EA, Gandhi NB, Li DQ, Pflugfelder SC, de Paiva CS. Deletion of

- interferon-gamma delays onset and severity of dacryoadenitis in CD25KO mice. *Arthritis Res Ther* 2012;14: R234.
- [537] Chen Y, Chauhan SK, Lee HS, Stevenson W, Schaumburg CS, Sadrai Z, et al. Effect of desiccating environmental stress versus systemic muscarinic AChR blockade on dry eye immunopathogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:2457–64.
- [538] Gallowitsch-Puerta M, Pavlov VA. Neuro-immune interactions via the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Life Sci* 2007;80:2325–9.
- [539] Mitchelson F. Muscarinic receptor agonists and antagonists: effects on ocular function. *Handb Exp Pharmacol* 2012;263:98.
- [540] Toshida H, Beuerman RW. Effects of preganglionic parasympathetic denervation on the rabbit lacrimation. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt A):225–9.
- [541] Chen Y, Zhang X, Yang L, Li M, Li B, Wang W, et al. Decreased PPAR-gamma expression in the conjunctiva and increased expression of TNF-alpha and IL-1beta in the conjunctiva and tear fluid of dry eye mice. *Mol Med Rep* 2014;9: 2015–23.
- [542] Chen Y, Chauhan SK, Lee HS, Saban DR, Dana R. Chronic dry eye disease is principally mediated by effector memory Th17 cells. *Mucosal Immunol* 2014;7:38–45.
- [543] Choi W, Lian C, Ying L, Kim GE, You IC, Park SH, et al. Expression of Lipid Peroxidation Markers in the Tear Film and Ocular Surface of Patients with Non-Sjogren Syndrome: Potential Biomarkers for Dry Eye Disease. *Curr Eye Res* 2016;1–7.
- [544] Blackie CA, Korb DR. A novel lid seal evaluation: the Korb-Blackie light test. *Eye Contact Lens* 2015;41:98–100.
- [545] McClellan AJ, Volpe EA, Zhang X, Darlington GJ, Li DQ, Pflugfelder SC, et al. Ocular surface disease and dacryoadenitis in aging C57BL/6 mice. *Am J Pathol* 2014;184:631–43.
- [546] Seok J, Warren HS, Cuenca AG, Mindrinos MN, Baker HV, Xu W, et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:3507–12.
- [547] Shoda LK, Young DL, Ramanujan S, Whiting CC, Atkinson MA, Bluestone JA, et al. A comprehensive review of interventions in the NOD mouse and implications for translation. *Immunity* 2005;23:115–26.
- [548] Takao K, Miyakawa T. Genomic responses in mouse models greatly mimic human inflammatory diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112:1167–72.
- [549] Chao W, Belmonte C, Benitez Del Castillo JM, Bron AJ, Dua HS, Nichols KK, et al. Report of the Inaugural Meeting of the TFOS  $i^2$  = initiating innovation Series: Targeting the Unmet Need for Dry Eye Treatment. *Ocul Surf* 2016;14: 264–316.
- [550] Sosne G, Kim C, Kleinman HK. Thymosin beta4 significantly reduces the signs of dryness in a murine controlled adverse environment model of experimental dry eye. *Expert Opin Biol Ther* 2015;15(Suppl 1):S155–61.
- [551] Lekhanont K, Park CY, Smith JA, Combs JC, Preechawat P, Suwan-Apichon O, et al. Effects of topical anti-inflammatory agents in a botulinum toxin B- induced mouse model of keratoconjunctivitis sicca. *J Ocul Pharmacol Ther* 2007 Feb;23(1):27–34.
- [552] Shay T, Lederer JA, Benoist C. Genomic responses to inflammation in mouse models mimic humans: we concur, apples to oranges comparisons won't do. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112: E346.
- [553] Ariga H, Edwards J, Sullivan DA. Androgen control of autoimmune expression in lacrimal glands of MRL/Mp-lpr/lpr mice. *Clin Immunol Immunopathol* 1989;53:499–508.
- [554] Vendramini AC, Soo C, Sullivan DA. Testosterone-induced suppression of autoimmune disease in lacrimal tissue of a mouse model (NZB/NZW F1) of Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:3002–6.
- [555] Toda I, Wickham LA, Sullivan DA. Gender and androgen treatment influence the expression of proto-oncogenes and apoptotic factors in lacrimal and salivary tissues of MRL/lpr mice. *Clin Immunol Immunopathol* 1998;86: 59–71.
- [556] Toda I, Sullivan BD, Rocha EM, Da Silveira LA, Wickham LA, Sullivan DA. Impact of gender on exocrine gland inflammation in mouse models of Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res* 1999;69:355–66.
- [557] Schaumberg DA, Dana R, Buring JE, Sullivan DA. Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the Physicians' Health Studies. *Arch Ophthalmol* 2009;127:763–8.
- [558] Galor A, Feuer W, Lee DJ, Florez H, Carter D, Pouyeh B, et al. Prevalence and risk factors of dry eye syndrome in a United States veterans affairs population. *Am J Ophthalmol* 2011;152:377 e2–84 e2.
- [559] Guillon M, Maissa C. Tear film evaporation-effect of age and gender. *Cont Lens Anterior Eye* 2010;33:171–5.
- [560] Guo B, Lu P, Chen X, Zhang W, Chen R. Prevalence of dry eye disease in Mongolians at high altitude in China: the Henan eye study. *Ophthalmic Epidemiol* 2010;17:234–41.
- [561] Gupta N, Prasad I, Jain R, D'Souza P. Estimating the prevalence of dry eye among Indian patients attending a tertiary ophthalmology clinic. *Ann Trop Med Parasitol* 2010;104:247–55.
- [562] Bian F, Barbosa FL, Corrales RM, Pellegrino FS, Volpe EA, Pflugfelder SC, et al. Altered balance of interleukin-13/interferon-gamma contributes to lacrimal gland destruction and secretory dysfunction in CD25 knockout model of Sjogren's syndrome. *Arthritis Res Ther* 2015;17:53.
- [563] Turpie B, Yoshimura T, Gulati A, Rios JD, Dartt DA, Masli S. Sjogren's syndrome-like ocular surface disease in thrombospondin-1 deficient mice. *Am J Pathol* 2009;175:1136–47.
- [564] Coursey TG, Bian F, Pflugfelder SC, De Paiva CS. Spontaneous lacrimal keratoconjunctivitis in aged NOD.B10.H2b mice is accompanied by dysfunctional T regulatory cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:334.
- [565] Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, Baer A, Challacombe S, Lanfranchi H, et al. American College of Rheumatology classification criteria for Sjogren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjogren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. *Arthritis Care Res Hob* 2012;64:475–87.
- [566] Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol* 2003;136:318–26.
- [567] Uchino M, Dogru M, Uchino Y, Fukagawa K, Shimmura S, Takebayashi T, et al. Japan Ministry of Health study on prevalence of dry eye disease among Japanese high school students. *Am J Ophthalmol* 2008;146:925 e2–9 e2.
- [568] Hunger RE, Carnaud C, Vogt I, Mueller C. Male gonadal environment paradoxically promotes dacryoadenitis in nonobese diabetic mice. *J Clin Invest* 1998;101:1300–9.
- [569] Toda I, Sullivan BD, Wickham LA, Sullivan DA. Gender- and androgen-related influence on the expression of proto-oncogene and apoptotic factor mRNAs in lacrimal glands of autoimmune and non-autoimmune mice. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999;71:49–61.
- [570] Darabad RR, Richards SM, Sullivan DA. Sex and androgen effects on gene expression in autoimmune lacrimal glands. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010. ARVO abstract #4177.
- [571] Brito-Zeron P, Theander E, Baldini C, Seror R, Retamozo S, Quartuccio L, et al. Early diagnosis of primary Sjogren's syndrome: EULAR-SS task force clinical recommendations. *Expert Rev Clin Immunol* 2016;12:137–56.
- [572] Jabs DA, Lee B, Whittum-Hudson JA, Prendergast RA. Th1 versus Th2 immune responses in autoimmune lacrimal gland disease in MRL/Mp mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:826–31.
- [573] Van Blokland SC, Versnel MA. Pathogenesis of Sjogren's syndrome: characteristics of different mouse models for autoimmune exocrinopathy. *Clin Immunol* 2002;103:111–24.
- [574] Jabs DA, Prendergast RA. Autoimmune ocular disease in MRL/Mp-lpr/lpr mice is suppressed by anti-CD4 antibody. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32: 2718–22.
- [575] Jie G, Jiang Q, Rui Z, Yifei Y. Expression of interleukin-17 in autoimmune dacryoadenitis in MRL/lpr mice. *Curr Eye Res* 2010;35:865–71.
- [576] Diebold Y, Chen LL, Tepavcevic V, Ferdman D, Hodges RR, Dartt DA. Lymphocytic infiltration and goblet cell marker alteration in the conjunctiva of the MRL/MpJ-Fas(lpr) mouse model of Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res* 2007;84:500–12.
- [577] Sun B, Rizzo LV, Sun SH, Chan CC, Wiggert B, Wilder RL, et al. Genetic susceptibility to experimental autoimmune uveitis involves more than a pre-disposition to generate a T helper-1-like or a T helper-2-like response. *J Immunol* 1997;159:1004–11.
- [578] Rios JD, Horikawa Y, Chen LL, Kublin CL, Hodges RR, Dartt DA, et al. Age-dependent alterations in mouse exorbital lacrimal gland structure, innervation and secretory response. *Exp Eye Res* 2005;80:477–91.
- [579] de Paiva CS, Rocha EM. Sjogren syndrome: what and where are we looking for? *Curr Opin Ophthalmol* 2015;26:517–25.
- [580] Zhou D, Chen YT, Chen F, Gallup M, Vijmasi T, Bahrami AF, et al. Critical involvement of macrophage infiltration in the development of Sjogren's syndrome-associated dry eye. *Am J Pathol* 2012;181:753–60.
- [581] de Paiva CS, Hwang CS, Pitcher III JD, Pangelinan SB, Rahimy E, Chen W, et al. Age-related T-cell cytokine profile parallels corneal disease severity in Sjogren's syndrome-like keratoconjunctivitis sicca in CD25KO mice. *Rheumatology* 2010;49:246–58.
- [582] Rahimy E, Pitcher 3rd JD, Pangelinan SB, Chen W, Farley WJ, Niederkorn JY, et al. Spontaneous autoimmune dacryoadenitis in aged CD25KO mice. *Am J Pathol* 2010;177:744–53.
- [583] Chistiakov DA, Voronova NV, Chistiakov PA. The crucial role of IL-2/IL-2RA-mediated immune regulation in the pathogenesis of type 1 diabetes, an evidence coming from genetic and animal model studies. *Immunol Lett* 2008;118:1–5.
- [584] Willerford DM, Ferry JA, Davidson L, Ma A, Alt FW. Interleukin-2 receptor alpha chain regulates the size and content of the peripheral lymphoid compartment. *Immunity* 1995;3:521–30.
- [585] Waldmann TA. The biology of interleukin-2 and interleukin-15: implications for cancer therapy and vaccine design. *Nat Rev Immunol* 2006;6:595–601.
- [586] Sharma R, Bagavant H, Jarjour WN, Sung SS, Ju ST. The role of Fas in the immune system biology of IL-2R alpha knockout mice: interplay among regulatory T cells,

- inflammation, hemopoiesis, and apoptosis. *J Immunol* 2005;175:1965–73.
- [587] Refaeli Y, Van PL, London CA, Tschopp J, Abbas AK. Biochemical mechanisms of IL-2-regulated Fas-mediated T cell apoptosis. *Immunity* 1998;8:615–23.
- [588] Vijmasi T, Chen FY, Chen YT, Gallup M, McNamara N. Topical administration of interleukin-1 receptor antagonist as a therapy for aqueous-deficient dry eye in autoimmune disease. *Mol Vis* 2013;19:1957–65.
- [589] Chen YT, Nikulina K, Lazarev S, Bahrami AF, Noble LB, Gallup M, et al. Interleukin-1 as a phenotypic immunomodulator in keratinizing squamous metaplasia of the ocular surface in Sjogren's syndrome. *Am J Pathol* 2010;177:1333–43.
- [590] Yeh S, de Paiva CS, Hwang CS, Trinca K, Lingappan A, Rafati JK, et al. Spontaneous T cell mediated keratoconjunctivitis in Aire-deficient mice. *Br J Ophthalmol* 2009;93:1260–4.
- [591] Nguyen CQ, Yin H, Lee BH, Chiorini JA, Peck AB. IL17: potential therapeutic target in Sjogren's syndrome using adenovirus-mediated gene transfer. *Lab Invest* 2011;91:54–62.
- [592] Caspi RR, Chan CC, Grubbs BG, Silver PB, Wiggert B, Parsa CF, et al. Endogenous systemic IFN-gamma has a protective role against ocular autoimmunity in mice. *J Immunol* 1994;152:890–9.
- [593] Cha S, Brayer J, Gao J, Brown V, Killedar S, Yasunari U, et al. A dual role for interferon-gamma in the pathogenesis of Sjogren's syndrome-like autoimmune exocrinopathy in the nonobese diabetic mouse. *Scand J Immunol* 2004;60:552–65.
- [594] Wan YY, Flavell RA. Regulatory T cells, transforming growth factor-beta, and immune suppression. *Proc Am Thorac Soc* 2007;4:271–6.
- [595] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441:235–8.
- [596] McCartney-Francis NL, Mizel DE, Frazier-Jessen M, Kulkarni AB, McCarthy JB, Wahl SM. Lacrimal gland inflammation is responsible for ocular pathology in TGF-beta 1 null mice. *Am J Pathol* 1997;151:1281–8.
- [597] McCartney-Francis NL, Mizel DE, Redman RS, Frazier-Jessen M, Panek RB, Kulkarni AB, et al. Autoimmune Sjogren's-like lesions in salivary glands of TGF-beta1-deficient mice are inhibited by adhesion-blocking peptides. *J Immunol* 1996;157:1306–12.
- [598] Shull MM, Doetschman T. Transforming growth factor- $\alpha$ 1 in reproduction and development. *Mol Reprod Dev* 1994;39:239–46.
- [599] Contreras-Ruiz L, Regenfuss B, Mir FA, Kearns J, Masli S. Conjunctival Inflammation in Thrombospondin-1 Deficient Mouse Model of Sjogren's Syndrome. *PLoS One* 2013;8:e75937.
- [600] Gandhi NB, Su Z, Zhang X, Volpe EA, Pelegrino FS, Rahman SA, et al. Dendritic cell-derived thrombospondin-1 is critical for the generation of the ocular surface Th17 response to desiccating stress. *J Leukoc Biol* 2013;94: 1293–301.
- [601] Contreras-Ruiz L, Ryan DS, Sia RK, Bower KS, Dartt DA, Masli S. Polymorphism in THBS1 gene is associated with post-refractive surgery chronic ocular surface inflammation. *Ophthalmology* 2014;121:1389–97.
- [602] Okuma A, Hoshino K, Ohba T, Fukushi S, Aiba S, Akira S, et al. Enhanced apoptosis by disruption of the STAT3-IkappaB-zeta signaling pathway in epithelial cells induces Sjogren's syndrome-like autoimmune disease. *Immunity* 2013;38:450–60.
- [603] Wu AJ, Chen ZJ, Tsokos M, O'Connell BC, Ambudkar IS, Baum BJ. Interferon-gamma induced cell death in a cultured human salivary gland cell line. *J Cell Physiol* 1996;167:297–304.
- [604] Kamachi M, Kawakami A, Yamasaki S, Hida A, Nakashima T, Nakamura H, et al. Regulation of apoptotic cell death by cytokines in a human salivary gland cell line: distinct and synergistic mechanisms in apoptosis induced by tumor necrosis factor alpha and interferon gamma. *J Lab Clin Med* 2002;139: 13–9.
- [605] Coursey TG, Tukler Henriksson J, Barbosa FL, de Paiva CS, Pflugfelder SC. Interferon-gamma-Induced Unfolded Protein Response in Conjunctival Goblet Cells as a Cause of Mucin Deficiency in Sjogren Syndrome. *Am J Pathol* 2016;186:1547–58.
- [606] Garcia-Posadas L, Hodges RR, Li D, Shatos MA, Storr-Paulsen T, Diebold Y, et al. Interaction of IFN-gamma with cholinergic agonists to modulate rat and human goblet cell function. *Mucosal Immunol* 2016;9:206–17.
- [607] Zulman J, Jaffe R, Talal N. Evidence that the malignant lymphoma of Sjogren's syndrome is a monoclonal B-cell neoplasm. *N Engl J Med* 1978;299: 1215–20.
- [608] Voulgarelis M, Ziakas PD, Papageorgiou A, Baimpa E, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Prognosis and outcome of non-Hodgkin lymphoma in primary Sjogren syndrome. *Med Baltim* 2012;91:1–9.
- [609] Kassin SS, Thomas TL, Moutsopoulos HM, Hoover R, Kimberly RP, Budman DR, et al. Increased risk of lymphoma in sicca syndrome. *Ann Intern Med* 1978;89:888–92.
- [610] Whitcher JP, Shiboski CH, Shiboski SC, Heidenreich AM, Kitagawa K, Zhang S, et al. A simplified quantitative method for assessing keratoconjunctivitis sicca from the Sjogren's Syndrome International Registry. *Am J Ophthalmol* 2010;149:405–15.
- [611] Groom J, Kalled SL, Cutler AH, Olson C, Woodcock SA, Schneider P, et al. Association of BAFF/BlyS overexpression and altered B cell differentiation with Sjogren's syndrome. *J Clin Invest* 2002;109:59–68.
- [612] Qian Y, Giltiy N, Xiao J, Wang Y, Tian J, Han S, et al. Deficiency of Act1, a critical modulator of B cell function, leads to development of Sjogren's syndrome. *Eur J Immunol* 2008;38:2219–28.
- [613] Brayer JB, Cha S, Nagashima H, Yasunari U, Lindberg A, Diggs S, et al. IL-4-dependent effector phase in autoimmune exocrinopathy as defined by the NOD.IL-4-gene knockout mouse model of Sjogren's syndrome. *Scand J Immunol* 2001;54:133–40.
- [614] Nguyen CQ, Gao JH, Kim H, Saban DR, Cornelius JG, Peck AB. IL-4-STAT6 signal transduction-dependent induction of the clinical phase of Sjogren's syndrome-like disease of the nonobese diabetic mouse. *J Immunol* 2007;179:382–90.
- [615] Iizuka M, Wakamatsu E, Tsuboi H, Nakamura Y, Hayashi T, Matsui M, et al. Pathogenic role of immune response to M3 muscarinic acetylcholine receptor in Sjogren's syndrome-like sialoadenitis. *J Autoimmun* 2010;35: 383–9.
- [616] Iizuka M, Tsuboi H, Matsuo N, Kondo Y, Asashima H, Matsui M, et al. The crucial roles of IFN-gamma in the development of M3 muscarinic acetylcholine receptor induced Sjogren's syndrome-like sialadenitis. *Mod Rheumatol* 2013;23:614–6.
- [617] Iizuka M, Tsuboi H, Asashima H, Hirota T, Kondo Y, Matsui M, et al. M3 muscarinic acetylcholine receptor reactive IL-17 producing T cells promotes development of Sjogren's syndrome like sialadenitis. *Mod Rheumatol* 2015;25:158–60.
- [618] Yoon KC, de Paiva CS, Qi H, Chen Z, Farley WJ, Li DQ, et al. Desiccating environmental stress exacerbates autoimmune lacrimal keratoconjunctivitis in non-obese diabetic mice. *J Autoimmun* 2008;30:212–21.
- [619] Yoon KC, Ahn KY, Choi W, Li Z, Choi JS, Lee SH, et al. Tear production and ocular surface changes in experimental dry eye after elimination of desiccating stress. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:7267–73.
- [620] Knop E, Knop N. Meibomian glands : part IV. Functional interactions in the pathogenesis of meibomian gland dysfunction (MGD). *Ophthalmologie* 2009;106:980–7.
- [621] Knop E, Knop N, Brewitt H, Pleyer U, Rieck P, Seitz B, et al. Meibomian glands : part III. Dysfunction - argument for a discrete disease entity and as an important cause of dry eye. *Ophthalmologie* 2009;106:966–79.
- [622] Krenzer KL, Dana MR, Ullman MD, Cermak JM, Tolls DB, Evans JE, et al. Effect of androgen deficiency on the human meibomian gland and ocular surface. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4874–82.
- [623] Cermak JM, Krenzer KL, Sullivan RM, Dana MR, Sullivan DA. Is complete androgen insensitivity syndrome associated with alterations in the meibomian gland and ocular surface? *Cornea* 2003;22:516–21.
- [624] Obata H. Anatomy and histopathology of human meibomian gland. *Cornea* 2002;21:S70–4.
- [625] Jester JV, Nicolaides N, Smith RE. Meibomian gland studies: histologic and ultrastructural investigations. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1981;20:537–47.
- [626] Mathers WD, Lane JA. Meibomian gland lipids, evaporation, and tear film stability. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:349–60.
- [627] Sullivan BD, Evans JE, Dana MR, Sullivan DA. Influence of aging on the polar and neutral lipid profiles in human meibomian gland secretions. *Arch Ophthalmol* 2006;124:1286–92.
- [628] Sullivan DA, Yamagami H, Liu M, Steagall RJ, Schirra F, Suzuki T, et al. Sex steroids, the meibomian gland and evaporative dry eye. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:389–99.
- [629] Driver PJ, Lemp MA. Meibomian gland dysfunction. *Surv Ophthalmol* 1996;40:343–67.
- [630] Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J* 1995;21:221–32.
- [631] Julio G, Merindano MD, Canals M, Caum C, Rallo M. Indicators of progressive corneal exposure to dry eye conditions. *Optom Vis Sci* 2012;89:1042–9.
- [632] Tseng SC. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology* 1985;92:728–33.
- [633] Ohnishi Y, Kohno T. Polychlorinated biphenyls poisoning in monkey eye. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1979;18:981–4.
- [634] Lambert R, Smith RE. Hyperkeratinization in a rabbit model of meibomian gland dysfunction. *Am J Ophthalmol* 1988;105:703–5.
- [635] Jester JV, Rife L, Nii D, Luttrill JK, Wilson L, Smith RE. In vivo biomicroscopy and photography of meibomian glands in a rabbit model of meibomian gland dysfunction. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1982;22:660–7.
- [636] Nicolaides N, Santos EC, Smith RE, Jester JV. Meibomian gland dysfunction. III. Meibomian gland lipids. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:946–51.

- [637] Miyake H, Oda T, Katsuta O, Seno M, Nakamura M. Meibomian Gland Dysfunction Model in Hairless Mice Fed a Special Diet With Limited Lipid Content. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:3268–75.
- [638] Liu Y, Ding J. The combined effect of azithromycin and insulin-like growth factor-1 on cultured human meibomian gland epithelial cells. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:5596–601.
- [639] Liu Y, Kam WR, Ding J, Sullivan DA. Effect of azithromycin on lipid accumulation in immortalized human meibomian gland epithelial cells. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:226–8.
- [640] Liu Y, Kam WR, Ding J, Sullivan DA. One man's poison is another man's meat: using azithromycin-induced phospholipidosis to promote ocular surface health. *Toxicology* 2014;320:1–5.
- [641] Lemp MA, Nichols KK. Blepharitis in the United States 2009: A Survey-based Perspective on Prevalence and Treatment. *Ocul Surf* 2009;7:S1–14.
- [642] Ibrahim MAA, Elwan WM. Role of topical dehydroepiandrosterone in ameliorating isotretinoin-induced Meibomian gland dysfunction in adult male albino rat. *Ann Anat* 2017;211:78–87.
- [643] Perry MD, McEvoy GK. Isotretinoin: new therapy for severe acne. *Clin Pharm* 1983;2:12–9.
- [644] Fraunfelder FT, LaBraico JM, Meyer SM. Adverse ocular reactions possibly associated with isotretinoin. *Am J Ophthalmol* 1985;100:534–7.
- [645] Fraunfelder FT, Fraunfelder FW, Edwards R. Ocular side effects possibly associated with isotretinoin usage. *Am J Ophthalmol* 2001;132:299–305.
- [646] Caffery BE, Josephson JE. Ocular side effects of isotretinoin therapy. *J Am Optom Assoc* 1988;59:221–4.
- [647] Denis P, Nordmann JP, Saiag P, Liotet S, Laroche L, Saraux H. Chronic blepharoconjunctivitis during a treatment with acitretin (Soriatane). *J Fr Ophthalmol* 1993;16:191–4.
- [648] Mathers WD, Shields WJ, Sachdev MS, Petroll WM, Jester JV. Meibomian gland morphology and tear osmolarity: changes with Accutane therapy. *Cornea* 1991;10:286–90.
- [649] Bozkurt B, Irke M, Atakan N, Orhan M, Geyik P. Lacrimal function and ocular complications in patients treated with systemic isotretinoin. *Eur J Ophthalmol* 2002;12:173–6.
- [650] Gross EG, Helfgott MA. Retinoids and the eye. *Dermatol Clin* 1992;10: 521–31.
- [651] Jaanus SD. Ocular side effects of selected systemic drugs. *Optom Clin* 1992;2: 73–96.
- [652] Egger SF, Huber-Spitzy V, Bohler K, Raff M, Scholda C, Barisani T, et al. Ocular side effects associated with 13-cis-retinoic acid therapy for acne vulgaris: clinical features, alterations of tearfilm and conjunctival flora. *Acta Ophthalmol Scand* 1995;73:355–7.
- [653] Schiffman RM, Bradford R, Bunnell B, Lai F, Bernstein P, Whitcup SW. A multi-center, double-masked, randomized, vehicle-controlled, parallel group study to evaluate the safety and efficacy of testosterone ophthalmic solution in patients with meibomian gland dysfunction (abstract) *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2006. ARVO e-abstract 5608.
- [654] Jester JV, Parfitt GJ, Brown DJ. Meibomian gland dysfunction: hyper-keratinization or atrophy? *BMC Ophthalmol* 2015;15(Suppl 1):156.
- [655] Nien CJ, Paugh JR, Massei S, Wahlert AJ, Kao WW, Jester JV. Age-related changes in the meibomian gland. *Exp Eye Res* 2009;89:1021–7.
- [656] Suhaimi JL, Parfitt GJ, Xie Y, De Paiva CS, Pflugfelder SC, Shah TN, et al. Effect of desiccating stress on mouse meibomian gland function. *Ocul Surf* 2014;12:59–68.
- [657] Obata H, Oka T, Yoshitomi F. Impression cytology of meibomian gland secretion. (abstract). *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2002. ARVO poster E-60.
- [658] Iwata S, Lemp MA, Holly FJ, Dohlman CH. Evaporation rate of water from the precorneal tear film and cornea in the rabbit. *Investig Ophthalmol* 1969;8: 613–9.
- [659] Lee WB, Hamilton SM, Harris JP, Schwab IR. Ocular complications of hypovitaminosis a after bariatric surgery. *Ophthalmology* 2005;112:1031–4.
- [660] Yagyu H, Kitamine T, Osuga J, Tozawa R, Chen Z, Kaji Y, et al. Absence of ACAT-1 attenuates atherosclerosis but causes dry eye and cutaneous xanthomatosis in mice with congenital hyperlipidemia. *J Biol Chem* 2000;275: 21324–30.
- [661] Nolan J. Evaluation of conjunctival and nasal bacterial cultures before intra-ocular operations. *Br J Ophthalmol* 1967;51:483–5.
- [662] Schabereiter-Gurtner C, Maca S, Rolke S, Nigl K, Lukas J, Hirschl A, et al. 16S rDNA-based identification of bacteria from conjunctival swabs by PCR and DGGE fingerprinting. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:1164–71.
- [663] Haynes RJ, Tighe PJ, Dua HS. Antimicrobial defensin peptides of the human ocular surface. *Br J Ophthalmol* 1999;83:737–41.
- [664] Dong Q, Brulc JM, Iovieno A, Bates B, Garoutte A, Miller D, et al. Diversity of bacteria at healthy human conjunctiva. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52: 5408–13.
- [665] Huang Y, Yang B, Li W. Defining the normal “core microbiome” of conjunctival microbial communities. *Clin Microbiol Infect* 2016, 643e7– 643e12.
- [666] Moeller CT, Branco BC, Yu MC, Farah ME, Santos MA, Hoffling-Lima AL. Evaluation of normal ocular bacterial flora with two different culture media. *Can J Ophthalmol* 2005;40:448–53.
- [667] Willcox MDP. Characterization of the normal microbiota of the ocular surface. *Exp Eye Res* 2013;117:99–105.
- [668] de Paiva CS, Jones DB, Stern ME, Bian F, Moore QL, Corbiere S, et al. Altered Mucosal Microbiome Diversity and Disease Severity in Sjogren Syndrome. *Sci Rep* 2016;6:23561.
- [669] Graham JE, Moore JE, Jiru X, Moore JE, Goodall EA, Dooley JSG, et al. Ocular Pathogen or Commensal: A PCR-Based Study of Surface Bacterial Flora in Normal and Dry Eyes. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:5616–23.
- [670] Albiets JM, Lenton LM. Effect of Antibacterial Honey on the Ocular Flora in Tear Deficiency and Meibomian Gland Disease. *Cornea* 2006;25:1012–9.
- [671] Terzulli M, Ruiz LC, Kugadas A, Masli S, Gadjeva M. TSP-1 Deficiency Alters Ocular Microbiota: Implications for Sjogren's Syndrome Pathogenesis. *J Ocul Pharmacol Ther* 2015;31:413–8.
- [672] Wang CZM, Bian F, Britton RA, Pflugfelder SC, De Paiva CS. Sjogren-like Lacrimal Keratoconjunctivitis in Germ-Free Mice. ARVO Meeting. 2016.
- [673] Spoelker F, Frentz M, Schrage NF. Towards a new in vitro model of dry eye: the Ex Vivo Eye Irritation Test. *Dev Ophthalmol* 2010;45:93–107.
- [674] Meloni M, De Servi B, Marasco D, Del Prete S. Molecular mechanism of ocular surface damage: application to an in vitro dry eye model on human corneal epithelium. *Mol Vis* 2011;17:113–26.
- [675] Barabino S, De Servi B, Aragona S, Nanenti D, Meloni M. Efficacy of a New Ocular Surface Modulator in Restoring Epithelial Changes in an In Vitro Model of Dry Eye Syndrome. *Curr Eye Res* 2017;42:358–63.
- [676] Thompson N, Isenberg DA, Jury EC, Ciurtin C. Exploring BAFF: its expression, receptors and contribution to the immunopathogenesis of Sjogren's syndrome. *Rheumatol Oxf* 2016;55:1548–55.
- [677] Helmick CG, Felson DT, Lawrence RC, Gabriel S, Hirsch R, Kwoh CK, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part I. *Arthritis Rheum* 2008;58:15–25.
- [678] Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, Graham NM. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *Clin Immunol Immunopathol* 1997;84:223–43.
- [679] Maciel G, Crowson CS, Matteson EL, Cornec D. Incidence and Mortality of Physician-Diagnosed Primary Sjogren Syndrome: Time Trends Over a 40-Year Period in a Population-Based US Cohort. *Mayo Clin Proc* 2017, 734–743.
- [680] Maciel G, Crowson CS, Matteson EL, Cornec D. Prevalence of Primary Sjogren's Syndrome in a Population-Based Cohort in the United States. *Arthritis Care Res Hob* 2016 [Epub ahead of print].
- [681] Yen JC, Hsu CA, Li YC, Hsu MH. The Prevalence of Dry Eye Syndrome's and the Likelihood to Develop Sjogren's Syndrome in Taiwan: A Population-Based Study. *Int J Environ Res Public Health* 2015;12:7647–55.
- [682] Voulgarelis M, Tzioufas AG. Pathogenetic mechanisms in the initiation and perpetuation of Sjogren's syndrome. *Nat Rev Rheumatol* 2010;6:529–37.
- [683] Nocturne G, Mariette X. Advances in understanding the pathogenesis of primary Sjogren's syndrome. *Nat Rev Rheumatol* 2013;9:544–56.
- [684] Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002;61:554–8.
- [685] Aguilar AJ, Fonseca L, Croxatto JO. Sjogren's syndrome: a comparative study of impression cytology of the conjunctiva and buccal mucosa, and salivary gland biopsy. *Cornea* 1991;10:203–6.
- [686] Raphael M, Bellefqih S, Piette JC, Le Hoang P, Debre P, Chomette G. Conjunctival biopsy in Sjogren's syndrome: correlations between histological and immunohistochemical features. *Histopathology* 1988;13:191–202.
- [687] Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, Afonso A, Monroy D. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjogren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 1999;19:201–11.
- [688] Roberts DK. Keratoconjunctivitis sicca. *J Am Optom Assoc* 1991;62:187–99.
- [689] Uchino M, Nishiwaki Y, Michikawa T, Shirakawa K, Kuwahara E, Yamada M, et al. Prevalence and Risk Factors of Dry Eye Disease in Japan: Koumi Study. *Ophthalmology* 2011;118:2361–7.
- [690] Sullivan DA. Tearful relationships? Sex, hormones, the lacrimal gland, and aqueous-deficient dry eye. *Ocul Surf* 2004;2:92–123.
- [691] Darabad RR, Suzuki T, Richards SM, Jensen RV, Jakobiec FA, Zakka FR, et al. Influence of aromatase absence on the gene expression and histology of the mouse meibomian gland. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:987–98.
- [692] Rahimi Darabad R, Suzuki T, Richards SM, Jakobiec FA, Zakka FR, Barabino S, et al. Does estrogen deficiency cause lacrimal gland inflammation and aqueous-deficient dry

- eye in mice? *Exp Eye Res* 2014;127:153–60.
- [693] Li L, Kang Q, Wang S, Zheng X. Effects of androgen on ultrastructure of corneal epithelium and function of the tear film in BALB/c mice. *Cornea* 2015;34:334–41.
- [694] Lessard CJ, Li H, Adrianto I, Ice JA, Rasmussen A, Grundahl KM, et al. Variants at multiple loci implicated in both innate and adaptive immune responses are associated with Sjogren's syndrome. *Nat Genet* 2013;45:1284–92.
- [695] Burbelo PD, Ambatipudi K, Alevizos I. Genome-wide association studies in Sjogren's syndrome: What do the genes tell us about disease pathogenesis? *Autoimmun Rev* 2014;13:756–61.
- [696] Carragher DM, Rangel-Moreno J, Randall TD. Ectopic lymphoid tissues and local immunity. *Semin Immunol* 2008;20:26–42.
- [697] Moutsopoulos HM. Sjogren's syndrome: a forty-year scientific journey. *J Autoimmun* 2014;51:1–9.
- [698] Christodoulou MI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Characteristics of the minor salivary gland infiltrates in Sjogren's syndrome. *J Autoimmun* 2010;34:400–7.
- [699] Kapsogeorgou EK, Christodoulou MI, Panagiotakos DB, Paikos S, Tassidou A, Tzioufas AG, et al. Minor salivary gland inflammatory lesions in Sjogren syndrome: do they evolve? *J Rheumatol* 2013;40:1566–71.
- [700] Bombardieri M, Barone F, Humby F, Kelly S, McGurk M, Morgan P, et al. Activation-induced cytidine deaminase expression in follicular dendritic cell networks and interfollicular large B cells supports functionality of ectopic lymphoid neogenesis in autoimmune sialoadenitis and MALT lymphoma in Sjogren's syndrome. *J Immunol* 2007;179:4929–38.
- [701] Theander E, Vasaitis L, Baecklund E, Nordmark G, Warfvinge G, Liedholm R, et al. Lymphoid organisation in labial salivary gland biopsies is a possible predictor for the development of malignant lymphoma in primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2011;70:1363–8.
- [702] Boehm N, Riechardt AL, Wiegand M, Pfeiffer N, Grus FH. Proinflammatory cytokine profiling of tears from dry eye patients by means of antibody microarrays. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:7725–30.
- [703] Kang EH, Lee YJ, Hyon JY, Yun PY, Song YW. Salivary cytokine profiles in primary Sjogren's syndrome differ from those in non-Sjogren sicca in terms of TNF-alpha levels and Th-1/Th-2 ratios. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29: 970–6.
- [704] Lin X, Rui K, Deng J, Tian J, Wang X, Wang S, et al. Th17 cells play a critical role in the development of experimental Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2015;74:1302–10.
- [705] Oh JY, Kim MK, Choi HJ, Ko JH, Kang EJ, Lee HJ, et al. Investigating the relationship between serum interleukin-17 levels and systemic immune-mediated disease in patients with dry eye syndrome. *Korean J Ophthalmol* 2011;25:73–6.
- [706] Katsifis GE, Rekka S, Moutsopoulos NM, Pillemer S, Wahl SM. Systemic and local interleukin-17 and linked cytokines associated with Sjogren's syndrome immunopathogenesis. *Am J Pathol* 2009;175:1167–77.
- [707] Nguyen CQ, Hu MH, Li Y, Stewart C, Peck AB. Salivary gland tissue expression of interleukin-23 and interleukin-17 in Sjogren's syndrome: findings in humans and mice. *Arthritis Rheum* 2008;58:734–43.
- [708] Nguyen CQ, Yin H, Lee BH, Carcamo WC, Chiorini JA, Peck AB. Pathogenic effect of interleukin-17A in induction of Sjogren's syndrome-like disease using adenovirus-mediated gene transfer. *Arthritis Res Ther* 2010;12: R220.
- [709] Triantafyllopoulou A, Moutsopoulos HM. Autoimmunity and coxsackievirus infection in primary Sjogren's syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1050: 389–96.
- [710] Kapsogeorgou EK, Abu-Helu RF, Moutsopoulos HM, Manoussakis MN. Salivary gland epithelial cell exosomes: A source of autoantigenic ribonucleo- proteins. *Arthritis Rheum* 2005;52:1517–21.
- [711] Casciola-Rosen L, Andrade F, Ulanet D, Wong WB, Rosen A. Cleavage by granzyme B is strongly predictive of autoantigen status: implications for initiation of autoimmunity. *J Exp Med* 1999;190:815–26.
- [712] Mitsias DI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. The role of epithelial cells in the initiation and perpetuation of autoimmune lesions: lessons from Sjogren's syndrome (autoimmune epithelitis). *Lupus* 2006;15:255–61.
- [713] Corne C, Devauchelle-Pensec V, Tobon GJ, Pers JO, Jousse-Joulin S, Saraux A. B cells in Sjogren's syndrome: from pathophysiology to diagnosis and treatment. *J Autoimmun* 2012;39:161–7.
- [714] Ishimaru N, Arakaki R, Watanabe M, Kobayashi M, Miyazaki K, Hayashi Y. Development of autoimmune exocrinopathy resembling Sjogren's syndrome in estrogen-deficient mice of healthy background. *Am J Pathol* 2003;163: 1481–90.
- [715] Baudouin C, Brignole F, Pisella PJ, De Jean MS, Goguel A. Flow cytometric analysis of the inflammatory marker HLA DR in dry eye syndrome: results from 12 months of randomized treatment with topical cyclosporin A. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:761–9.
- [716] Brignole F, Pisella PJ, De Saint Jean M, Goldschild M, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in KCS: 6-month treatment with topical cyclosporin A. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:90–5.
- [717] Tsubota K, Fukagawa KT, Shimmura S, Saito I, Saito K, et al. Regulation of human leukocyte antigen expression in human conjunctival epithelium. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:28–34.
- [718] Youinou P, Pers JO. Primary Sjogren's syndrome at a glance today. *Jt Bone Spine* 2015;82:75–6.
- [719] Gordon TP, Bolstad AI, Rischmueller M, Jonsson R, Waterman SA. Autoantibodies in primary Sjogren's syndrome: new insights into mechanisms of autoantibody diversification and disease pathogenesis. *Autoimmunity* 2001;34:123–32.
- [720] Dawson L, Tobin A, Smith P, Gordon T. Antimuscarinic antibodies in Sjogren's syndrome: where are we, and where are we going? *Arthritis Rheum* 2005;52:2984–95.
- [721] Bacman SR, Berra A, Sterin-Borda L, Borda ES. Human primary Sjogren's syndrome autoantibodies as mediators of nitric oxide release coupled to lacrimal gland muscarinic acetylcholine receptors. *Curr Eye Res* 1998;17: 1135–42.
- [722] Bacman S, Perez Leiros C, Sterin-Borda L, Hubscher O, Arana R, Borda E. Autoantibodies against lacrimal gland M3 muscarinic acetylcholine receptors in patients with primary Sjogren's syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:151–6.
- [723] Nguyen KH, Brayer J, Cha S, Diggs S, Yasunari U, Hilal G, et al. Evidence for antimuscarinic acetylcholine receptor antibody-mediated secretory dysfunction in NOD mice. *Arthritis Rheum* 2000;43:2297–306.
- [724] Cavill D, Waterman SA, Gordon TP. Antibodies raised against the second extracellular loop of the human muscarinic M3 receptor mimic functional autoantibodies in Sjogren's syndrome. *Scand J Immunol* 2004;59:261–6.
- [725] Sullivan DA. Possible mechanisms involved in the reduced tear secretion in Sjogren's syndrome. In: Homma M, Sugai S, Tojo T, Miyasaka N, Akizuki M, editors. *Sjogren's Syndrome State of the Art*. Amsterdam: Kugler Press; 1994. p. 3–19.
- [726] Xu KP, Katagiri S, Takeuchi T, Tsubota K. Biopsy of labial salivary glands and lacrimal glands in the diagnosis of Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 1996;23:76–82.
- [727] Alpert S, Kang HI, Weissman I, Fox RI. Expression of granzyme A in salivary gland biopsies from patients with primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1994;37:1046–54.
- [728] Tsubota K, Saito I, Miyasaka N. Granzyme A and perforin expressed in the lacrimal glands of patients with Sjogren's syndrome. *Am J Ophthalmol* 1994;117:120–1.
- [729] Tsubota K, Xu KP, Fujihara T, Katagiri S, Takeuchi T. Decreased reflex tearing is associated with lymphocytic infiltration in lacrimal glands. *J Rheumatol* 1996;23:313–20.
- [730] Knop E, Knop N. [Eye-associated lymphoid tissue (EALT) is continuously spread throughout the ocular surface from the lacrimal gland to the lacrimal drainage system]. *Ophthalmologie* 2003;100:929–42.
- [731] Gao J, Schwab TA, Addeo JV, Ghosn CR, Stern ME. The role of apoptosis in the pathogenesis of canine keratoconjunctivitis sicca: the effect of topical Cyclosporin A therapy. *Cornea* 1998;17:654–63.
- [732] Croft M, Dubey C. Accessory molecule and costimulation requirements for CD4 T cell response. *Crit Rev Immunol* 1997;17:89–118.
- [733] Villani E, Beretta S, De Capitani M, Galimberti D, Viola F, Ratiglia R. In vivo confocal microscopy of meibomian glands in Sjogren's syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:933–9.
- [734] Solomon A, Dursun D, Liu Z, Xie Y, Macri A, Pflugfelder SC. Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42: 2283–92.
- [735] Caffery BE, Joyce E, Heynen ML, Ritter 3rd R, Jones LA, Senchyna M. Quantification of conjunctival TNF-alpha in aqueous-deficient dry eye. *Optom Vis Sci* 2014;91:156–62.
- [736] Takahashi H, Asano K, Nakamura S, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Interferon-gamma-dependent stimulation of human involucrin gene expression: STAT1 (signal transduction and activators of transcription 1) protein activates involucrin promoter activity. *Biochem J* 1999;344(Pt 3):797–802.
- [737] Li S, Nikulina K, DeVoss J, Wu AJ, Strauss EC, Anderson MS, et al. Small proline-rich protein 1B (SPRR1B) is a biomarker for squamous metaplasia in dry eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:34–41.
- [738] Kawasaki S, Kawamoto S, Yokoi N, Connon C, Minesaki Y, Kinoshita S, et al. Up-regulated gene expression in the conjunctival epithelium of patients with Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res* 2003;77:17–26.
- [739] Hirai N, Kawasaki S, Tanioka H, Connon CJ, Yamasaki K, Yokoi N, et al. Pathological keratinisation in the conjunctival epithelium of Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res* 2006;82:371–8.
- [740] Tong L, Corrales RM, Chen Z, Villarreal AL, De Paiva CS, Beuerman R, et al. Expression and regulation of cornified envelope proteins in human corneal epithelium. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:1938–46.
- [741] Vijmasi T, Chen FY, Balasubbu S, Gallup M, McKown RL, Laurie GW, et al. Topical administration of lacritin is a novel therapy for aqueous-deficient dry eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:5401–9.

- [742] The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop. *Ocul Surf* 2007;2007(5):75-92.
- [743] Scherz W, Dohlman CH. Is the lacrimal gland dispensable? Keratoconjunctivitis sicca after lacrimal gland removal. *Arch Ophthalmol* 1975;93:281-3.
- [744] Hegab SM, Sheriff SM, el-Asaar ES, Lashin EA, Phillips CI. Congenital alacrima without associated manifestations (AD). An affected father and son. *Ophthalmic Paediatr Genet* 1991;12:161-3.
- [745] Kim SH, Hwang S, Kweon S, Kim TK, Oh J. Two cases of lacrimal gland agenesis in the same family-clinicoradiologic findings and management. *Can J Ophthalmol* 2005;40:502-5.
- [746] Athappilly GK, Braverman RS. Congenital alacrima in a patient with blepharophimosis syndrome. *Ophthalmic Genet* 2009;30:37-9.
- [747] Arya SK, Chaudhuri Z, Jain R, Nahar R, Sood S. Congenital alacrima in Pierre Robin sequence. *Cornea* 2004;23:632-4.
- [748] Brooks BP, Kleta R, Stuart C, Tuchman M, Jeong A, Stergiopoulos SG, et al. Genotypic heterogeneity and clinical phenotype in triple A syndrome: a review of the NIH experience 2000-2005. *Clin Genet* 2005;68:215-21.
- [749] Sarathi V, Shah NS. Triple-A syndrome. *Adv Exp Med Biol* 2010;685:1-8.
- [750] Krumbholz M, Koehler K, Huebner A. Cellular localization of 17 natural mutant variants of ALADIN protein in triple A syndrome - shedding light on an unexpected splice mutation. *Biochem Cell Biol* 2006;84:243-9.
- [751] Rocha EM, Alves M, Rios JD, Dartt DA. The Aging Lacrimal Gland: Changes in Structure and Function. *Ocul Surf* 2008;6:162-74.
- [752] Na KS, Mok JW, Kim JY, Joo CK. Proinflammatory gene polymorphisms are potentially associated with Korean non-Sjogren dry eye patients. *Mol Vis* 2011;17:2818-23.
- [753] Ren G, Shao T, Zhuang Y, Hu H, Zhang X, Huang J, et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor and human leukocyte antigen-C genotype with dry eye disease in a Chinese Han population. *Genet Test Mol Biomark* 2012;16:910-4.
- [754] Van Haeringen NJ. Aging and the lacrimal system. *Br J Ophthalmol* 1997;81: 824-6.
- [755] McGill JL, Liakos GM, Goulding N, Seal DV. Normal tear protein profiles and age-related changes. *Br J Ophthalmol* 1984;68:316-20.
- [756] Seal DV. The effect of ageing and disease on tear constituents. *Trans Ophthalmol Soc U. K* 1985;104(Pt 4):355-62.
- [757] Hamano T, Mitsunaga S, Kotani S, Hamano T, Hamano K, Hamano H, et al. Tear volume in relation to contact lens wear and age. *CLAO J* 1990;16:57-61.
- [758] Boberg-Ans J. On the corneal sensitivity. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1956;34: 149-62.
- [759] Millodot M. The influence of age on the sensitivity of the cornea. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1977;16:240-2.
- [760] Acosta MC, Alfaro ML, Borrás F, Belmonte C, Gallar J. Influence of age, gender and iris color on mechanical and chemical sensitivity of the cornea and conjunctiva. *Exp Eye Res* 2006;83:932-8.
- [761] Pietsch RL, Pearlman ME. Human tear lysozyme variables. *Arch Ophthalmol* 1973;90:94-6.
- [762] Bonavida B, Sapse AT. Human tear lysozyme. II. Quantitative determination with standard Schirmer strips. *Am J Ophthalmol* 1968;66:70-6.
- [763] Mathers WD, Lane JA, Zimmerman MB. Tear film changes associated with normal aging. *Cornea* 1996;15:229-34.
- [764] Nasu M, Matsubara O, Yamamoto H. Post-mortem prevalence of lymphocytic infiltration of the lacrimal gland: a comparative study in autoimmune and non-autoimmune diseases. *J Pathol* 1984;143:11-5.
- [765] Damato BE, Allan D, Murray SB, Lee WR. Senile atrophy of the human lacrimal gland: the contribution of chronic inflammatory disease. *Br J Ophthalmol* 1984;68:674-80.
- [766] Obata H, Yamamoto S, Horiuchi H, Machinami R. Histopathologic study of human lacrimal gland. Statistical analysis with special reference to aging. *Ophthalmology* 1995;102:678-86.
- [767] Kojima T, Wakamatsu TH, Dogru M, Ogawa Y, Igarashi A, Ibrahim OM, et al. Age-related dysfunction of the lacrimal gland and oxidative stress: evidence from the Cu,Zn-superoxide dismutase-1 (Sod1) knockout mice. *Am J Pathol* 2012;180:1879-96.
- [768] Zoukhri D, Kublin CL. Impaired neurotransmitter release from lacrimal and salivary gland nerves of a murine model of Sjogren's syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:925-32.
- [769] Zoukhri D, Macari E, Kublin CL. A single injection of interleukin-1 induces reversible aqueous-tear deficiency, lacrimal gland inflammation, and acinar and ductal cell proliferation. *Exp Eye Res* 2007;84:894-904.
- [770] Uchino Y, Kawakita T, Miyazawa M, Ishii T, Onouchi H, Yasuda K, et al. Oxidative stress induced inflammation initiates functional decline of tear production. *PLoS One* 2012;7. e45805.
- [771] Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984;219:1-14.
- [772] Wakamatsu TH, Dogru M, Tsubota K. Tearful relations: oxidative stress, inflammation and eye diseases. *Arq Bras Oftalmol* 2008;71:72-9.
- [773] Augustin AJ, Spitznas M, Kaviani N, Meller D, Koch FH, Grus F, et al. Oxidative reactions in the tear fluid of patients suffering from dry eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995;233:694-8.
- [774] Giebel J, Woenckhaus C, Fabian M, Tost F. Age-related differential expression of apoptosis-related genes in conjunctival epithelial cells. *Acta Ophthalmol Scand* 2005;83:471-6.
- [775] Zhu W, Hong J, Zheng T, Le Q, Xu J, Sun X. Age-related changes of human conjunctiva on in vivo confocal microscopy. *Br J Ophthalmol* 2010;94: 1448-53.
- [776] Labbe A, Dupas B, Hamard P, Baudouin C. In vivo confocal microscopy study of blebs after filtering surgery. *Ophthalmology* 2005;112:1979.
- [777] Abdel-Khalek LM, Williamson J, Lee WR. Morphological changes in the human conjunctival epithelium. II. In keratoconjunctivitis sicca. *Br J Ophthalmol* 1978;62:800-6.
- [778] Massingale ML, Li X, Vallabhajosyula M, Chen D, Wei Y, Asbell PA. Analysis of inflammatory cytokines in the tears of dry eye patients. *Cornea* 2009;28: 1023-7.
- [779] Bresnitz EA, Strom BL. Epidemiology of sarcoidosis. *Epidemiol Rev* 1983;5: 124-56.
- [780] Baughman RP, Lower EE, du Bois RM. Sarcoidosis *Lancet* 2003;361:1111-8.
- [781] Jones NP. Sarcoidosis. *Curr Opin Ophthalmol* 2002;13:393-6.
- [782] Pasadhika S, Rosenbaum JT. Ocular Sarcoidosis. *Clin Chest Med* 2015;36: 669-83.
- [783] Jones BR, Stevenson CJ. Keratoconjunctivitis sicca due to sarcoidosis. *Br J Ophthalmol* 1957;41:153-60.
- [784] Drosos AA, Constantopoulos SH, Psychos D, Stefanou D, Papadimitriou CS, Moutsopoulos HM. The forgotten cause of sicca complex; sarcoidosis. *J Rheumatol* 1989;16:1548-51.
- [785] Drosos AA, Voulgari PV, Psychos DN, Tsigetaki N, Bai M. Sicca syndrome in patients with sarcoidosis. *Rheumatol Int* 1999;18:177-80.
- [786] Agostini C, Meneghin A, Semenzato G. T-lymphocytes and cytokines in sarcoidosis. *Curr Opin Pulm Med* 2002;8:435-40.
- [787] Barnard J, Newman LS. Sarcoidosis: immunology, rheumatic involvement, and therapeutics. *Curr Opin Rheumatol* 2001;13:84-91.
- [788] Heath P. Ocular lymphomas. *Am J Ophthalmol* 1949;32:1213-23.
- [789] Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, Cohen P, Loury I, Loustaud-Ratti V, et al. Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection. A prospective multicenter study of 321 patients. The GERMIVIC. Groupe d'Etude et de Recherche en Medecine Interne et Maladies Infectieuses sur le Virus de l'Hepatitis C. *Med Baltim* 2000;79:47-56.
- [790] Ramos-Casals M, Munoz S, Zeron PB. Hepatitis C virus and Sjogren's syndrome: trigger or mimic? *Rheum Dis Clin North Am* 2008;34:869-84. vii.
- [791] Ramos-Casals M, Munoz S, Medina F, Jara LJ, Rosas J, Calvo-Alen J, et al. Systemic autoimmune diseases in patients with hepatitis C virus infection: characterization of 1020 cases (The HISPAMEC Registry). *J Rheumatol* 2009;36:1442-8.
- [792] DeCarlo DK, Penner SL, Schamerloh RJ, Fullard RJ. Dry eye among males infected with the human immunodeficiency virus. *J Am Optom Assoc* 1995;66:533-8.
- [793] Chronister CL. Review of external ocular disease associated with aids and HIV infection. *Optom Vis Sci* 1996;73:225-30.
- [794] Itescu S, Brancato LJ, Buxbaum J, Gregersen PK, Rizk CC, Croxson TS, et al. A diffuse infiltrative CD8 lymphocytosis syndrome in human immunodeficiency virus (HIV) infection: a host immune response associated with HLA-DR5. *Ann Intern Med* 1990;112:3-10.
- [795] Durkin SR, Roos D, Higgs B, Casson RJ, Selva D. Ophthalmic and adnexal complications of radiotherapy. *Acta Ophthalmol Scand* 2007;85:240-50.
- [796] Bhandare N, Moiseenko V, Song WY, Morris CG, Bhatti MT, Mendenhall WM. Severe dry eye syndrome after radiotherapy for head-and-neck tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012;82:1501-8.
- [797] Bessell EM, Henk JM, Whitelocke RA, Wright JE. Ocular morbidity after radiotherapy of orbital and conjunctival lymphoma. *Eye (Lond)* 1987;1(Pt 1): 90-6.
- [798] Stafford SL, Kozelsky TF, Garrity JA, Kurtin PJ, Leavitt JA, Martenson JA, et al. Orbital lymphoma: radiotherapy outcome and complications. *Radiother Oncol* 2001;59:139-44.

- [799] Gamus D, Weschler Z, Greenberg S, Romano A. Decreased tear secretion in Chernobyl children: external eye disorders in children subjected to long-term low-dose radiation. *Adv Exp Med Biol* 1994;350:513-6.
- [800] Gazda MJ, Schultheiss TE, Stephens LC, Ang KK, Peters LJ. The relationship between apoptosis and atrophy in the irradiated lacrimal gland. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992;24:693-7.
- [801] Hakim SG, Schroeder C, Geerling G, Lauer I, Wedel T, Kosmehl H, et al. Early and late immunohistochemical and ultrastructural changes associated with functional impairment of the lacrimal gland following external beam radiation. *Int J Exp Pathol* 2006;87:65-71.
- [802] Stephens L, Schultheiss TE, Peters LJ, Ang K, Gray KN. Acute radiation injury of ocular adnexa. *Arch Ophthalmol* 1988;106:389-91.
- [803] Stephens LC, Schultheiss TE, Price RE, Ang KK, Peters LJ. Radiation apoptosis of serous acinar cells of salivary and lacrimal glands. *Cancer* 1991;67: 1539-43.
- [804] Radford CF, Rauz S, Williams GP, Saw VP, Dart JK. Incidence, presenting features, and diagnosis of cicatrizing conjunctivitis in the United Kingdom. *Eye (Lond)* 2012;26:1199-208.
- [805] Saboo US, Amparo F, Abud TB, Schaumberg DA, Dana R. Vision-Related Quality of Life in Patients with Ocular Graft-versus-Host Disease. *Ophthalmology* 2015;122:1669-74.
- [806] Shikari H, Antin JH, Dana R. Ocular graft-versus-host disease: a review. *Surv Ophthalmol* 2013;58:233-51.
- [807] Nassar A, Tabbara KF, Aljurf M. Ocular manifestations of graft-versus-host disease. *Saudi J Ophthalmol* 2013;27:215-22.
- [808] Kim SK. Ocular graft vs. host disease. *Ocul Surf* 2005;3:S177-9.
- [809] Mencucci R, Rossi Ferrini C, Bosi A, Volpe R, Guidi S, Salvi G. Ophthalmological aspects in allogeneic bone marrow transplantation: Sjogren-like syndrome in graft-versus-host disease. *Eur J Ophthalmol* 1997;7:13-8.
- [810] Jack MK, Hicks JD. Ocular complications in high-dose chemoradiotherapy and marrow transplantation. *Ann Ophthalmol* 1981;13:709-11.
- [811] Vanathi M, Kashyap S, Khan R, Seth T, Mishra P, Mahapatra M, et al. Ocular surface evaluation in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients. *Eur J Ophthalmol* 2014;24:655-66.
- [812] Alves M, Reinach PS, Paula JS, Vellasco e Cruz AA, Bachellet L, Faustino J, et al. Comparison of diagnostic tests in distinct well-defined conditions related to dry eye disease. *PLoS One* 2014;9. e97921.
- [813] Espana EM, Shah S, Santhiago MR, Singh AD. Graft versus host disease: clinical evaluation, diagnosis and management. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013;251:1257-66.
- [814] Ogawa Y, Okamoto S, Wakui M, Watanabe R, Yamada M, Yoshino M, et al. Dry eye after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Ophthalmol* 1999;83:1125-30.
- [815] Ogawa Y, Morikawa S, Okano H, Mabuchi Y, Suzuki S, Yaguchi T, et al. MHC-compatible bone marrow stromal/stem cells trigger fibrosis by activating host T cells in a scleroderma mouse model. *eLife* 2016;4. e09394.
- [816] Uchino M, Ogawa Y, Uchino Y, Mori T, Okamoto S, Tsubota K. Comparison of stem cell sources in the severity of dry eye after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Ophthalmol* 2012;96:34-7.
- [817] Kamoi M, Ogawa Y, Uchino M, Tatematsu Y, Mori T, Okamoto S, et al. Donor-recipient gender difference affects severity of dry eye after hematopoietic stem cell transplantation. *Eye (Lond)* 2011;25:860-5.
- [818] Jacobs R, Tran U, Chen H, Kassim A, Engelhardt BG, Greer JP, et al. Prevalence and risk factors associated with development of ocular GVHD defined by NIH consensus criteria. *Bone Marrow Transpl* 2012;47:1470-3.
- [819] Na KS, Yoo YS, Mok JW, Lee JW, Joo CK. Incidence and risk factors for ocular GVHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transpl* 2015;50:1459-64.
- [820] Yaguchi S, Ogawa Y, Kawakita T, Shimmura S, Tsubota K. Tissue Renin-Angiotensin System in Lacrimal Gland Fibrosis in a Murine Model of Chronic Graft-Versus-Host Disease. *Cornea* 2015;34(Suppl 11):S142-52.
- [821] Ogawa Y, Shimmura S, Kawakita T, Yoshida S, Kawakami Y, Tsubota K. Epithelial mesenchymal transition in human ocular chronic graft-versus-host disease. *Am J Pathol* 2009;175:2372-81.
- [822] Ogawa Y, Kodama H, Kameyama K, Yamazaki K, Yasuoka H, Okamoto S, et al. Donor fibroblast chimerism in the pathogenic fibrotic lesion of human chronic graft-versus-host disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2005;46: 4519-27.
- [823] Ogawa Y, Yamazaki K, Kuwana M, Mashima Y, Nakamura Y, Ishida S, et al. A significant role of stromal fibroblasts in rapidly progressive dry eye in patients with chronic GVHD. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:111-9.
- [824] Jabs DA, Hirst LW, Green WR, Tutschka PJ, Santos GW, Beschoner WE. The eye in bone marrow transplantation. II. Histopathology. *Arch Ophthalmol* 1983;101:585-90.
- [825] Ban Y, Ogawa Y, Ibrahim OM, Tatematsu Y, Kamoi M, Uchino M, et al. Morphologic evaluation of meibomian glands in chronic graft-versus-host disease using in vivo laser confocal microscopy. *Mol Vis* 2011;17:2533-43.
- [826] Tatematsu Y, Ogawa Y, Shimmura S, Dogru M, Yaguchi S, Nagai T, et al. Mucosal microvilli in dry eye patients with chronic GVHD. *Bone Marrow Transpl* 2012;47:416-25.
- [827] Li P, Sun Y, Hariri S, Zhou Z, Inamoto Y, Lee SJ, et al. Anterior segment optical coherence tomography evaluation of ocular graft-versus-host disease: a case study. *Quant Imaging Med Surg* 2015;5:163-70.
- [828] Ogawa Y, Kuwana MK, Mashima Y, Yamada M, Mori T, et al. Periductal area as the primary site for T-cell activation in lacrimal gland chronic graft-versus-host disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:1888-96.
- [829] Yaguchi S, Ogawa Y, Shimmura S, Kawakita T, Hatou S, Satofuka S, et al. Angiotensin II type 1 receptor antagonist attenuates lacrimal gland, lung, and liver fibrosis in a murine model of chronic graft-versus-host disease. *PLoS One* 2013;8. e64724.
- [830] Engel LA, Wittig S, Bock F, Sauerbier L, Scheid C, Holtick U, et al. Meibography and meibomian gland measurements in ocular graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transpl* 2015;50 :961-7.
- [831] Rojas B, Cuhna R, Zafirakis P, Ramirez JM, Lizan-garcia M, Zhao T, et al. Cell populations and adhesion molecules expression in conjunctiva before and after bone marrow transplantation. *Exp Eye Res* 2005;81:313-25.
- [832] Robinson MR, Lee SS, Rubin BI, Wayne AS, Pavletic SZ, Bishop MR, et al. Topical corticosteroid therapy for cicatricial conjunctivitis associated with chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transpl* 2004;33:1031-5.
- [833] Westekemper H, Meller S, Citak S, Schulte C, Steuhl KP, Homey B, et al. Differential chemokine expression in chronic GVHD of the conjunctiva. *Bone Marrow Transpl* 2010;45:1340-6.
- [834] Suzuki M, Usui T, Kinoshita N, Yamagami S, Amano S. A case of sterile corneal perforation after bone marrow transplantation. *Eye (Lond)* 2007;21:114-6.
- [835] Inagaki E, Ogawa Y, Matsumoto Y, Kawakita T, Shimmura S, Tsubota K. Four cases of corneal perforation in patients with chronic graft-versus-host disease. *Mol Vis* 2011;17:598-606.
- [836] Ban Y, Ogawa Y, Goto E, Uchino M, Terauchi N, Seki M, et al. Tear function and lipid layer alterations in dry eye patients with chronic graft-vs-host disease. *Eye (Lond)* 2009;23:202-8.
- [837] Berchicci L, Iuliano L, Miserochi E, Bandello F, Modorati G. Tear osmolarity in ocular graft-versus-host disease. *Cornea* 2014;33:1252-6.
- [838] Riemens A, Stoyanova E, Rothova A, Kuiper J. Cytokines in tear fluid of patients with ocular graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Mol Vis* 2012;18:797-802.
- [839] Jung JW, Han SJ, Song MK, Kim TI, Kim EK, Min YH, et al. Tear Cytokines as Biomarkers for Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transpl* 2015;21:2079-85.
- [840] Sakimoto T, Ohnishi T, Ishimori A. Significance of ectodomain shedding of TNF receptor 1 in ocular surface. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2014;55: 2419-23.
- [841] Hassan AS, Clouthier SG, Ferrara JL, Stepan A, Mian SI, Ahmad AZ, et al. Lacrimal gland involvement in graft-versus-host disease: a murine model. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2692-7.
- [842] Cocho L, Fernandez I, Calonge M, Martinez V, Gonzalez-Garcia MJ, Caballero D, et al. Gene Expression-Based Predictive Models of Graft Versus Host Disease-Associated Dry Eye. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2015;56: 4570-81.
- [843] Sotozono C, Ueta M, Nakatani E, Kitami A, Watanabe H, Sueki H, et al. Predictive Factors Associated With Acute Ocular Involvement in Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis. *Am J Ophthalmol* 2015;160:228-37.
- [844] Saeed H, Mantagos IS, Chodosh J. Complications of Stevens-Johnson syndrome beyond the eye and skin. *Burns* 2016;42:20-7.
- [845] Roujeau JC. The spectrum of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a clinical classification. *J Invest Dermatol* 1994;102:285-305.
- [846] Kohanim S, Palioura S, Saeed HN, Akpek EK, Amescua G, Basu S, et al. Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis-A Comprehensive Review and Guide to Therapy. I. Systemic Disease. *Ocul Surf* 2016;14:2-19.
- [847] Hutchinson JK, Gurwood AS. Iatrogenically induced Stevens-Johnson syndrome after a car accident. *Optometry* 2011;82:9-14.
- [848] Jensen S. A case of Stevens-Johnson's syndrome following antiepileptic medication.

- Acta Ophthalmol (Copenh) 1967;45:576-81.
- [849] Chhipa SA, Masood S, Salarzai Y, Khan QA, Ahmad K, Sajid S. Ocular manifestations, complications and aetiological factors in Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. *J Pak Med Assoc* 2015;65:62-4.
- [850] Ueta M, Sawai H, Sotozono C, Hitomi Y, Kaniwa N, Kim MK, et al. IKZF1, a new susceptibility gene for cold medicine-related Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis with severe mucosal involvement. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:1538-45. e1517.
- [851] Goldberg D, Panigrahi D, Barazi M, Abelson M, Butrus S. A case of rofecoxib-associated Stevens-Johnson syndrome with corneal and conjunctival changes. *Cornea* 2004;23:736-7.
- [852] Lau B, Mutyala D, Dhaliwal D. A case report of doxycycline-induced Stevens-Johnson syndrome. *Cornea* 2011;30:595-7.
- [853] Kumar RS, Tan DT, Yong-Ming P, Francis OT, Sek-Tien H, Anand P, et al. Stevens-Johnson Syndrome and Acetazolamide. *J Glaucoma* 2011 [Epub ahead of print].
- [854] Schulze Scherwing M, Kayange P, van Oosterhout JJ, Spitzer MS. Severe eye complications from Stevens-Johnson syndrome in a human immunodeficiency virus-infected patient in Malawi. *Am J Trop Med Hyg* 2013;89:162-4.
- [855] Saka B, Barro-Traore F, Atadokpede FA, Kobangue L, Niamba PA, Adegbihi H, et al. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in sub-Saharan Africa: a multicentric study in four countries. *Int J Dermatol* 2013;52:575-9.
- [856] Chung WH, Hung SI, Hong HS, Hsieh MS, Yang LC, Ho HC, et al. Medical genetics: a marker for Stevens-Johnson syndrome. *Nature* 2004;428:486.
- [857] Ueta M, Tokunaga K, Sotozono C, Sawai H, Tamiya G, Inatomi T, et al. HLA-A\*0206 with TLR3 polymorphisms exerts more than additive effects in Stevens-Johnson syndrome with severe ocular surface complications. *PLoS One* 2012;7. e43650.
- [858] Sotozono C, Inagaki K, Fujita A, Koizumi N, Sano Y, Inatomi T, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* infections in the cornea. *Cornea* 2002;21:594-101.
- [859] Ueta M, Tamiya G, Tokunaga K, Sotozono C, Ueki M, Sawai H, et al. Epistatic interaction between Toll-like receptor 3 (TLR3) and prostaglandin E receptor 3 (PTGER3) genes. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:1413 e11-6 e11.
- [860] Correia O, Delgado L, Ramos JP, Resende C, Torrinha JA. Cutaneous T-cell recruitment in toxic epidermal necrolysis. Further evidence of CD8+ lymphocyte involvement. *Arch Dermatol* 1993;129:466-8.
- [861] Wolkenstein P, Chosidow O, Flechet ML, Robbiola O, Paul M, Dume L, et al. Patch testing in severe cutaneous adverse drug reactions, including Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Contact Dermat* 1996;35: 234-6.
- [862] Bolitho P, Voskoboinik I, Trapani JA, Smyth MJ. Apoptosis induced by the lymphocyte effector molecule perforin. *Curr Opin Immunol* 2007;19: 339-47.
- [863] Tsubota K, Satake Y, Kaido M, Shinozaki N, Shimmura S, Bissen-Miyajima H, et al. Treatment of severe ocular-surface disorders with corneal epithelial stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 1999;340:1697-703.
- [864] Kaido M, Dogru M, Yamada M, Sotozono C, Kinoshita S, Shimazaki J, et al. Functional visual acuity in Stevens-Johnson syndrome. *Am J Ophthalmol* 2006;142:917-22.
- [865] Kang MH, Kim MK, Lee HJ, Lee HI, Wee WR, Lee JH. Interleukin-17 in various ocular surface inflammatory diseases. *J Korean Med Sci* 2011;26:938-44.
- [866] Ohashi Y, Ishida R, Kojima T, Goto E, Matsumoto Y, Watanabe K, et al. Abnormal protein profiles in tears with dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2003;136:291-9.
- [867] Lopez-Garcia JS, Rivas Jara L, Garcia-Lozano CI, Conesa E, de Juan IE, Murube del Castillo J. Ocular features and histopathologic changes during follow-up of toxic epidermal necrolysis. *Ophthalmology* 2011;118:265-71.
- [868] Tanioka H, Kawasaki S, Sotozono C, Nakamura T, Inatomi T, Kinoshita S. The relationship between preoperative clinical scores and immunohistological evaluation of surgically resected tissues in chronic severe ocular surface diseases. *Jpn J Ophthalmol* 2010;54:66-73.
- [869] Nakamura T, Nishida K, Dota A, Matsuki M, Yamanishi K, Kinoshita S. Elevated expression of transglutaminase 1 and keratinization-related proteins in conjunctiva in severe ocular surface disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:549-56.
- [870] Nishida K, Yamanishi K, Yamada K, Dota A, Kawasaki S, Quantock AJ, et al. Epithelial hyperproliferation and transglutaminase 1 gene expression in Stevens-Johnson syndrome conjunctiva. *Am J Pathol* 1999;154:331-6.
- [871] Lund AS, Heegaard S, Prause JU, Toft PB, Skov L. Expression of filaggrin in normal and keratinized conjunctiva. *Open Ophthalmol J* 2012;6:137-40.
- [872] Woo SBGM. Ulcerative, vesicular, and bullous lesions. In: Greenberg msgms JA, editor. *Burket's Oral Medicine: Diagnosis and Treatment*. Hamilton: B.C. Decker Inc; 2008.
- [873] Xu HH, Werth VP, Parisi E, Sollecito TP. Mucous membrane pemphigoid. *Dent Clin North Am* 2013;57:611-30.
- [874] Chan LS. Mucous membrane pemphigoid. *Clin Dermatol* 2001;19:703-11.
- [875] Thorne JE, Anhalt GJ, Jabs DA. Mucous membrane pemphigoid and pseudo-pemphigoid. *Ophthalmology* 2004;111:45-52.
- [876] Bernard P, Vaillant L, Labeille B, Bedane C, Arbeille B, Denoeux JP, et al. Incidence and distribution of subepidermal autoimmune bullous skin diseases in three French regions. *Bullous Diseases French Study Group. Arch Dermatol* 1995;131:48-52.
- [877] Bertram F, Brocker EB, Zillikens D, Schmidt E. Prospective analysis of the incidence of autoimmune bullous disorders in Lower Franconia, Germany. *J Dtsch Dermatol Ges* 2009;7:434-40.
- [878] Mondino BJ, Brown SI, Rabin BS. HLA antigens in ocular cicatricial pemphigoid. *Br J Ophthalmol* 1978;62:265-7.
- [879] Ahmed AR, Foster S, Zaltas M, Notani G, Awdeh Z, Alper CA, et al. Association of DQw7 (DQB1\*0301) with ocular cicatricial pemphigoid. *Proc Natl Acad Sci U. S. A* 1991;88:11579-82.
- [880] Olsen KE, Holland EJ. The association between ocular cicatricial pemphigoid and rheumatoid arthritis. *Cornea* 1998;17:504-7.
- [881] Miserocchi E, Waheed NK, Baltatzis S, Foster CS. Chronic cicatrizing conjunctivitis in a patient with ocular cicatricial pemphigoid and fatal Wegener granulomatosis. *Am J Ophthalmol* 2001;132:923-4.
- [882] Hatton MP, Raizman M, Foster CS. Exacerbation of undiagnosed ocular cicatricial pemphigoid after repair of involutional entropion. *Ophthalm Plast Reconstr Surg* 2008;24:165-6.
- [883] Lazarova Z, Yee C, Darling T, Briggaman RA, Yancey KB. Passive transfer of anti-laminin 5 antibodies induces subepidermal blisters in neonatal mice. *J Clin Invest* 1996;98:1509-18.
- [884] Bernauer W, Wright P, Dart JK, Leonard JN, Lightman S. Cytokines in the conjunctiva of acute and chronic mucous membrane pemphigoid: an immunohistochemical analysis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1993;231:563-70.
- [885] Mondino BJ, Rao H, Brown SI. T and B lymphocytes in ocular cicatricial pemphigoid. *Am J Ophthalmol* 1981;92:536-42.
- [886] Bodaghi B, Bertin V, Paques M, Toublanc M, Dezutter-Dambuyant C, Hoang-Xuan T. Limbal conjunctival Langerhans cell density in ocular cicatricial pemphigoid: an indirect immunofluorescence study on Dispase-split conjunctiva. *Curr Eye Res* 1997;16:820-4.
- [887] Lambiase A, Micera A, Mantelli F, Moretti C, Di Zazzo A, Perrella E, et al. T-helper 17 lymphocytes in ocular cicatricial pemphigoid. *Mol Vis* 2009;15: 1449-55.
- [888] Tesavikul N, Dorfman D, Sangwan VS, Christen W, Panayotis Z, Rojas B, et al. Costimulatory molecules in ocular cicatricial pemphigoid. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:982-8.
- [889] Kiang E, Tesavikul N, Yee R, Kellaway J, Przepiorka D. The use of topical cyclosporin A in ocular graft-versus-host-disease. *Bone Marrow Transpl* 1998;22:147-51.
- [890] Hoang-Xuan T, Foster CS, Raizman MB, Greenwood B. Mast cells in conjunctiva affected by cicatricial pemphigoid. *Ophthalmology* 1989;96: 1110-4.
- [891] Saito T, Nishida K, Sugiyama H, Yamato M, Maeda N, Okano T, et al. Abnormal keratocytes and stromal inflammation in chronic phase of severe ocular surface diseases with stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 2008;92:404-10.
- [892] Razzaque MS, Ahmed BS, Foster CS, Ahmed AR. Effects of IL-4 on conjunctival fibroblasts: possible role in ocular cicatricial pemphigoid. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:3417-23.
- [893] Razzaque MS, Foster CS, Ahmed AR. Role of enhanced expression of m-CSF in conjunctiva affected by cicatricial pemphigoid. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:2977-83.
- [894] Razzaque MS, Foster CS, Ahmed AR. Role of collagen-binding heat shock protein 47 and transforming growth factor-beta1 in conjunctival scarring in ocular cicatricial pemphigoid. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:1616-21.
- [895] Razzaque MS, Foster CS, Ahmed AR. Role of connective tissue growth factor in the pathogenesis of conjunctival scarring in ocular cicatricial pemphigoid. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:1998-2003.
- [896] Chan MF, Sack R, Quigley DA, Sathe S, Vijmasi T, Li S, et al. Membrane array analysis of tear proteins in ocular cicatricial pemphigoid. *Optom Vis Sci* 2011;88:1005-9.
- [897] Letko E, Papaliodis DN, Papaliodis GN, Daoud YJ, Ahmed AR, Foster CS. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a review of the literature. *Ann*

- Allergy Asthma Immunol 2005;94:419-36. quiz 436-448, 456.
- [898] Tyagi S, Bhol K, Natarajan K, Livir-Rallatos C, Foster CS, Ahmed AR. Ocular cicatricial pemphigoid antigen: partial sequence and biochemical characterization. *Proc Natl Acad Sci U. S. A* 1996;93:14714-9.
- [899] Ahmed M, Zein G, Khawaja F, Foster CS. Ocular cicatricial pemphigoid: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Prog Retin Eye Res* 2004;23:579-92.
- [900] Merchant S, Weinstein M. Pemphigus vulgaris: the eyes have it. *Pediatrics* 2003;112:183-5.
- [901] Amagai M. Autoimmunity against desmosomal cadherins in pemphigus. *J Dermatol Sci* 1999;20:92-102.
- [902] Scully C, Challacombe SJ. Pemphigus vulgaris: update on etiopathogenesis, oral manifestations, and management. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13: 397-408.
- [903] Hodak E, Kremer I, David M, Hazaz B, Rothen A, Feuerman P, et al. Conjunctival involvement in pemphigus vulgaris: a clinical, histopathological and immunofluorescence study. *Br J Dermatol* 1990;123:615-20.
- [904] Guzey M, Ozardali I, Basar E, Aslan G, Satici A, Karadede S. A survey of trachoma: the histopathology and the mechanism of progressive cicatrization of eyelid tissues. *Ophthalmologica* 2000;214:277-84.
- [905] al-Rajhi AA, Hidayat A, Nasr A, al-Faran M. The histopathology and the mechanism of entropion in patients with trachoma. *Ophthalmology* 1993;100:1293-6.
- [906] Hu VH, Holland MJ, Cree IA, Pullin J, Weiss HA, Massae P, et al. In vivo confocal microscopy and histopathology of the conjunctiva in trachomatous scarring and normal tissue: a systematic comparison. *Br J Ophthalmol* 2013;97:1333-7.
- [907] White ML, Chodosh J, Jang J, Dohlman C. Incidence of Stevens-Johnson Syndrome and Chemical Burns to the Eye. *Cornea* 2015;34:1527-33.
- [908] Roper-Hall MJ. A retrospective study of eye injuries. *Ophthalmologica* 1969;1-3:12-27.
- [909] Wagoner MD. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. *Surv Ophthalmol* 1997;41:275-313.
- [910] Dua HS, King AJ, Joseph A. A new classification of ocular surface burns. *Br J Ophthalmol* 2001;85:1379-83.
- [911] Bagley DM, Casterton PL, Dressler WE, Edelhofer HF, Kruszewski FH, McCulley JP, et al. Proposed new classification scheme for chemical injury to the human eye. *Regul Toxicol Pharmacol* 2006;45:206-13.
- [912] Gupta N, Kalaivani M, Tandon R. Comparison of prognostic value of Roper Hall and Dua classification systems in acute ocular burns. *Br J Ophthalmol* 2011;95:194-8.
- [913] Volkov VV, Brzhetskii VV, Gladkikh AF. The diagnosis and treatment of the dry eye syndrome of burn etiology. *Oftalmol Zh* 1990;328-30.
- [914] Beuerman RW, Schimmelpennig B. Sensory denervation of the rabbit cornea affects epithelial properties. *Exp Neurol* 1980;69:196-201.
- [915] Blanco-Mezquita T, Martinez-Garcia C, Proenca R, Zieske JD, Bonini S, Lambiase A, et al. Nerve growth factor promotes corneal epithelial migration by enhancing expression of matrix metalloproteinase-9. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:3880-90.
- [916] Shaheen BS, Bakir M, Jain S. Corneal nerves in health and disease. *Surv Ophthalmol* 2014;59:263-85.
- [917] Patel M, Fraunfelder FW. Toxicity of topical ophthalmic anesthetics. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2013;9:983-8.
- [918] Chao C, Golebiowski B, Stapleton F. The role of corneal innervation in LASIK-induced neuropathic dry eye. *Ocul Surf* 2014;12:32-45.
- [919] Benitez-del-Castillo JM, del Rio T, Iradier T, Hernandez JL, Castillo A, Garcia-Sanchez J. Decrease in tear secretion and corneal sensitivity after laser in situ keratomileusis. *Cornea* 2001;20:30-2.
- [920] Battat L, Macri A, Dursun D, Pflugfelder SC. Effects of laser in situ keratomileusis on tear production, clearance, and the ocular surface. *Ophthalmology* 2001;108:1230-5.
- [921] Muller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res* 2003;76:521-42.
- [922] Nettune GR, Pflugfelder SC. Post-LASIK tear dysfunction and dysesthesia. *Ocul Surf* 2010;8:135-45.
- [923] De Paiva CS, Chen Z, Koch DD, Hamill MB, Manuel FK, Hassan SS, et al. The incidence and risk factors for developing dry eye after myopic LASIK. *Am J Ophthalmol* 2006;141:438-45.
- [924] Raouf D, Pineda R. Dry eye after laser in-situ keratomileusis. *Semin Ophthalmol* 2014;29:358-62.
- [925] Lee JB, Ryu CH, Kim J, Kim EK, Kim HB. Comparison of tear secretion and tear film instability after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2000;26:1326-31.
- [926] Wilson SE. Laser in situ keratomileusis-induced (presumed) neurotrophic epitheliopathy. *Ophthalmology* 2001;108:1082-7.
- [927] Bonini S, Rama P, Olzi D, Lambiase A. Neurotrophic keratitis. *Eye (Lond)* 2003;17:989-95.
- [928] Harding SP, Lipton JR, Wells JC. Natural history of herpes zoster ophthalmicus: predictors of postherpetic neuralgia and ocular involvement. *Br J Ophthalmol* 1987;71:353-8.
- [929] Ljubimov AV, Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res* 2015;49:17-45.
- [930] Chikama T, Fukuda K, Morishige N, Nishida T. Treatment of neurotrophic keratopathy with substance-P-derived peptide (FGLM) and insulin-like growth factor I. *Lancet* 1998;351:1783-4.
- [931] Lambiase A, Rama P, Bonini S, Caprioglio G, Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for corneal neurotrophic ulcers. *N Engl J Med* 1998;338: 1174-80.
- [932] Bonini S, Lambiase A, Rama P, Caprioglio G, Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for neurotrophic keratitis. *Ophthalmology* 2000;107: 1347-51. discussion 1351-1342.
- [933] Nichols KK, Redfern RL, Jacob JT, Nelson JD, Fonn D, Forstot SL, et al. The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: report of the definition and classification subcommittee. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2013;54. TFOS14-19.
- [934] Tamura M, Murata N, Hayashi M, Regis J. Injury of the lacrimal component of the nervus intermedius function after radiosurgery versus microsurgery. *Neurochirurgie* 2004;50:338-44.
- [935] Ayberg G, Ozveren MF, Uzum N, Tosun O, Akcay EK. Cellular schwannoma of the greater superficial petrosal nerve presenting with abducens nerve palsy and xerophthalmia: case report. *Neurosurgery* 2008;63:E813-4. discussion E4.
- [936] Ichimura S, Yoshida K, Sutiono AB, Horiguchi T, Sasaki H, Kawase T. Greater petrosal nerve schwannomas-analysis of four cases and review of the literature. *Neurosurg Rev* 2010;33:477-82.
- [937] Wong J, Lan W, Ong LM, Tong L. Non-hormonal systemic medications and dry eye. *Ocul Surf* 2011;9:212-26.
- [938] Fraunfelder FT, Sciubba JJ, Mathers WD. The role of medications in causing dry eye. *J Ophthalmol* 2012;2012:285851.
- [939] Gu Q, Dillon CF, Burt VL. Prescription drug use continues to increase: U.S. prescription drug data for 2007-2008. In: *Statistics NCHH, editor. NCHS data brief, no 42. Hyattsville, MD; 2010.*
- [940] Moss SE, Klein R, Klein BE. Long-term incidence of dry eye in an older population. *Optom Vis Sci* 2008;85:668-74.
- [941] Gold-von Simson G, Axelrod FB. Familial dysautonomia: update and recent advances. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2006;36:218-37.
- [942] Grandas F, Elston J, Quinn N, Marsden CD. Blepharospasm: a review of 264 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988;51:767-72.
- [943] Lu R, Huang R, Li K, Zhang X, Yang H, Quan Y, et al. The influence of benign essential blepharospasm on dry eye disease and ocular inflammation. *Am J Ophthalmol* 2014;157:591-7. e591-592.
- [944] Park DI, Shin HM, Lee SY, Lew H. Tear production and drainage after botulinum toxin A injection in patients with essential blepharospasm. *Acta Ophthalmol* 2013;91:e108-112.
- [945] Tsubota K, Fujihara T, Kaido M, Mori A, Mimura M, Kato M. Dry eye and Meige's syndrome. *Br J Ophthalmol* 1997;81:439-42.
- [946] Frueh BR, Musch DC, Bersani TA. Effects of eyelid protractor excision for the treatment of benign essential blepharospasm. *Am J Ophthalmol* 1992;113: 681-6.
- [947] Arthurs B, Flanders M, Codere F, Gauthier S, Dresner S, Stone L. Treatment of blepharospasm with medication, surgery and type A botulinum toxin. *Can J Ophthalmol* 1987;22:24-8.
- [948] Gillum WN, Anderson RL. Blepharospasm surgery. An anatomical approach. *Arch Ophthalmol* 1981;99:1056-62.
- [949] Silveira-Moriyama L, Goncalves LR, Chien HF, Barbosa ER. Botulinum toxin A in the treatment of blepharospasm: a 10-year experience. *Arq Neuro-psiquiatr* 2005;63:221-4.
- [950] Goebels M. Tear secretion and tear film function in insulin dependent diabetics. *Br J Ophthalmol* 2000;84:19-21.
- [951] Lv S, Cheng J, Sun A, Li J, Wang W, Guan G, et al. Mesenchymal stem cells transplantation ameliorates glomerular injury in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats via inhibiting oxidative stress. *Diabetes Res Clin Pract* 2014;104:143-54.
- [952] Dogru M, Katakami C, Inoue M. Tear function and ocular surface changes in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Ophthalmology* 2001;108:586-92.

- [953] Eagle Jr RC, Font RL, Fine BS. The basement membrane exfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1979;97:510-5.
- [954] Roh YB, Ishibashi T, Ito N, Inomata H. Alteration of microfibrils in the conjunctiva of patients with exfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1987;105: 978-82.
- [955] Kozobolis VP, Detorakis ET, Tsopakakis GM, Pallikaris IG. Evaluation of tear secretion and tear film stability in pseudoexfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Scand* 1999;77:406-9.
- [956] Kozobolis VP, Christodoulakis EV, Naoumidi II, Siganos CS, Detorakis ET, Pallikaris IG. Study of conjunctival goblet cell morphology and tear film stability in pseudoexfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;42:478-83.
- [957] Arita R, Itoh K, Inoue K, Kuchiba A, Yamaguchi T, Amano S. Contact lens wear is associated with decrease of meibomian glands. *Ophthalmology* 2009;116: 379-84.
- [958] Den S, Shimizu K, Ikeda T, Tsubota K, Shimmura S, Shimazaki J. Association between meibomian gland changes and aging, sex, or tear function. *Cornea* 2006;25:651-5.
- [959] Arita R, Itoh K, Inoue K, Amano S. Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. *Ophthalmology* 2008;115:911-5.
- [960] Nien CJ, Massei S, Lin G, Nabavi C, Tao J, Brown DJ, et al. Effects of age and dysfunction on human meibomian glands. *Arch Ophthalmol* 2011;129: 462-9.
- [961] Sullivan DA, Sullivan BD, Ullman MD, Rocha EM, Krenzer KL, Cermak JM, et al. Androgen influence on the meibomian gland. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3732-42.
- [962] Worda C, Nepp J, Huber JC, Sator MO. Treatment of keratoconjunctivitis sicca with topical androgen. *Maturitas* 2001;37:209-12.
- [963] Henriquez AS, Korb DR. Meibomian glands and contact lens wear. *Br J Ophthalmol* 1981;65:108-11.
- [964] Korb DR, Henriquez AS. Meibomian gland dysfunction and contact lens intolerance. *J Am Optom Assoc* 1980;51:243-51.
- [965] Mathers WD. Ocular evaporation in meibomian gland dysfunction and dry eye. *Ophthalmology* 1993;100:347-51.
- [966] McCulley JP, Dougherty JM, Deneau DG. Classification of chronic blepharitis. *Ophthalmology* 1982;89:1173-80.
- [967] Jung JW, Park SY, Kim JS, Kim EK, Seo KY, Kim TI. Analysis of Factors Associated With the Tear Film Lipid Layer Thickness in Normal Eyes and Patients With Dry Eye Syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:4076-83.
- [968] Bron AJ, Tiffany JM, Gouveia SM, Yokoi N, Voon LW. Functional aspects of the tear film lipid layer. *Exp Eye Res* 2004;78:347-60.
- [969] Heiligenhaus A, Koch JM, Kemper D, Kruse FE, Waubke TN. [Therapy of dry eye disorders]. *Klin Monbl Augenheilkd* 1994;204:162-8.
- [970] Nichols KK, Foulks GN, Bron AJ, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: executive summary. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1922-9.
- [971] Chhadva P, McClellan AL, Alabiad CR, Feuer WJ, Batawi H, Galor A. Impact of Eyelid Laxity on Symptoms and Signs of Dry Eye Disease. *Cornea* 2016;35: 531-5.
- [972] McCulley JP, Sciallis GF. Meibomian keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 1977;84:788-93.
- [973] Jester JV, Nicolaides N, Smith RE. Meibomian gland dysfunction. I. Keratin protein expression in normal human and rabbit meibomian glands. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:927-35.
- [974] Ong BL, Hodson SA, Wigham T, Miller F, Larke JR. Evidence for keratin proteins in normal and abnormal human meibomian fluids. *Curr Eye Res* 1991;10:1113-9.
- [975] Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, et al. Human meibum lipid conformation and thermodynamic changes with meibomian-gland dysfunction. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:3805-17.
- [976] Straatsma BR. Cystic degeneration of the meibomian glands. *AMA Arch Ophthalmol* 1959;61:918-27.
- [977] Olami Y, Zajicek G, Cogan M, Gnessin H, Pe'er J. Turnover and migration of meibomian gland cells in rats' eyelids. *Ophthalmic Res* 2001;33:170-5.
- [978] Pult H, Riede-Pult BH, Nichols JJ. Relation between upper and lower lids' meibomian gland morphology, tear film, and dry eye. *Optom Vis Sci* 2012;89:E310-5.
- [979] Yin Y, Gong L. Uneven Meibomian Gland Dropout Over the Tarsal Plate and its Correlation With Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* 2015;34: 1200-5.
- [980] Finis D, Ackermann P, Pischel N, et al. Evaluation of Meibomian Gland Dysfunction and Local Distribution of Meibomian Gland Atrophy by Non-contact Infrared Meibography. *Curr Eye Res* 2015;40:982-9.
- [981] Ban Y, Shimazaki-Den S, Tsubota K, Shimazaki J. Morphological evaluation of meibomian glands using noncontact infrared meibography. *Ocul Surf* 2013;11:47-53.
- [982] Eom Y, Lee JS, Kang SY, Kim HM, Song JS. Correlation between quantitative measurements of tear film lipid layer thickness and meibomian gland loss in patients with obstructive meibomian gland dysfunction and normal controls. *Am J Ophthalmol* 2013;155:1104-10. e1102.
- [983] Ji YW, Lee J, Lee H, Seo KY, Kim EK, Kim TI. Automated Measurement of Tear Film Dynamics and Lipid Layer Thickness for Assessment of Non-Sjogren Dry Eye Syndrome With Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* 2017;36: 176-82.
- [984] Bron AJ, Benjamin L, Snibson GR. Meibomian gland disease. Classification and grading of lid changes. *Eye (Lond)* 1991;5(Pt 4):395-411.
- [985] Matsumoto Y, Shigeno Y, Sato EA, et al. The evaluation of the treatment response in obstructive meibomian gland disease by in vivo laser confocal microscopy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;247:821-9.
- [986] Mathers WD, Shields WJ, Sachdev MS, Petroll WM, Jester JV. Meibomian gland dysfunction in chronic blepharitis. *Cornea* 1991;10:277-85.
- [987] Arita R, Itoh K, Maeda S, Maeda K, Tomidokoro A, Amano S. Efficacy of diagnostic criteria for the differential diagnosis between obstructive meibomian gland dysfunction and aqueous deficiency dry eye. *Jpn J Ophthalmol* 2010;54:387-91.
- [988] Yokoi N, Mossa F, Tiffany JM, Bron AJ. Assessment of meibomian gland function in dry eye using meibometry. *Arch Ophthalmol* 1999;117:723-9.
- [989] Yokoi N, Takehisa Y, Kinoshita S. Correlation of tear lipid layer interference patterns with the diagnosis and severity of dry eye. *Am J Ophthalmol* 1996;122:818-24.
- [990] Mathers WD, Daley TE. Tear flow and evaporation in patients with and without dry eye. *Ophthalmology* 1996;103:664-9.
- [991] Tomlinson A, Khanal S. Assessment of tear film dynamics: quantification approach. *Ocul Surf* 2005;3:81-95.
- [992] Lienert JP, Tarko L, Uchino M, Christen WG, Schaumberg DA. Long-term Natural History of Dry Eye Disease from the Patient's Perspective. *Ophthalmology* 2016;123:425-33.
- [993] Korb DR, Blackie CA. Meibomian gland diagnostic expressibility: correlation with dry eye symptoms and gland location. *Cornea* 2008;27:1142-7.
- [994] Blackie CA, Solomon JD, Greiner JV, Holmes M, Korb DR. Inner eyelid surface temperature as a function of warm compress methodology. *Optom Vis Sci* 2008;85:675-83.
- [995] Franck C. Fatty layer of the precorneal film in the 'office eye syndrome'. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1991;69:737-43.
- [996] Franck C, Palmvang IB. Break-up time and lissamine green epithelial damage in 'office eye syndrome'. Six-month and one-year follow-up investigations. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1993;71:62-4.
- [997] Fenga C, Aragona P, Di Nola C, Spinella R. Comparison of ocular surface disease index and tear osmolality as markers of ocular surface dysfunction in video terminal display workers. *Am J Ophthalmol* 2014;158:41-8. e42.
- [998] Schlote T, Kadner G, Freudenthaler N. Marked reduction and distinct patterns of eye blinking in patients with moderately dry eyes during video display terminal use. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;42:306-12.
- [999] Tung CI, Perin AF, Gumus K, Pflugfelder SC. Tear meniscus dimensions in tear dysfunction and their correlation with clinical parameters. *Am J Ophthalmol* 2014;157:301-10. e301.
- [1000] Yokoi N, Komuro A. Non-invasive methods of assessing the tear film. *Exp Eye Res* 2004;78:399-407.
- [1001] Ibrahim OM, Dogru M, Takano Y, et al. Application of visante optical coherence tomography tear meniscus height measurement in the diagnosis of dry eye disease. *Ophthalmology* 2010;117:1923-9.
- [1002] Arita R, Morishige N, Shirakawa R, Sato Y, Amano S. Effects of Eyelid Warming Devices on Tear Film Parameters in Normal Subjects and Patients with Meibomian Gland Dysfunction. *Ocul Surf* 2015;13:321-30.
- [1003] Fu YA. Ocular manifestation of polychlorinated biphenyls intoxication. *Am J Ind Med* 1984;5:127-32.
- [1004] McCulley JP, Shine WE. Meibomian secretions in chronic blepharitis. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:319-26.
- [1005] Auw-Haedrich C, Reinhard T. Chronic blepharitis. Pathogenesis, clinical features, and therapy. *Ophthalmologie* 2007;104:817-26. quiz 827-818.
- [1006] Kaercher T, Brewitt H. Blepharitis. *Ophthalmologie* 2004;101:1135-47. quiz 1148.
- [1007] McCulley JP, Dougherty JM. Bacterial aspects of chronic blepharitis. *Trans Ophthalmol Soc U. K* 1986;105(Pt 3):314-8.
- [1008] Dougherty JM, McCulley JP. Analysis of the free fatty acid component of meibomian secretions in chronic blepharitis. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1986;27:52-6.
- [1009] Bron AJ, Tiffany JM. The meibomian glands and tear film lipids. Structure, function,

- and control. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:281-95.
- [1010] Watters GA, Turnbull PR, Swift S, Petty A, Craig JP. Ocular surface micro-biome in meibomian gland dysfunction in Auckland, New Zealand. *Clin Exp Ophthalmol* 2016;45:105-11.
- [1011] Suzuki T, Teramukai S, Kinoshita S. Meibomian glands and ocular surface inflammation. *Ocul Surf* 2015;13:133-49.
- [1012] Czepita D, Kuzna-Grygiel W, Czepita M, Grobelny A. Demodex folliculorum and Demodex brevis as a cause of chronic marginal blepharitis. *Ann Acad Med Stetin* 2007;53:63-7. discussion 67.
- [1013] Lacey N, Kavanagh K, Tseng SC. Under the lash: Demodex mites in human diseases. *Biochem (Lond)* 2009;31:2-6.
- [1014] Ng A, Bitton E, et al. Demodex infestation of the eyelash. *Contact Lens Spectr* 2014;29:36-41.
- [1015] Gao YY, Di Pascuale MA, Li W, et al. High prevalence of Demodex in eye-lashes with cylindrical dandruff. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2005;46: 3089-94.
- [1016] Randon M, Liang H, El Hamdaoui M, et al. In vivo confocal microscopy as a novel and reliable tool for the diagnosis of Demodex eyelid infestation. *Br J Ophthalmol* 2015;99:336-41.
- [1017] Geerling G, Tauber J, Baudouin C, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on management and treatment of meibomian gland dysfunction. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:2050-64.
- [1018] Cheng AM, Sheha H, Tseng SC. Recent advances on ocular Demodex infestation. *Curr Opin Ophthalmol* 2015;26:295-300.
- [1019] Bron AJ, Mengher LS. Congenital deficiency of meibomian glands. *Br J Ophthalmol* 1987;71:312-4.
- [1020] Erickson RP, Dagenais SL, Caulder MS, et al. Clinical heterogeneity in lymphoedema-distichiasis with FOXC2 truncating mutations. *J Med Genet* 2001;38:761-6.
- [1021] Narayanan S, Miller WL, McDermott AM. Expression of human beta-defensins in conjunctival epithelium: relevance to dry eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:3795-801.
- [1022] Di Iorio E, Kaye SB, Ponzin D, et al. Limbal stem cell deficiency and ocular phenotype in ectrodactyly-ectodermal dysplasia-clefting syndrome caused by p63 mutations. *Ophthalmology* 2012;119:74-83.
- [1023] Lin AN, Murphy F, Brodie SE, Carter DM. Review of ophthalmic findings in 204 patients with epidermolysis bullosa. *Am J Ophthalmol* 1994;118: 384-90.
- [1024] Fine JD, Eady RA, Bauer EA, et al. The classification of inherited epidermolysis bullosa (EB): Report of the Third International Consensus Meeting on Diagnosis and Classification of EB. *J Am Acad Dermatol* 2008;58:931-50.
- [1025] McDonnell PJ, Schofield OM, Spalton DJ, Eady RA. Eye involvement in junctional epidermolysis bullosa. *Arch Ophthalmol* 1989;107:1635-7.
- [1026] McDonnell PJ, Schofield OM, Spalton DJ, Mayou BJ, Eady RA. The eye in dystrophic epidermolysis bullosa: clinical and immunopathological findings. *Eye (Lond)* 1989;3(Pt 1):79-83.
- [1027] McDonnell PJ, Spalton DJ. The ocular signs and complications of epidermolysis bullosa. *J R Soc Med* 1988;81:576-8.
- [1028] Zierhut M, Thiel HJ, Weidle EG, Steuhl KP, Sonnichsen K, Schaumburg-Lever G. Ocular involvement in epidermolysis bullosa acquisita. *Arch Ophthalmol* 1989;107:398-401.
- [1029] Tong L, Hodgkins PR, Denyer J, et al. The eye in epidermolysis bullosa. *Br J Ophthalmol* 1999;83:323-6.
- [1030] Jones SM, Smith KA, Jain M, Mellerio JE, Martinez A, Nischal KK. The Frequency of Signs of Meibomian Gland Dysfunction in Children with Epidermolysis Bullosa. *Ophthalmology* 2016;123:991-9.
- [1031] Kiritsi D, Has C, Bruckner-Tuderman L. Laminin 332 in junctional epidermolysis bullosa. *Cell Adh Migr* 2013;7:135-41.
- [1032] Adamis AP, Schein OD, Kenyon KR. Anterior corneal disease of epidermolysis bullosa simplex. *Arch Ophthalmol* 1993;111:499-502.
- [1033] Gans LA. Eye lesions of epidermolysis bullosa. Clinical features, management, and prognosis. *Arch Dermatol* 1988;124:762-4.
- [1034] Fine JD, Johnson LB, Weiner M, et al. Eye involvement in inherited epidermolysis bullosa: experience of the National Epidermolysis Bullosa Registry. *Am J Ophthalmol* 2004;138:254-62.
- [1035] Fong K, Takeichi T, Liu L, et al. Ichthyosis follicularis, atrichia, and photophobia syndrome associated with a new mutation in MBTPS2. *Clin Exp Dermatol* 2015;40:529-32.
- [1036] Eramo LR, Esterly NB, Zieserl EJ, Stock EL, Herrmann J. Ichthyosis follicularis with alopecia and photophobia. *Arch Dermatol* 1985;121:1167-74.
- [1037] Keyvani K, Paulus W, Traupe H, et al. Ichthyosis follicularis, alopecia, and photophobia (IFAP) syndrome: clinical and neuropathological observations in a 33-year-old man. *Am J Med Genet* 1998;78:371-7.
- [1038] Cursiefen C, Schlotzer-Schrehardt U, Holbach LM, Pfeiffer RA, Naumann GO. Ocular findings in ichthyosis follicularis, atrichia, and photophobia syndrome. *Arch Ophthalmol* 1999;117:681-4.
- [1039] Macleod J. Three cases of "ichthyosis follicularis" associated with baldness. *Br J Dermatol* 1909;21:165-89.
- [1040] Oeffner F, Martinez F, Schaffer J, et al. Intronic mutations affecting splicing of MBTPS2 cause ichthyosis follicularis, alopecia and photophobia (IFAP) syndrome. *Exp Dermatol* 2011;20:447-9.
- [1041] Oeffner F, Fischer G, Happle R, et al. IFAP syndrome is caused by deficiency in MBTPS2, an intramembrane zinc metalloprotease essential for cholesterol homeostasis and ER stress response. *Am J Hum Genet* 2009;84: 459-67.
- [1042] Aten E, Brasz LC, Bornholdt D, et al. Keratosis Follicularis Spinulosa Decalvans is caused by mutations in MBTPS2. *Hum Mutat* 2010;31:1125-33.
- [1043] Kymionis GD, Klados NE, Kontadakis GA, Mikropoulos DG. Treatment of superior limbic keratoconjunctivitis with topical tacrolimus 0.03% ointment. *Cornea* 2013;32:1499-501.
- [1044] Kymionis GD, Plaka A, Kontadakis GA, Astyrakakis N. Treatment of corneal dellen with a large diameter soft contact lens. *Cont Lens Anterior Eye* 2011;34:290-2.
- [1045] Rees TD, Jelks GW. Blepharoplasty and the dry eye syndrome: guidelines for surgery? *Plast Reconstr Surg* 1981;68:249-52.
- [1046] Shah CT, Blount AL, Nguyen EV, Hassan AS. Cranial nerve seven palsy and its influence on meibomian gland function. *Ophthalm Plast Reconstr Surg* 2012;28:166-8.
- [1047] Takahashi Y, Kakizaki H. Meibomian Gland Dysfunction in Cranial Nerve VII Palsy. *Ophthalm Plast Reconstr Surg* 2015;31:179-81.
- [1048] Wan T, Jin X, Lin L, Xu Y, Zhao Y. Incomplete Blinking May Attribute to the Development of Meibomian Gland Dysfunction. *Curr Eye Res* 2016;41: 179-85.
- [1049] Gilbard JP, Farris RL. Ocular surface drying and tear film osmolarity in thyroid eye disease. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1983;61:108-16.
- [1050] Kim YS, Kwak AY, Lee SY, Yoon JS, Jang SY. Meibomian gland dysfunction in Graves' orbitopathy. *Can J Ophthalmol* 2015;50:278-82.
- [1051] Jang SY, Lee SY, Yoon JS. Meibomian gland dysfunction in longstanding prosthetic eye wearers. *Br J Ophthalmol* 2013;97:398-402.
- [1052] Chang M, Lee H, Park MS, Baek S. The clinical characteristics and new classification of sticky eyelid syndrome in East Asian patients. *Acta Ophthalmol* 2014;92:e667-670.
- [1053] Reddy VC, Patel SV, Hodge DO, Leavitt JA. Corneal sensitivity, blink rate, and corneal nerve density in progressive supranuclear palsy and Parkinson disease. *Cornea* 2013;32:631-5.
- [1054] Magalhaes M, Wenning GK, Daniel SE, Quinn NP. Autonomic dysfunction in pathologically confirmed multiple system atrophy and idiopathic Parkinson's disease—a retrospective comparison. *Acta Neurol Scand* 1995;91: 98-102.
- [1055] Okun MS, McDonald WM, DeLong MR. Refractory nonmotor symptoms in male patients with Parkinson disease due to testosterone deficiency: a common unrecognized comorbidity. *Arch Neurol* 2002;59:807-11.
- [1056] Mathers WD, Billborough M. Meibomian gland function and giant papillary conjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 1992;114:188-92.
- [1057] Bonini S, Bonini S, Schiavone M, Centofanti M, Allansmith MR, Bucci MG. Conjunctival hyperresponsiveness to ocular histamine challenge in patients with vernal conjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:103-7.
- [1058] Ciprandi G, Buscaglia S, Pesce G, et al. Effects of conjunctival hyperosmolar challenge in allergic subjects and normal controls. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;104:92-6.
- [1059] Leonardi A, Lanier B. Urban eye allergy syndrome: a new clinical entity? *Curr Med Res Opin* 2008;24:2295-302.
- [1060] Mourao EM, Rosario NA, Silva L, Shimakura SE. Ocular symptoms in nonspecific conjunctival hyperreactivity. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011;107:29-34.
- [1061] Rummenie VT, Matsumoto Y, Dogru M, et al. Tear cytokine and ocular surface alterations following brief passive cigarette smoke exposure. *Cytokine* 2008;43:200-8.
- [1062] Uchino Y, Kawakita T, Ishii T, Ishii N, Tsubota K. A new mouse model of dry eye disease: oxidative stress affects functional decline in the lacrimal gland. *Cornea* 2012;31(Suppl 1):S63-7.
- [1063] Zheng Q, Ren Y, Reinach PS, et al. Reactive oxygen species activated NLRP3 inflammasomes initiate inflammation in hyperosmolarity stressed human corneal epithelial cells and environment-induced dry eye patients. *Exp Eye Res* 2015;134:133-40.
- [1064] Aragona P, Romeo GF, Puzzolo D, Micali A, Ferreri G. Impression cytology of the conjunctival epithelium in patients with vernal conjunctivitis. *Eye (Lond)* 1996;10(Pt

- 1):82-5.
- [1065] Bielory L. Ocular allergy and dry eye syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004;4:421-4.
- [1066] Lemp MA, Crews LA, Bron AJ, Foulks GN, Sullivan BD. Distribution of aqueous-deficient and evaporative dry eye in a clinic-based patient cohort: a retrospective study. *Cornea* 2012;31:472-8.
- [1067] Enriquez-de-Salamanca A, Bonini S, Calonge M. Molecular and cellular biomarkers in dry eye disease and ocular allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012;12:523-33.
- [1068] Dogru M, Gunay M, Celik G, Aktas A. Evaluation of the tear film instability in children with allergic diseases. *Cutan Ocul Toxicol* 2016;35:49-52.
- [1069] Toda I, Shimazaki J, Tsubota K. Dry eye with only decreased tear break-up time is sometimes associated with allergic conjunctivitis. *Ophthalmology* 1995;102:302-9.
- [1070] Bonini S, Mantelli F, Moretti C, Lambiasi A, Bonini S, Micera A. Itchy-dry eye associated with polycystic ovary syndrome. *Am J Ophthalmol* 2007;143: 763-71.
- [1071] Fuchs E, Green H. Regulation of terminal differentiation of cultured human keratinocytes by vitamin A. *Cell* 1981;25:617-25.
- [1072] Checkley W, West Jr KP, Wise RA, et al. Maternal vitamin A supplementation and lung function in offspring. *N Engl J Med* 2010;362:1784-94.
- [1073] Semba RD, de Pee S, Panagides D, Poly O, Bloem MW. Risk factors for xerophthalmia among mothers and their children and for mother-child pairs with xerophthalmia in Cambodia. *Arch Ophthalmol* 2004;122: 517-23.
- [1074] Demissie T, Ali A, Mekonen Y, Haider J, Umeta M. Magnitude and distribution of vitamin A deficiency in Ethiopia. *Food Nutr Bull* 2010;31:234-41.
- [1075] Sommer A. Xerophthalmia and vitamin A status. *Prog Retin Eye Res* 1998;17:9-31.
- [1076] Hess AF, Kirby DB. The Incidence of Xerophthalmia and Night-Blindness in the United States-A Gauge of Vitamin A Deficiency. *Am J Public Health Nations Health* 1933;23:935-8.
- [1077] Sommer A, Green WR. Goblet cell response to vitamin A treatment for corneal xerophthalmia. *Am J Ophthalmol* 1982;94:213-5.
- [1078] Paton D, Mc LD. Bitot spots. *Am J Ophthalmol* 1960;50:568-74.
- [1079] Rodger FC, Saiduzzafar H, Grover AD, Fazal A. A reappraisal of the ocular lesion known as bitot's spot. *Br J Nutr* 1963;17:475-85.
- [1080] Ferrari G, Vigano M. Images in clinical medicine. Bitot's spot in vitamin A deficiency. *N Engl J Med* 2013;368. e29.
- [1081] Sommer A, Emran N, Tamba T. Vitamin A-responsive punctate keratopathy in xerophthalmia. *Am J Ophthalmol* 1979;87:330-3.
- [1082] Sommer A, Emran N. Tear production in vitamin A-responsive xerophthalmia. *Am J Ophthalmol* 1982;93:84-7.
- [1083] Hatchell DL, Sommer A. Detection of ocular surface abnormalities in experimental vitamin A deficiency. *Arch Ophthalmol* 1984;102:1389-93.
- [1084] Puangricharern V, Tseng SC. Cytological evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 1995;102:1476-85.
- [1085] Rao V, Friend J, Thoft RA, Underwood BA, Reddy PR. Conjunctival goblet cells and mitotic rate in children with retinol deficiency and measles. *Arch Ophthalmol* 1987;105:378-80.
- [1086] Kiorpes TC, Kim YC, Wolf G. Stimulation of the synthesis of specific glycoproteins in corneal epithelium by vitamin A. *Exp Eye Res* 1979;28:23-35.
- [1087] Hassell JR, Newsome DA. Vitamin A-induced alterations in corneal and conjunctival epithelial glycoprotein biosynthesis. *Ann N Y Acad Sci* 1981;359:358-65.
- [1088] Tei M, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Gipson IK. Vitamin A deficiency alters the expression of mucin genes by the rat ocular surface epithelium. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:82-8.
- [1089] Hori Y, Spurr-Michaud SJ, Russo CL, Argueso P, Gipson IK. Effect of retinoic acid on gene expression in human conjunctival epithelium: secretory phospholipase A2 mediates retinoic acid induction of MUC16. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:4050-61.
- [1090] Kim SW, Seo KY, Rhim T, Kim EK. Effect of retinoic acid on epithelial differentiation and mucin expression in primary human corneal limbal epithelial cells. *Curr Eye Res* 2012;37:33-42.
- [1091] Yamamoto Y, Yokoi N, Higashihara H, et al. Clinical characteristics of short tear film breakup time (BUT) -type dry eye. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2012;116:1137-43.
- [1092] Uchino M, Yokoi N, Uchino Y, et al. Prevalence of dry eye disease and its risk factors in visual display terminal users: the Osaka study. *Am J Ophthalmol* 2013;156:759-66.
- [1093] Kawashima M, Uchino M, Yokoi N, et al. Associations between subjective happiness and dry eye disease: a new perspective from the Osaka study. *PLoS One* 2015;10. e0123299.
- [1094] Kawashima M, Uchino M, Yokoi N, et al. The Association between Dry Eye Disease and Physical Activity as well as Sedentary Behavior: Results from the Osaka Study. *J Ophthalmol* 2014;2014:943786.
- [1095] Uchino Y, Uchino M, Yokoi N, et al. Alteration of tear mucin 5AC in office workers using visual display terminals: The Osaka Study. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:985-92.
- [1096] Shimazaki-Den S, Iseda H, Dogru M, Shimazaki J. Effects of diquafosol sodium eye drops on tear film stability in short BUT type of dry eye. *Cornea* 2013;32:1120-5.
- [1097] Koh S, Inoue Y, Sugimoto T, Maeda N, Nishida K. Effect of rebamipide ophthalmic suspension on optical quality in the short break-up time type of dry eye. *Cornea* 2013;32:1219-23.
- [1098] Koh S. Clinical utility of 3% diquafosol ophthalmic solution in the treatment of dry eyes. *Clin Ophthalmol* 2015;9:865-72.
- [1099] Munger KL, Levin LI, O'Reilly EJ, Falk KI, Ascherio A. Anti-Epstein-Barr virus antibodies as serological markers of multiple sclerosis: a prospective study among United States military personnel. *Mult Scler* 2011;17:1185-93.
- [1100] Simon KC, O'Reilly EJ, Munger KL, Finerty S, Morgan AJ, Ascherio A. Epstein-Barr virus neutralizing antibody levels and risk of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012;18:1185-7.
- [1101] Ascherio A, Munger KL. EBV and Autoimmunity. *Curr Top Microbiol Immunol* 2015;390:365-85.
- [1102] Pflugfelder SC, Beuerman R, Stern DA. Dry eye and ocular surface disorders. CRC Press; 2004.
- [1103] Kam WR, Liu Y, Ding J, Sullivan DA. Do Cyclosporine A, an IL-1 Receptor Antagonist, Uridine Triphosphate, Rebamipide, and/or Bimatoprost Regulate Human Meibomian Gland Epithelial Cells? *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:4287-94.
- [1104] Sacks EH, Wiczorek R, Jakobiec FA, Knowles 2nd DM. Lymphocytic sub-populations in the normal human conjunctiva. A monoclonal antibody study. *Ophthalmology* 1986;93:1276-83.
- [1105] Sacks E, Rutgers J, Jakobiec FA, Bonetti F, Knowles DM. A comparison of conjunctival and nonocular dendritic cells utilizing new monoclonal antibodies. *Ophthalmology* 1986;93:1089-97.
- [1106] Brissette-Storkus CS, Reynolds SM, Lepisto AJ, Hendricks RL. Identification of a novel macrophage population in the normal mouse corneal stroma. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:2264-71.
- [1107] Hamrah P, Chen L, Zhang Q, Dana MR. Novel expression of vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR)-3 and VEGF-C on corneal dendritic cells. *Am J Pathol* 2003;163:57-68.
- [1108] Hamrah P, Huq SO, Liu Y, Zhang Q, Dana MR. Corneal immunity is mediated by heterogeneous population of antigen-presenting cells. *J Leukoc Biol* 2003;74:172-8.
- [1109] Hamrah P, Liu Y, Zhang Q, Dana MR. Alterations in corneal stromal dendritic cell phenotype and distribution in inflammation. *Arch Ophthalmol* 2003;121:1132-40.
- [1110] Hamrah P, Liu Y, Zhang Q, Dana MR. The corneal stroma is endowed with a significant number of resident dendritic cells. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:581-9.
- [1111] Hattori T, Chauhan SK, Lee H, et al. Characterization of Langerin-expressing dendritic cell subsets in the normal cornea. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:4598-604.
- [1112] Shull MM, Ormsby I, Kier AB, et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature* 1992;359:693-9.
- [1113] Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfin, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet* 2001;27:68-73.
- [1114] Sharma R, Zheng L, Guo X, Fu SM, Ju ST, Jarjour WN. Novel animal models for Sjogren's syndrome: expression and transfer of salivary gland dysfunction from regulatory T cell-deficient mice. *J Autoimmun* 2006;27: 289-96.
- [1115] Rahimy E, Pitcher III JD, Pangelinan SB, et al. Spontaneous autoimmune dacryoadenitis in aged CD25KO mice. *Am J Pathol* 2010;177:744-53. Epub 2010 Jun 2021.
- [1116] Jabs DA, Prendergast RA. Ocular inflammation in MRL/Mp-lpr/lpr mice. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:1944-7.
- [1117] Li S, Nikulina K, DeVoss J, et al. Small proline-rich protein 1B (SPRR1B) is a biomarker for squamous metaplasia in dry eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:34-41.
- [1118] Vosters JL, Landek-Salgado MA, Yin H, et al. Interleukin-12 induces salivary gland dysfunction in transgenic mice, providing a new model of Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2009;60:3633-41.
- [1119] Cha S, Nagashima H, Brown VB, Peck AB, Humphreys-Beher MG. Two NOD Idd-associated intervals contribute synergistically to the development of autoimmune

- exocrinopathy (Sjogren's syndrome) on a healthy murine background. *Arthritis Rheum* 2002;46:1390-8.
- [1120] Robinson CP, Yamachika S, Bounous DI, et al. A novel NOD-derived murine model of primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1998;41:150-6.
- [1121] You IC, Bian F, Volpe EA, de Paiva CS, Pflugfelder SC. Age-related conjunctival disease in the C57BL/6.NOD-Aec1Aec2 Mouse Model of Sjogren Syndrome develops independent of lacrimal dysfunction. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2015 Mar 10;2015. pii: IOVS-14-15668.
- [1122] Bulosan M, Pauley KM, Yo K, et al. Inflammatory caspases are critical for enhanced cell death in the target tissue of Sjogren's syndrome before disease onset. *Immunol Cell Biol* 2008;87:81-90.
- [1123] Gandhi NB, Su Z, Zhang X, et al. Dendritic cell-derived thrombospondin-1 is critical for the generation of the ocular surface Th17 response to desiccating stress. *J Leukoc Biol* 2013;94:1293-301.
- [1124] Tsubota K, Fujita H, Tadano K, et al. Improvement of lacrimal function by topical application of CyA in murine models of Sjogren's syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:101-10.
- [1125] Lieberman SM, Kreiger PA, Koretzky GA. Reversible lacrimal gland-protective regulatory T cell dysfunction underlies male-specific autoimmune dacryoadenitis in the nonobese diabetic mouse model of Sjogren syndrome. *Immunology* 2015;145:232-41.
- [1126] da Costa SR, Wu K, Veigh MM, et al. Male NOD mouse external lacrimal glands exhibit profound changes in the exocytotic pathway early in post-natal development. *Exp Eye Res* 2006;82:33-45.
- [1127] D'Alise AM, Auyeung V, Feuerer M, et al. The defect in T-cell regulation in NOD mice is an effect on the T-cell effectors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:19857-62.
- [1128] Skarstein K, Wahren M, Zaura E, Hattori M, Jonsson R. Characterization of T cell receptor repertoire and anti-Ro/SSA autoantibodies in relation to sialadenitis of NOD mice. *Autoimmunity* 1995;22:9-16.
- [1129] Xu H, Zhao Y, Li J, et al. Loss of NHE8 expression impairs ocular surface function in mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 2015;308:C79-87.
- [1130] de Paiva CS, Volpe EA, Gandhi NB, et al. Disruption of TGF-beta Signaling Improves Ocular Surface Epithelial Disease in Experimental Autoimmune Keratoconjunctivitis Sicca. *PLoS One* 2011;6. e29017. Epub 2011 Dec 29 2011.
- [1131] Yamachika S, Nanni JM, Nguyen KH, et al. Excessive synthesis of matrix metalloproteinases in exocrine tissues of NOD mouse models for Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 1998;25:2371-80.
- [1132] Husain-Krautter S, Kramer JM, Li W, Guo B, Rothstein TL. The osteopontin transgenic mouse is a new model for Sjogren's syndrome. *Clin Immunol* 2015;157:30-42.
- [1133] Song XJ, Li DQ, Farley W, et al. Neururin-deficient mice develop dry eye and keratoconjunctivitis Sicca. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44: 4223-9.
- [1134] Kotzin BL, Palmer E. Genetic contributions to lupus-like disease in NZB/ NZW mice. *Am J Med* 1988;85:29-31.
- [1135] Gilbard JP, Hanninen LA, Rothman RC, Kenyon KR. Lacrimal gland, cornea, and tear film in the NZB/NZW F1 hybrid mouse. *Curr Eye Res* 1987;6: 1237-48.
- [1136] Iwasa A, Arakaki R, Honma N, et al. Aromatase controls Sjogren syndrome-like lesions through monocyte chemotactic protein-1 in target organ and adipose tissue-associated macrophages. *Am J Pathol* 2015;185:151-61.
- [1137] McClellan AJ, Volpe EA, Zhang X, et al. Ocular Surface Disease and Dacryoadenitis in Aging C57BL/6 Mice. *Am J Pathol* 2014;184:631-43.
- [1138] Kojima T, Wakamatsu TH, Dogru M, et al. Age-related dysfunction of the lacrimal gland and oxidative stress: evidence from the Cu,Zn-superoxide dismutase-1 (Sod1) knockout mice. *Am J Pathol* 2012;180:1879-96.
- [1139] Ibrahim OM, Dogru M, Matsumoto Y, et al. Oxidative stress induced age dependent meibomian gland dysfunction in Cu, Zn-superoxide dismutase-1 (Sod1) knockout mice. *PLoS One* 2014;9. e99328.
- [1140] Shim GJ, Warner M, Kim HJ, et al. Aromatase-deficient mice spontaneously develop a lymphoproliferative autoimmune disease resembling Sjogren's syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:12628-33.
- [1141] Tsau C, Ito M, Gromova A, Hoffman MP, Meech R, Makarenkova HP. Barx2 and Fgf10 regulate ocular glands branching morphogenesis by controlling extracellular matrix remodeling. *Development* 2011;138:3307-17.
- [1142] Horsley V, O'Carroll D, Tooze R, et al. Blimp1 defines a progenitor population that governs cellular input to the sebaceous gland. *Cell* 2006;126: 597-609.
- [1143] House JS, Zhu S, Ranjan R, Linder K, Smart RC. C/EBPalpha and C/EBPbeta are required for Sebocyte differentiation and stratified squamous differentiation in adult mouse skin. *PLoS One* 2010;5. e9837.
- [1144] Mauris J, Dieckow J, Schob S, et al. Loss of CD147 results in impaired epithelial cell differentiation and malformation of the meibomian gland. *Cell Death Dis* 2015;6. e1726.
- [1145] Cui CY, Smith JA, Schlessinger D, Chan CC. X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia disruption yields a mouse model for ocular surface disease and resultant blindness. *Am J Pathol* 2005;167:89-95.
- [1146] Kuramoto T, Yokoe M, Hashimoto R, Hiai H, Serikawa T. A rat model of hypohidrotic ectodermal dysplasia carries a missense mutation in the Edaradd gene. *BMC Genet* 2011;12:91.
- [1147] Naito A, Yoshida H, Nishioka E, et al. TRAF6-deficient mice display hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:8766-71.
- [1148] Kenchegowda D, Swamynathan S, Gupta D, Wan H, Whitsett J, Swamynathan SK. Conditional disruption of mouse Klf5 results in defective eyelids with malformed meibomian glands, abnormal cornea and loss of conjunctival goblet cells. *Dev Biol* 2011;356:5-18.
- [1149] Meng Q, Mongan M, Carreira V, et al. Eyelid closure in embryogenesis is required for ocular adnexa development. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:7652-61.
- [1150] Thiboutot D, Sivarajah A, Gilliland K, Cong Z, Clawson G. The melanocortin 5 receptor is expressed in human sebaceous glands and rat preputial cells. *J Invest Dermatol* 2000;115:614-9.
- [1151] Huang J, Dattilo LK, Rajagopal R, et al. FGF-regulated BMP signaling is required for eyelid closure and to specify conjunctival epithelial cell fate. *Development* 2009;136:1741-50.
- [1152] Miyazaki M, Man WC, Ntambi JM. Targeted disruption of stearoyl-CoA desaturase1 gene in mice causes atrophy of sebaceous and meibomian glands and depletion of wax esters in the eyelid. *J Nutr* 2001;131:2260-8.
- [1153] Dahlhoff M, Camera E, Schafer M, et al. Sebaceous lipids are essential for water repulsion, protection against UVB-induced apoptosis and ocular integrity in mice. *Development* 2016;143:1823-31.
- [1154] Hayashi Y, Liu CY, Jester JJ, et al. Excess biglycan causes eyelid malformation by perturbing muscle development and TGF-alpha signaling. *Dev Biol* 2005;277:222-34.
- [1155] Zouboulis CC, Boschnakow A. Chronological ageing and photoageing of the human sebaceous gland. *Clin Exp Dermatol* 2001;26:600-7.
- [1156] Chang SH, Jobling S, Brennan K, Headon DJ. Enhanced Edar signalling has pleiotropic effects on craniofacial and cutaneous glands. *PLoS One* 2009;4. e7591.
- [1157] Cui CY, Darmowicz M, Ottolenghi C, et al. Inducible mEDA-A1 transgene mediates sebaceous gland hyperplasia and differential formation of two types of mouse hair follicles. *Hum Mol Genet* 2003;12:2931-40.
- [1158] Jong MC, Gijbels MJ, Dahlmans VE, et al. Hyperlipidemia and cutaneous abnormalities in transgenic mice overexpressing human apolipoprotein CI. *J Clin Invest* 1998;101:145-52.
- [1159] Plikus M, Wang WP, Liu J, Wang X, Jiang TX, Chuong CM. Morpho-regulation of ectodermal organs: integument pathology and phenotypic variations in K14-Noggin engineered mice through modulation of bone morphogenic protein pathway. *Am J Pathol* 2004;164:1099-114.
- [1160] Dong F, Liu CY, Yuan Y, et al. Perturbed meibomian gland and tarsal plate morphogenesis by excess TGFA in eyelid stroma. *Dev Biol* 2015;406: 147-57.
- [1161] Cascallana JL, Bravo A, Donet E, et al. Ectoderm-targeted overexpression of the glucocorticoid receptor induces hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Endocrinology* 2005;146:2629-38.
- [1162] Kiguchi K, Bol D, Carbajal S, et al. Constitutive expression of erbB2 in epidermis of transgenic mice results in epidermal hyperproliferation and spontaneous skin tumor development. *Oncogene* 2000;19:4243-54.
- [1163] Lin MH, Hsu FF, Miner JH. Requirement of fatty acid transport protein 4 for development, maturation, and function of sebaceous glands in a mouse model of ichthyosis prematurity syndrome. *J Biol Chem* 2013;288: 3964-76.
- [1164] Jester JV, Rajagopalan S, Rodrigues M. Meibomian gland changes in the rhino (hrhhrrh) mouse. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1988;29:1190-4.
- [1165] Park YG, Hayasaka S, Takagishi Y, Inouye M, Okumoto M, Oda S. Histological characteristics of the pelage skin of rough fur mice (C3H/HeJ-ruf/ruf). *Exp Anim* 2001;50:179-82.
- [1166] Hassemer EL, Endres B, Toonen JA, Ronchetti A, Dubielzig R, Sidjanin DJ. ADAM17 transactivates EGFR signaling during embryonic eyelid closure. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:132-40.
- [1167] Majumder K, Shawlot W, Schuster G, Harrison W, Elder FF, Overbeek PA. YAC rescue of loss of down mutations in mice. *Mamm Genome* 1998;9: 863-8.
- [1168] McMahon A, Lu H, Butovich IA. A role for ELOVL4 in the mouse meibomian gland and sebocyte cell biology. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2014;55: 2832-40.
- [1169] Toonen J, Liang L, Sidjanin DJ. Waved with open eyelids 2 (woe2) is a novel

- spontaneous mouse mutation in the protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 13 like (Ppp1r13) gene. *BMC Genet* 2012;13:76.
- [1170] Lu Q, Xin Y, Ye F, Foulks G, Li Q. 14-3-3sigma controls corneal epithelium homeostasis and wound healing. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52: 2389-96.
- [1171] Chan CC, Gery I, Kohn LD, Nussenblatt RB, Mozes E, Singer DS. Periocular inflammation in mice with experimental systemic lupus erythematosus. A new experimental blepharitis and its modulation. *J Immunol* 1995;154: 4830-5.
- [1172] Parfitt GJ, Xie Y, Geyfman M, Brown DJ, Jester JV. Absence of ductal hyperkeratinization in mouse age-related meibomian gland dysfunction (ARMGD). *Aging (Albany NY)* 2013;5:825-34.
- [1173] Tanaka H, Harauma A, Takimoto M, Moriguchi T. Association between very long chain fatty acids in the meibomian gland and dry eye resulting from n-3 fatty acid deficiency. *Prostagl Leukot Essent Fat Acids* 2015;97:1-6.
- [1174] Zhang X, Schaumburg CS, Coursey TG, et al. CD8(+) cells regulate the T helper-17 response in an experimental murine model of Sjogren syndrome. *Mucosal Immunol* 2014;7:417-27.
- [1175] Kawasaki S, Kawamoto S, Yokoi N, et al. Up-regulated gene expression in the conjunctival epithelium of patients with Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res* 2003;77:17-26.
- [1176] Jones DT, Monroy D, Ji Z, Pflugfelder SC. Alterations of ocular surface gene expression in Sjogren's syndrome. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:533-6.
- [1177] Jones DT, Monroy D, Ji Z, Atherton SS, Pflugfelder SC. Sjogren's syndrome: cytokine and Epstein-Barr viral gene expression within the conjunctival epithelium. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3493-504.
- [1178] Zhang C, Xi L, Zhao S, et al. Interleukin-1beta and tumour necrosis factor- alpha levels in conjunctiva of diabetic patients with symptomatic moderate dry eye: case-control study. *BMJ Open* 2016;6. e010979.
- [1179] Narayanan S, Miller WL, McDermott AM. Conjunctival cytokine expression in symptomatic moderate dry eye subjects. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:2445-50.
- [1180] Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, Afonso A, Monroy D. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjogren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 1999;19:201-11.
- [1181] Epstein SP, Gadaria-Rathod N, Wei Y, Maguire MG, Asbell PA. HLA-DR expression as a biomarker of inflammation for multicenter clinical trials of ocular surface disease. *Exp Eye Res* 2013;111:95-104.
- [1182] Baudouin C, Brignole F, Pisella PJ, De Jean MS, Goguel A. Flow cytometric analysis of the inflammatory marker HLA DR in dry eye syndrome: results from 12 months of randomized treatment with topical cyclosporin A. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:761-9.
- [1183] Brignole F, Pisella PJ, De Saint JM, Goldschild M, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in KCS: 6-month treatment with topical cyclosporin A. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:90-5.
- [1184] Brignole F, Pisella PJ, Goldschild M, De Saint JM, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1356-63.
- [1185] Sheppard Jr JD, Singh R, McClellan AJ, et al. Long-term Supplementation With n-6 and n-3 PUFAs Improves Moderate-to-Severe Keratoconjunctivitis Sicca: A Randomized Double-Blind Clinical Trial. *Cornea* 2013;32: 1297-304.
- [1186] Tsubota K, Fukagawa K, Fujihara T, et al. Regulation of human leukocyte antigen expression in human conjunctival epithelium. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:28-34.
- [1187] Tsubota K, Fujihara T, Saito K, Takeuchi T. Conjunctival epithelium expression of HLA-DR in dry eye patients. *Ophthalmologica* 1999;213: 16-9.
- [1188] Rolando M, Barabino S, Mingari C, Moretti S, Giuffrida S, Calabria G. Distribution of Conjunctival HLA-DR Expression and the Pathogenesis of Damage in Early Dry Eyes. *Cornea* 2005;24:951-4.
- [1189] Kunert KS, Tisdale AS, Stern ME, Smith JA, Gipson IK. Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Arch Ophthalmol* 2000;118:1489-96.
- [1190] Baudouin C, Liang H, Bremond-Gignac D, et al. CCR 4 and CCR 5 expression in conjunctival specimens as differential markers of T(H)1/T(H)2 in ocular surface disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:614-9.
- [1191] Versura P, Profazio V, Schiavi C, Campos EC. Hyperosmolar stress upregulates HLA-DR expression in human conjunctival epithelium in dry eye patients and in vitro models. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:5488-96.
- [1192] Yoon KC, Park CS, You IC, et al. Expression of CXCL9, -10, -11, and CXCR3 in the tear film and ocular surface of patients with dry eye syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:643-50.
- [1193] Gurdal C, Genc I, Sarac O, Gonul I, Takmaz T, Can I. Topical cyclosporine in thyroid orbitopathy-related dry eye: clinical findings, conjunctival epithelial apoptosis, and MMP-9 expression. *Curr Eye Res* 2010;35:771-7.
- [1194] Aragona P, Aguennouz M, Rania L, et al. Matrix metalloproteinase 9 and transglutaminase 2 expression at the ocular surface in patients with different forms of dry eye disease. *Ophthalmology* 2015;122:62-71.
- [1195] Wakamatsu TH, Dogru M, Matsumoto Y, et al. Evaluation of lipid oxidative stress status in Sjogren syndrome patients. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:201-10.
- [1196] Choi W, Lian C, Ying L, et al. Expression of Lipid Peroxidation Markers in the Tear Film and Ocular Surface of Patients with Non-Sjogren Syndrome: Potential Biomarkers for Dry Eye Disease. *Curr Eye Res* 2016;41:1143-9.
- [1197] Cejkova J, Ardan T, Jirsova K, et al. The role of conjunctival epithelial cell xanthine oxidoreductase/xanthine oxidase in oxidative reactions on the ocular surface of dry eye patients with Sjogren's syndrome. *Histol Histo-pathol* 2007;22:997-1003.
- [1198] Cejkova J, Ardan T, Simonova Z, et al. Decreased expression of antioxidant enzymes in the conjunctival epithelium of dry eye (Sjogren's syndrome) and its possible contribution to the development of ocular surface oxidative injuries. *Histol Histopathol* 2008;23:1477-83.
- [1199] Coursey TG, Henriksson JT, Barbosa FL, de Paiva CS, Pflugfelder SC. Interferon-gamma-induced unfolded protein response in conjunctival goblet cells as a cause of mucin deficiency in sjogren syndrome. *Am J Pathol* 2016. S0002-9440:30005-30000.
- [1200] Narayanan S, Miller WL, McDermott AM. Expression of human beta- defensins in conjunctival epithelium: relevance to dry eye disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:3795-801.
- [1201] Krenzer KL, Cermak JM, Tolls DB, Papas AS, Dana MR, Sullivan DA. Comparative signs and symptoms of dry eye in primary and secondary Sjogren's syndrome and meibomian gland disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2000;40. S2864 (Abstract).
- [1202] <http://www.genecards.org/>.
- [1203] Tejera P, O'Mahony DS, Owen CA, Wei Y, Wang Z, Gupta K, et al. Functional characterization of polymorphisms in the peptidase inhibitor 3 (elafin) gene and validation of their contribution to risk of acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2014;51(2):262-72.
- [1204] Warren HS, Tompkins RG, Moldawer LL, Seok J, Xu W, Mindrinos MN, et al. Mice are not men. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112. E345.
- [1205] Sato EH, Ariga H, Sullivan DA. Impact of androgen therapy in Sjogren's syndrome: hormonal influence on lymphocyte populations and Ia expression in lacrimal glands of MRL/Mp-lpr/lpr mice. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1992;33(8):2537-45.
- [1206] Tomlinson A, Bron AJ, Korb DR, Amano S, Paugh JR, Pearce EI, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the diagnosis subcommittee. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:2006-49.
- [1207] Sullivan DA, Hammit KM, Schaumberg DA, Sullivan BD, Begley CG, Gjorstrup P, et al. Report of the TFOS/ARVO Symposium on global treatments for dry eye disease: An unmet need. *Ocul Surf* 2012;10:108-16.
- [1208] Lambert RW, Smith RE. Pathogenesis of blepharoconjunctivitis complicating 13-cis-retinoic acid (isotretinoin) therapy in a laboratory model. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1988;29:1559-64.
- [1209] <http://ir.elevenbio.com/releasedetail.cfm?releaseid=913561>.
- [1210] <http://www.pemphigus.org/living-with-pemphigus-pemphigoid/understanding-pemphigus-pemphigoid/>.
- [1211] Horwath-Winter J, Berghold A, Schmut O, Floegel I, Solhdju V, Bodner E, et al. Evaluation of the clinical course of dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol* 2003;121:1364-8.
- [1212] Schaumberg DA, Nichols JJ, Papas EB, Tong L, Uchino M, Nichols KK. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on the epidemiology of, and associated risk factors for, MGD. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1994-2005.
- [1213] Choi W, Lee JB, Cui L, Li Y, Li Z, Choi JS, et al. Therapeutic efficacy of topically applied antioxidant medicinal plant extracts in a mouse model of experimental dry eye. *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016:4727415.
- [1214] She Y, Li J, Xiao B, Lu H, Liu H, Simmons PA, et al. Evaluation of a novel artificial tear in the prevention and treatment of dry eye in an animal model. *J Ocul Pharmacol Ther* 2015 Nov;31(9):525-30.
- [1215] Wang YC, Li S, Chen X, Ma B, He H, Liu T, et al. Meibomian gland absence related dry eye in ectodysplasin a mutant mice. *Am J Pathol* 2016 Jan;186(1):32-42.
- [1216] Ding J, Sullivan DA. Aging and dry eye disease. *Exp Gerontol* 2012;47: 483-90.
- [1217] Lim SY, Raftery M, Cai H, Hsu K, Yan WX, Hsieh HL, et al. S-nitrosylated S100A8: novel anti-inflammatory properties. *J Immunol* 2008;181: 5627-36.
- [1218] Okanobo A, Chauhan SK, Dastjerdi MH, Kodati S, Dana R. Efficacy of topical blockade of interleukin-1 in experimental dry eye disease. *Am J Ophthalmol* 2012 Jul;154(1):63-

71.

- [1219] Pflugfelder SC, Tseng SC, Sanabria O, et al. Evaluation of subjective as- sessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea* 1998;17:38-56.
- [1220] Sternberg EM. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat Rev Immunol* 2006 Apr;6(4): 318-28.

NPE	Neutrófilos (elastasa)
AA-1	Mastocitos
EG-1	Eosinófilos (proteína catiónica)

**Glosario del informe de fisiopatología TFOS DEWS II:**

*Este glosario se ha creado añadiendo nuevos términos al glosario del TFOS DEWS 2007*

**ACR50, ACR70:** índices de funcionalidad física y articular desarrollados por el American College of Rheumatology para evaluar el rendimiento y la limitación funcionales ocasionados por las enfermedades reumáticas

**Ach:** acetilcolina

**Act-1:** un regulador negativo de BAFF y de CD40+

**OSDA: ojo seco por deficiencia de la capa acuosa.** Ojo seco producido por descenso de la secreción de líquido lagrimal desde las glándulas lagrimales

**Sida:** enfermedad de inmunodeficiencia producida por el virus VIH que se asocia a niveles bajos de linfocitos inmunocompetentes e infecciones intercurrentes

**AIRE:** regulador autoinmunitario

**QCA:** queratoconjuntivitis atópica, afección alérgica asociada a enfermedad atópica productora de inflamación de la superficie ocular

**CPA:** célula presentadora de antígeno

**OSRE:** ojo seco relacionado con la edad

**APRIL:** ligando inductor de proliferación

**DLA:** deficiencia de lágrima acuosa

**SLA:** sustituto de lágrima artificial

**BAFF:** factor activador de los linfocitos B

**Lágrimas basales:** lágrimas segregadas con los ojos abiertos en condiciones de estimulación mínima de la superficie ocular

**BUT:** prueba de ruptura con fluoresceína

**TLAC:** tejido linfático asociado a la conjuntiva

**CGRP:** péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP)

**Ensayo clínico de provocación:** ensayo clínico que observa el efecto de un tratamiento o intervención en condiciones ambientales o de actividad que introducen estrés o provocan una condición física o mental determinada

**CC:** prefijo de quimiocina

**CIC:** citología de impresión conjuntival

**CLEK:** estudio longitudinal colaborativo sobre el queratocono

**EAC: entorno adverso controlado.** Entorno diseñado y construido para proporcionar un desencadenante ambiental con el fin de agravar una afección clínica en estudio

**CCLR:** Centro de Investigación sobre las Lentes de Contacto de la Universidad de Waterloo, Ontario

**CPT:** prueba de provocación conjuntival

*Fenotipo celular:*

Tipo de célula	Marcador para
CD3+	Pan marcador de linfocitos T
CD45Ro+	Linfocitos T de memoria
CD4+	Linfocitos T colaboradores-inductores
CD8+	Linfocitos T supresores-citotóxicos
CD20+	Linfocitos B
CD25	Receptor de IL-2
CD57+	NK - linfocitos citolíticos naturales
CD68+	Macrófagos, monocitos
CD+147	EMMPRIN
TCRγδ	Receptor γδ de los linfocitos T
HML-1 (Ber-ACT8)	Antígeno linfocítico mucoso humano 1
NK	Linfocito citolítico natural

**CRT:** dominios de reconocimiento de carbohidratos

**SVC:** síndrome de visión por uso del ordenador. Síntomas y signos producidos por un uso prolongado de videoterminales y ordenadores que produce disminución del parpadeo, aumento de la inestabilidad lagrimal, síntomas de molestias y fluctuación de la visión

**Código CPT:** vocabulario actual sobre procedimientos que asigna un código numérico exclusivo a los procedimientos realizados para las afecciones enumeradas en la lista codificada de enfermedades CIE-9

**CXC:** prefijo de quimiocina

**Declaración de Helsinki:** directrices promulgadas mediante un consenso internacional que definen la realización ética de los ensayos clínicos y la protección adecuada de los sujetos humanos

**DEQ:** Cuestionario de Ojo Seco.

**DES:** estrés desecante, modelo animal de enfermedad del ojo seco

**DEWS: Taller internacional sobre el Ojo Seco:** conferencia del grupo internacional que ha recopilado información basada en pruebas que describe la afección clínica de la enfermedad del ojo seco, lo cual incluye la investigación básica y clínica, la epidemiología y el tratamiento de esta afección

**Dsc3:** desmogleína 3

**SLD: síndrome de la lágrima disfuncional.** Término recomendado por el Grupo de expertos internacional Delphi para describir las anomalías de la película lagrimal y las consecuencias para la superficie ocular

**EALT:** tejidos linfoides asociados al ojo

**EA-R:** antígeno temprano del virus de Epstein Barr

**EBNA-1:** marcador del VEB pasivo de fase latente

**VEB:** virus de Epstein Barr

**DED:** displasia ectodérmica

**OSE:** ojo seco evaporativo; también ojo seco experimental

**ECP:** proteína catiónica de eosinófilos

**EMMPRIN:** inductor de metaloproteinasas de la matriz extracelular

**TEM:** transición epiteliomesenquimal

**Ensayo clínico ambiental:** ensayo clínico que observa el efecto de un tratamiento o intervención en presencia de condiciones ambientales

**EQ-5D:** cuestionario estandarizado para utilizar como medida de los resultados sanitarios

**Equiponderación (en investigación clínica):** estado de incertidumbre con respecto a si el uso de intervenciones de atención sanitaria alternativas conseguirá resultados más favorables, incluido el balance de beneficios y riesgos. Según el principio de la equiponderación, un paciente debe ser incluido en un ensayo controlado aleatorizado únicamente si existe una incertidumbre sustancial (una expectativa de verosimilitud igual) acerca de qué intervención va a beneficiar más al paciente

**OSE: ojo seco evaporativo.** Ojo seco que se debe a un aumento de la evaporación del líquido lagrimal desde la superficie del ojo

**ELE:** estructuras linfáticas ectópicas

**EMMPRIN:** inductor de metaloproteinasas de la matriz extracelular. Molécula integral de membrana también denominada CD\*147

**TEM:** transición epiteliomesenquimal

**ERK:** cinasas reguladas por señales extracelulares

**FBUT:** prueba de ruptura con fluoresceína

**FCT:** prueba de aclaramiento de fluoresceína. Prueba de recambio lagrimal; véase TCR

**AVF:** agudeza visual funcional (AVF): medida de la agudeza visual durante un periodo o circunstancia ambiental muy controlados que evalúa la agudeza visual sin que el sujeto pueda compensar parpadeando o adaptándose a un estímulo visual

**GalNAc:** N-acetil galactosamina.

**BPC: buena práctica clínica.** Características de la realización de un ensayo clínico aceptadas como métodos adecuados para llevar a cabo dicho ensayo

**EICH: enfermedad de injerto contra hospedador.** Inflamación causada por células inmunocompetentes injertadas que reconocen como extrañas y atacan a las células del hospedador

**VHC:** virus de la hepatitis C

**VIH:** virus de la inmunodeficiencia humana, agente vírico infeccioso responsable de la producción de linfocitos inmunodeficientes

**HADS:** Escala de Ansiedad y Depresión Hospitalaria. Escala desarrollada para evaluar la ansiedad y la depresión

**TCMH:** trasplante de células madre hematopoyéticas alogenas

**HLA:** antígeno de histocompatibilidad

**HMG-CoA:** 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA

- TRH:** tratamiento de reposición hormonal. Reposición sistémica de hormonas sexuales femeninas como tratamiento para la falta de estrógenos o de otras hormonas después de la menopausia
- HZO:** herpes zóster oftálmico
- ICAM-1:** molécula de adhesión intercelular que permite la adhesión entre una célula y otra. Suele ser un marcador de inflamación
- CIE-9:** clasificación internacional de enfermedades que asigna un código numérico exclusivo a cada enfermedad
- IDEEL:** impacto del ojo seco sobre la vida cotidiana. Conjunto de preguntas diseñadas para conocer el nivel de interferencia que produce la enfermedad del ojo seco en las actividades de la vida cotidiana
- Síndrome IFAF:** enfermedad que muestra una combinación de ictiosis folicular, alopecia y fotofobia
- IFN:** interferón
- Ig:** inmunoglobulina, como p. ej., IgA, IgD, IgG, IgM
- IGF:** factor insulinoide de crecimiento
- IL-:** interleucina
- Incidencia:** frecuencia de aparición de una afección por unidad total de población y periodo de tiempo (p. ej., x/100 000/año)
- JRI:** **junta de revisión institucional.** Comité institucional de una composición determinada responsable de la revisión de la construcción y la realización éticas de un ensayo clínico de conformidad con las directrices éticas aceptadas
- IDT:** **población por intención de tratar.** Todos los sujetos aleatorizados en un ensayo clínico según el tratamiento original al que se les haya asignado, independientemente del tratamiento que hayan recibido realmente o de su cumplimiento del protocolo del estudio
- Consejo Internacional para la Armonización:** conferencia que ha establecido unas directrices para la realización ética de ensayos clínicos con seres humanos
- Cadena J:** proteína de unión entre las dos moléculas de IgA dimérica secretora (sIgA)
- JNK:** cinasas c-Jun N-terminal
- QCS:** **queratoconjuntivitis seca.** Afección de ojo seco e inflamación de la superficie ocular descrita por el Dr. Henrik Sjögren. Ahora se utiliza habitualmente de forma indistinta junto con síndrome del ojo seco u ojo seco por deficiencia de la capa acuosa (OSDA)
- QFED:** enfermedad de queratosis folicular espinulosa decalvante
- KIK:** calicreína
- La (SSB):** antígeno específico que se expresa en las células y que es una diana de los anticuerpos desarrollados por la respuesta inmunitaria en el síndrome de Sjögren
- LEP:** en relación con la queratinización – proteínas de envoltura tardía
- LFA-1:** antígeno funcional leucocitario 1
- UFL:** unidad funcional lagrimal (UFL). Unidad funcional integral que comprende el sistema lagrimal, la superficie ocular y sus glándulas accesorias, así como sus conexiones neurales, y que es responsable del mantenimiento de la película lagrimal y de la protección de la transparencia de la córnea y la salud de la superficie ocular
- LASIK:** queratotomía in situ asistida por láser. Extirpación de tejido corneal mediante láser debajo de un colgajo anterior de córnea que se realiza para corregir un error refractivo
- LINE:** **neuroepiteliopatía inducida por LASIK.** Término que se emplea para describir el complejo de síntomas de irritación ocular y anomalías de la superficie ocular subsiguientes a la cirugía LASIK
- LOCF:** **imputación de la última observación realizada (LOCF).** Técnica estadística para corregir la información ausente en un punto de recogida de datos imputando la última observación clínica realizada antes de faltar los datos
- Puntuación de Likert:** método para graduar un síntoma subjetivo o un signo objetivo de enfermedad mediante el uso de una escala categórica
- LIPCOF:** pliegues conjuntivales paralelos al párpado, una forma de conjuntivocalasia. Se asocia al ojo seco
- ELP:** epiteliopatía en limpiaparabrisas del párpado
- M3:** receptor muscarínico de tipo 3
- Cinasa MAP:** proteína cinasa activada por mitógeno
- TLAM:** tejido linfático asociado a las mucosas
- IMP:** intervalo máximo de parpadeo
- MBTBS1/2:** proteasas del factor de transcripción de unión a membrana, sitios 1 y 2
- UMC:** unión mucocutánea
- Meibo:** producto que expresan las glándulas de Meibomio al ejercer presión sobre las glándulas a través de los párpados. Es un aceite transparente en los párpados sanos y se vuelve cada vez más viscoso y opaco en la DGM
- DGM:** disfunción de las glándulas de Meibomio
- MFI:** inventario multidimensional de fatiga. Cuestionario que cataloga numerosos aspectos de síntomas que contribuyen a o se asocian a fatiga
- CPH:** antígenos del complejo principal de histocompatibilidad que se expresan en las células y determinan el reconocimiento inmunitario en la reacción a los aloinjertos en los trasplantes
- MMP:** enzimas proteolíticas de metaloproteinasas de la matriz formadas por los tejidos y las células inflamatorias
- MMP:** también se usa en referencia al penfigoide mucoso
- Translated into Spanish by Allergan**
- IDT mod:** población por intención de tratar modificada (IDT mod). Todos los sujetos aleatorizados para un ensayo clínico que hayan recibido al menos una dosis del medicamento o intervención asignada
- mOsm:** miliosmoles
- Mucinas:** glucoproteínas que se expresan en la superficie ocular o se segregan en la película lagrimal. MUC: mucinas, como las mucinas integrales de membrana MUC1, MUC4 y MUC-16. MUC5AC: mucina formadora de gel segregada por las células caliciformes de la conjuntiva. MBTP: proteasas del factor de transcripción de unión a membrana, sitios 1 y 2
- MyD88:** gen de respuesta primaria de diferenciación mieloide 88
- NEI-VFQ:** **cuestionario de funcionalidad visual del NEI.** Cuestionario desarrollado por el National Eye Institute para evaluar la funcionalidad visual en las actividades de la vida cotidiana.
- NET:** trampas extracelulares de neutrófilos
- NETosis:** formación de NET
- NFKB:** factor nuclear  $\kappa$ B
- NGF:** factor de crecimiento nervioso
- NIBUT:** tiempo o prueba de ruptura no invasiva
- QN:** queratitis neurotrófica
- Nocebo:** tratamiento o intervención que carece de efectos negativos directos sobre una afección en fase de tratamiento
- Ratón NOD:** ratón diabético no obeso
- NPY:** neuropéptido Y
- OSNS:** **ojo seco no asociado al síndrome de Sjögren.** OSDA que se produce en ausencia de síndrome de Sjögren
- DLANS:** deficiencia de lágrima acuosa no asociada al síndrome de Sjögren
- OAHA:** O-acilo hidroxiácido graso  $\omega$  (OAHA)
- PCO:** penfigoide cicatricial ocular
- IPO:** índice de protección ocular, tiempo de ruptura dividido por el intervalo de parpadeo
- RP:** razón de probabilidad (odds ratio)
- OSDI:** índice de enfermedad de la superficie ocular: conjunto de preguntas para evaluar el grado de molestias y de interferencia en las actividades de la vida cotidiana producidas por la enfermedad de la superficie ocular. (Desarrollado por Allergan, Inc. para la evaluación de la enfermedad del ojo seco)
- SSO:** **sistema de la superficie ocular:** epitelios contiguos de la superficie ocular que se derivan embriológicamente de los mismos epitelios de la superficie y que se continúan a través de los epitelios ductales con los epitelios acinares de las glándulas lagrimales principales y accesorias, las glándulas de Meibomio y el sistema nasolagrimal
- Sin receta:** de venta sin receta
- PCR:** reacción en cadena de la polimerasa
- DEP:** defecto epitelial persistente
- PG4:** proteoglicano 4 - lubricina
- Prueba de la hebra con rojo de fenol:** medición del volumen de lágrima o del cambio en el volumen de lágrima con el tiempo mediante la observación de la cantidad de humectación de una hebra de algodón impregnada con colorante rojo de fenol y colocada sobre el párpado inferior
- PHS:** **Physicians' Health Study:** gran estudio epidemiológico prospectivo a largo plazo con una cohorte de médicos varones en Estados Unidos
- Placebo:** tratamiento o intervención que carece de efectos positivos directos sobre una afección en fase de tratamiento
- PP:** **población por protocolo:** todos los sujetos aleatorizados para un tratamiento o intervención asignados que hayan terminado el tratamiento según el protocolo
- Valor predictivo:** verosimilitud de que una prueba pronostique de manera fiable la presencia de una anomalía determinada en una población
- Prevalencia:** frecuencia de aparición de una afección o enfermedad en una muestra de población transversal (p. ej., x % de una población evaluada)
- PRK:** queratotomía fotorrefractiva. Extirpación de tejido corneal anterior mediante láser para corregir un error refractivo
- SSp:** síndrome de Sjögren primario
- PTGER:** receptor de prostaglandina E
- CdV:** calidad de vida. Características de comodidad y actividad del paciente que pueden verse influidas por una enfermedad o lesión
- RAS:** sistema de renina-angiotensina
- ECA:** ensayo clínico aleatorizado. Estudio clínico con dos o más tratamientos o intervenciones que asigna a los sujetos al azar a cada una de las opciones de tratamiento
- Regresión a la media:** hallazgo estadístico según el cual con las observaciones secuenciales, las puntuaciones de los sujetos tienden hacia la media de la muestra original
- QR:** queratotomía radial. Incisiones practicadas con un patrón radial sobre la córnea medial periférica para corregir un error refractivo de miopía
- Ro (SSA):** antígeno específico que se expresa en las células y que es una diana de los anticuerpos desarrollados por la respuesta inmunitaria presente en el síndrome de Sjögren
- ERO:** especies reactivas del oxígeno
- OSTRB:** ojo seco por tiempo de ruptura breve
- SBUT:** tiempo de ruptura de la película lagrimal sintomático.

*Prueba de Schirmer*: prueba para medir el cambio producido en el volumen lagrimal (producción) mediante la humectación observada de una tira de papel estandarizada colocada sobre el párpado inferior durante un periodo determinado.

*Prueba de Schirmer sin anestesia*: la prueba se lleva a cabo sin haber instilado previamente anestesia tópica en la superficie ocular

*Prueba de Schirmer con anestesia*: la prueba se lleva a cabo después de haber instilado previamente un anestésico tópico en la superficie ocular

SCP: escopolamina

Secretagogo: agente que estimula las glándulas

*Sensibilidad*: verosimilitud de que una prueba clínica detecte la presencia de una anomalía determinada en una población

SF-36: cuestionario breve de 36 preguntas para el estudio de los resultados médicos. Conjunto de 36 preguntas que evalúan el grado de interferencia de una enfermedad en las actividades de la vida cotidiana

CEGS: células epiteliales de las glándulas salivales

ARNip: ARN interferente pequeño

SSJ/NET: síndrome de Stevens-Johnson/necrólisis epidérmica tóxica

LES: lupus eritematoso sistémico

QLS: queratoconjuntivitis del limbo superior

SOD: superóxido dismutasa

SP: sustancia P

*Especificidad*: verosimilitud de que una prueba clínica identifique solo la anomalía especificada en una población

SPRR: proteínas pequeñas ricas en prolina asociadas a queratinización

SREBP: proteínas de unión a elementos reguladores de esteroides 1 y 2

SS: síndrome de Sjögren

DLASS: ojo seco por deficiencia lagrimal acuosa en el síndrome de Sjögren

OSSS: ojo seco por deficiencia lagrimal acuosa en el síndrome de Sjögren

S-TBUD: dinámica de ruptura lagrimal en mirada fija

*Marcador sustitutivo*: marcador o parámetro de medición que refleja o se correlaciona con un parámetro de enfermedad o alteración tisular diferente. Los marcadores sustitutivos pueden ser directos o correlativos. Los marcadores sustitutivos directos son los que se derivan de las mismas propiedades físicas o químicas que el marcador primario. Los marcadores sustitutivos correlativos son los que están correlacionados con el marcador primario, pero que pueden producirse también por otros mecanismos

*linfocitos T4*: linfocitos T citotóxicos/supresores

*linfocitos T8*: linfocitos T colaboradores

TBUT: tiempo de ruptura de la película lagrimal o de la lágrima. También FBUT y TFBUT. Tiempo transcurrido hasta la ruptura inicial de la película lagrimal después de un parpadeo

VAL: **velocidad de aclaramiento lagrimal**. Velocidad a la que una película lagrimal precocular o un marcador instilado de la lágrima se elimina de la película lagrimal por dilución o drenaje del volumen lagrimal

CLPL: **capa lipídica de la película lagrimal**. Capa más anterior de la película lagrimal, compuesta por lípidos meibomianos que limitan la evaporación y estabilizan la película lagrimal

TFI: prueba de dinámica lagrimal cuyo valor se obtiene dividiendo el valor de la prueba de Schirmer con anestesia por la velocidad de aclaramiento lagrimal

TFT: prueba de cristalización. Detección del ojo seco según los patrones de cristalización lagrimal

TGF: factor de crecimiento y transformación

TIMP: inhibidor tisular de las metaloproteinasas

ELT: estructuras linfáticas terciarias o ectópicas

TNF: factor de necrosis tumoral

TLR: receptor de tipo Toll

TSAS: sistema de análisis de la estabilidad de la lágrima

TSB: trombospondina

VRL: velocidad de recambio lagrimal. Flujo lagrimal por minuto en forma de porcentaje del volumen lagrimal. [Bron]

VDT: videoterminal

VFQ-25: cuestionario de funcionalidad visual diseñado por el NEI.

EVA: **escala visual analógica**. Método para graduar un síntoma subjetivo o un signo objetivo de enfermedad mediante el uso de una escala lineal medida

VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular

QCP: queratoconjuntivitis primaveral, afección alérgica que se manifiesta por una inflamación crónica y episódica de la superficie ocular y una reacción papilar de la conjuntiva

VIP: péptido intestinal vasoactivo

VT-HRQ: Calidad de vida relacionada con la salud de la visión: cuestionario que evalúa actividades de CdV relacionadas con o dependientes de la visión

NVRT: número variable de repeticiones en tándem

WWHS: Women's Health Study (WHS): gran estudio epidemiológico prospectivo a largo plazo con una cohorte de mujeres en Estados Unidos

XC: prefijo de quimicina

*Xeroftalmia*: enfermedad ocular bilateral causada por deficiencia de vitamina A que se caracteriza por ceguera nocturna, xerosis de la superficie ocular y queratomalacia