

Universitätsmedizin Rostock
Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde

**Untersuchungen zur Tränenfilmaufrisscharakteristik unter
dem Einfluss eines benzalkoniumchloridhaltigen
Lokalanästhetikums**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)
der Universitätsmedizin Rostock



vorgelegt von
Ellen Alexandra Förstner,
geboren am 17.08.1984 in Stuttgart

Rostock, Dezember 2019

Dekan: Prof. Dr. med. univ. Emil Christian Reisinger, MBA

1. Gutachter: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. habil. D.-C. Fischer, AG Leiter Experimentelle
Pädiatrie, Kinder- und Jugendklinik Universitätsmedizin

2. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Oliver Stachs, Universitätsmedizin Rostock
Universitätsaugenklinik

3. Gutachter: Prof. Dr. med. K.-H. Emmerich, Direktor der Augenklinik Klinikum Darmstadt
GmbH

Jahr der Einreichung: 2019

Datum der Verteidigung: 13.10.2020

I Inhaltsverzeichnis

I	Inhaltsverzeichnis	1
II	Abbildungsverzeichnis	4
III	Tabellenverzeichnis	8
1	Einleitung	9
2	Der Tränenfilm	11
2.1	Aufbau des Tränenfilms	11
2.2	Funktionen und Störungen des Tränenfilms	11
3	Konservierungsmittel in Augentropfen	14
4	Methoden zur Untersuchung des vorderen Augenabschnittes	17
4.1	Anamnese	17
4.2	Der OSDI©-Fragebogen	17
4.3	Untersuchung des Lidrandes	19
4.3.1	Blinzelrate	19
4.3.2	Lidschluss und Lidkante	19
4.3.3	Abstrich der Lidkante	19
4.3.4	Meibometrie	19
4.4	Qualitative Tränenfilmuntersuchungsmethoden	19
4.4.1	Die Tränenfilmuntersuchung mit dem Keeler TearScope-Plus®	19
4.5	Die Untersuchung des vorderen Augenabschnittes mittels der Licht-, Spiegel- und Laser-Rastermikroskopie	20
4.6	Tränen-Clearance	20
4.7	Untersuchung der Muzinschicht	21
4.7.1	Farnkrauttest	21
4.7.2	Immunoblotanalyse von Muzinen	21
4.8	Untersuchungen zur wässrigen Phase des Tränenfilms	22
4.8.1	Schirmer-Test	22
4.8.2	Phenolrot-Faden-Test	22
4.8.3	Osmolarität/MMP-9 Test	23
4.8.4	Messung der Höhe des Tränenmeniskus	23
4.8.5	Tränenproteinanalyse	23

4.9	Analyse des Lipidfilms	24
4.9.1	Träneninterferometrie	24
4.9.2	Evaporimetrie	25
4.10	Vitalfärbungen	25
4.10.1	Fluorescein	25
4.10.2	Bengalrosa	25
4.10.3	Lissamingrün	26
4.11	Untersuchung der lidkantenparallelen Konjunktivalfalten	26
4.12	Impressionszytologie	26
4.13	Hornhautsensibilität	27
5	Aktueller Stand der Methoden zur Diagnostik des trockenen Auges	28
6	Methoden und Probanden	31
6.1	Methoden zur Untersuchung der BUT	31
6.1.1	Die Tränenfilmuntersuchung mit dem Oculus® Keratograph 5M	31
6.1.2	Spaltlampenuntersuchung	34
6.2	Probanden	35
6.3	Proparacain-POS®	35
6.4	Ablauf der Messungen	36
6.4.1	Untersuchungszeitpunkt 1 - NIKBUT-Messungen ohne Proparacain	36
6.4.2	Untersuchungszeitpunkt 2 - Vergleich der NIKBUT- und FBUT-Messungen vor und nach Proparakaingabe	37
6.4.3	Untersuchungszeitpunkt 3 - NIKBUT-Aufrisscharakteristik	37
6.5	Statistik	38
6.5.1	Statistiksoftware	38
6.5.2	Kolmogorow-Smirnov-Test	38
6.5.3	T-Test für abhängige Stichproben	38
6.5.4	Repeated Measurement (Einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung)	39
7	Ergebnisse	40
7.1	Untersuchungszeitpunkt 1 - NIKBUT-Messungen ohne Proparacain	40
7.2	Untersuchungszeitpunkt 2 - Vergleich der NIKBUT- und FBUT-Messungen vor und nach mehrmaliger Proparakaingabe	41
7.3	Untersuchungszeitpunkt 3 - NIKBUT-Aufrisscharakteristik vor und nach mehrmaliger Proparakaingabe	44

8	Diskussion	46
8.1	Wiederholbarkeit der Messungen (Untersuchungszeitpunkt 1 - NIKBUT-Messungen ohne Proparakaïn)	46
8.2	Destabilisierung des Tränenfilms mit einer sehr niedrigen Konzentration von BAC (Untersuchungszeitpunkt 2 - NIKBUT versus FBUT, vor und nach mehrmaliger Proparakaingabe)	49
8.2.1	Der Einfluss von Fluoresceïn auf die BUT-Messung mit der Spaltlampe	49
8.2.2	NIKBUT versus FBUT vor Proparakaingabe (Vergleich der Messmethoden)	49
8.2.3	NIKBUT versus FBUT nach Proparakaingabe (Destabilisierung des Tränenfilms)	51
8.3	Untersuchungszeitpunkt 3 - Aufrisscharakteristik	52
9	Zusammenfassung und Ausblick	54
10	Thesen	56
IV	Literaturverzeichnis	57
V	Danksagung	68
VI	Eidesstattliche Erklärung	69

II Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Darstellung des dreischichtigen Tränenfilms.	11
Abbildung 2:	Chemische Formel von Benzalkoniumchlorid.	14
Abbildung 3:	Beispiel einer Untersuchung mit dem Oculus® Keratograph 5M.	31
Abbildung 4:	Darstellung der auf der Hornhaut des Probanden abgebildeten Placidoringe durch den Oculus® Keratograph 5M.	32
Abbildung 5:	Tearmap einer Probandin.	33
Abbildung 6:	Tränenfilmaufriss-Charakteristik.	33
Abbildung 7:	Spaltlampenmikroskopisch Aufnahme der FBUT am Beispiel der eigenen Augen.	35
Abbildung 8:	Übersicht der zu den Untersuchungszeitpunkten 1 - 3 durchgeführten Messungen.	36
Abbildung 9:	Übersicht der Probanden und erhobenen Messwerte zum Untersuchungszeitpunkt 2.	37
Abbildung 10:	Übersicht zu den Probanden erhobenen Messwerten zum Untersuchungszeitpunkt 3.	38
Abbildung 11:	Darstellung der NIKBUT-Mittelwerte der sechs Probanden. zum jeweiligen Messzeitpunkt (1 - 10) mit Standardabweichung.	40
Abbildung 12:	Darstellung der Tränenfilmaufrisszeiten der NIKBUT- und FBUT-Methode zu den Messzeitpunkten t_0 , t_1 und t_2 .	43
Abbildung 13:	Darstellung der prozentualen Aufrisscharakteristik anhand der NIKBUT.	45

III Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Der Ocular Surface Disease Index [®] .	18
Tabelle 2:	Stadien der impressionszytologischen Befunde.	27
Tabelle 3:	Einteilung des trockenen Auges nach Schweregraden.	29
Tabelle 4:	Übersicht der mittels t-Test durchgeführten Untersuchungen auf Signifikanz zum Untersuchungszeitpunkt 2.	39
Tabelle 5:	Auszug der Ergebnisse des t-Tests für abhängige Stichproben.	41
Tabelle 6:	Die t-Test-Ergebnisse innerhalb der NIKBUT-Methode.	42
Tabelle 7:	Die t-Test-Ergebnisse innerhalb der FBUT-Methode.	42
Tabelle 8:	Der t-Test von NIKBUT und FBUT zu den Messzeitpunkten t_0 , t_1 und t_2 .	43
Tabelle 9:	Ergebnisse des repeated measurement.	44

1 Einleitung

Der Tränenfilm bildet die vorderste Schicht des Auges und stellt damit die Verbindung zur Umwelt dar. Seine wichtigste Funktion besteht in der Benetzung der Augenoberfläche, was durch regelmäßiges Blinzeln gewährleistet wird [1,2]. Folgende drei Schichten bilden den Tränenfilm: Eine innere Glykokalix/ Muzinschicht, eine mittlere wässrige Schicht und eine äußere Lipidschicht [3].

Die Reihenfolge des Aufbaus, sowie die Intaktheit der drei Schichten tragen maßgeblich zur Stabilität des Tränenfilms bei. Ein stabiler glatter Tränenfilm ist bedeutsam, um eine ständige Befeuchtung des Auges zu gewährleisten. Diese dient u.a. dem bakteriellen Schutz des Auges und bildet die Grundlage für die Optik des Auges [1, 3, 4].

Viele Menschen besitzen einen instabilen Tränenfilm, welcher bei Persistenz zum sogenannten „trockenen Auge“ führen kann [5]. Diese Krankheit, die u.a. durch intrinsische Faktoren (Cytokine und MMP-Aktivatoren) [6] zu einer verminderten Tränenmenge oder zu einer fehlerhaften Zusammensetzung der drei Tränenfilmschichten führt, kann bei Betroffenen u.a. ein Fremdkörpergefühl im Auge und eine erhöhte Lichtempfindlichkeit auslösen [7]. Für die Diagnose dieser Erkrankung und eine mögliche zeitnahe Behandlung ist die Tränenfilmstabilität der wichtigste Untersuchungsparameter.

Die Tränenfilmstabilität lässt sich durch die Tränenfilmaufrisszeit (tear film break up time, kurz BUT) ermitteln [8, 9]. Die BUT ist definiert als Zeitspanne, beginnend mit der vollständigen Benetzung des Auges nach einem Blinzeln, bis zur Bildung erster Aufrisse des Tränenfilms, der sogenannten trockenen Stellen („dry spots“). Diese lösen anschließend einen erneuten Blinzelreflex aus [10].

In dieser Arbeit soll eine künstliche Verkürzung der BUT herbeigeführt werden, um einen instabilen Tränenfilm zu simulieren und dabei die Detektierbarkeit der Tränenfilmaufrisse mit dem Oculus[®] Keratograph 5M zu untersuchen. Die Herabsetzung der Tränenfilmstabilität erfolgt mit einem Benzalkoniumchlorid-haltigen (BAC) Lokalanästhetikum. BAC ist ein in den meisten Augentropfen enthaltenes Konservierungsmittel [11], von welchem bekannt ist, dass es ab einer gewissen Anwendungsdauer und -konzentration schädliche Auswirkungen auf die Augenoberfläche hat. Dies äußert sich u. a. über eine Beschädigung der Korneal- und Konjunktivalzellen, was einen destabilisierenden Einfluss auf den Tränenfilm zur Folge haben kann [12, 13].

Zur Untersuchung des Tränenfilms unterscheidet man quantitative und qualitative Methoden. Zu den quantitativen Untersuchungsmethoden des Tränenfilms gehören z.B. der Schirmer-Test,

der Phenolrotfaden-Test und die Messung der Tränenmeniskushöhe [14 - 17]. Der Schirmer-Test und der Phenolrotfaden-Test messen die Tränenmenge im Unterlid durch Einbringen eines Papierstreifens bzw. eines Baumwollfadens in das Unterlid. Die Höhe des Tränenmeniskus kann z.B. mit der Spaltlampe bestimmt werden.

Die Messung der BUT gehört zur qualitativen Untersuchungsmethode und kann anhand von folgenden drei Messgeräten ermittelt werden: Oculus® Keratograph 5M, Spaltlampe und Keeler TearScope-Plus®. Der Oculus® Keratograph 5M stellt ein nicht invasives Messgerät zur Bestimmung der BUT (non invasive keratograph break up time, NIKBUT) dar. Es handelt sich hierbei um eine objektive (untersucherunabhängige) Methode, welche zudem die Tränenfilmaufrisse zeit- und ortsabhängig erfasst und digital darstellt [18, 19]. Die Spaltlampenuntersuchung, welche unter Einbringung von Fluorescein erfolgt, hat sich als Goldstandard etabliert und ist die älteste, untersucherabhängige und damit subjektive Untersuchungsmethode [20]. Das Keeler TearScope-Plus® stellt eine weitere subjektive Untersuchungsmethode dar. Es projiziert ein Gitter auf den Tränenfilm und misst die BUT anhand des reflektierten Gitters [21, 22].

In den Arbeiten von Choi et al. im Jahr 2018 [23] und von Wilson im Jahr 1975 [13] wurde eine herabgesetzte BUT bei Augengesunden durch BAC-haltige Augentropfen ermittelt. Die Messungen erfolgten bei Erstgenanntem mit dem Oculus® Keratograph 5M an Kaninchen und bei Wilson et al. mit der Spaltlampe an Menschen und Kaninchen. Choi et al. verwendeten 0,1 % BAC-haltige Augentropfen (unbekannter Einwirkungszeit) und Wilson et al. arbeiteten mit einem 0,01 % BAC-haltigen Lokalanästhetikum und Einwirkzeiten von 10 min.

Diese Arbeit verfolgt die These, dass eine erheblich niedrigere Konzentration eines BAC-haltigen Lokalanästhetikums und eine kürzere Einwirkzeit bereits ausreichen, um die Stabilität des Tränenfilms herabzusetzen und damit eine Verkürzung der BUT zu bewirken. Dies soll mit dem Oculus® Keratograph 5M ortsabhängig untersucht und mit Spaltlampenuntersuchungen verglichen werden.

Zusammenfassend werden damit im Rahmen der Arbeit drei Ziele verfolgt:

1. Beleg der Wiederholbarkeit von BUT-Messungen an Probanden mittels des Oculus® Keratograph 5M.
2. Untersuchung der BUT-Veränderung unter einem BAC-haltigen Lokalanästhetikum (Proparacain POS®) anhand der Spaltlampe und des Oculus® Keratograph 5M.
3. Untersuchung der Tränenfilmaufrissdynamik unter einem BAC-haltigen Lokalanästhetikum (Proparacain POS®).

2 Der Tränenfilm

2.1 Aufbau des Tränenfilms

Drei unterschiedliche Schichten bilden den ca. 2,6 - 500 nm messenden Tränenfilm [24]. Die äußerste, dem Tränenfilm zugewandte Schicht des Auges, besteht aus Horn- und Bindehautepithel. Von den Horn- und Bindehautzellen wird das Transmembranprotein Mucin-1 (MUC1) gebildet. Der glykosylierte (kohlenhydrat- haltige) Anteil dieser Glykoproteine [25] ragt über die apikale, lipophile Zellmembran von Hornhaut und bulbärer Bindehaut in die wässrige Schicht des Tränenfilms hinein und bildet die Glykokalix (innerste Tränenfilmschicht), welche auch als Muzinschicht bezeichnet wird [1, 4]. Die Becherzellen der Bindehaut bilden ein weiteres, jedoch stärker hydratisiertes Muzin, das sekretorische Mucin-5AC (MUC5AC), welches in die wässrige Schicht des Tränenfilms abgegeben wird und einen gelartigen Charakter besitzt [25, 26].

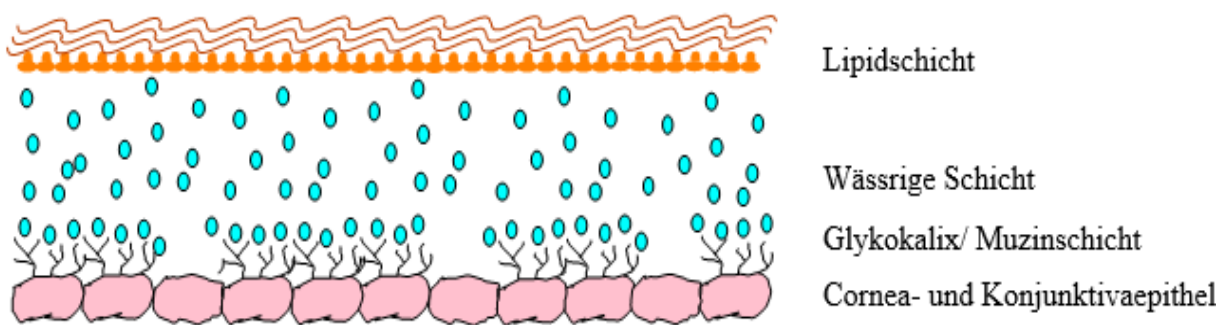


Abbildung 1: Darstellung des dreischichtigen Tränenfilms [27].

In der Haupttränendrüse (Glandula lacrimalis) und den akzessorischen Tränendrüsen (Krause- und Wolfring-Drüsen) findet die Bildung der wässrigen Phase (ca. 98 % des Tränenfilms) statt. Darin gelöst sind Glucose, anorganische Salze, Harnstoff, Proteine (Ohashi und de Souza GA et. al. erfassten zwischen 60 und 500 unterschiedliche Tränenproteine [28, 29]), Glykoproteine, Immunglobuline und Lysozyme [30].

Die an der Oberfläche befindliche, lipidreiche Tränenfilmschicht wird von den Meibomdrüsen im Lidrand produziert. Sie besteht vornehmlich aus Mono-, Di- und Triglyzeriden, Sterolestern, freien Fettsäuren und polaren Lipiden [1, 31].

2.2 Funktionen und Störungen des Tränenfilms

Die innerste Schicht stellt einerseits eine Verbindung zur lipophilen Oberfläche der Horn- und Bindehaut her und ermöglicht andererseits der wässrigen Phase des Tränenfilms, sich ebenmäßig darüber zu verteilen [32]. Die wässrige, mittlere Schicht besitzt mehrere Funktionen

u. a. die Benetzung der Augenoberfläche und deren Reinigung. Durch externe Reize, wie Fremdkörper oder Licht, und interne Reize, wie beispielsweise Emotionen, wird die Sekretion der Tränendrüsen verstärkt angeregt [1, 33, 34].

Die Lipidschicht hat eine sehr hohe Bedeutung für die Erhaltung der Tränenfilmstabilität, als Schutz vor Verdunstung und vor Überlaufen der wässrigen Phase. Das neuroendokrine System steuert die Sekretion der Meibomdrüsen, der Tränendrüsen und der Becherzellen [9, 35].

Die Hauptaufgaben des dreischichtigen Tränenfilms sind:

- Bildung einer glatten Oberfläche der Hornhaut, um deren optische Eigenschaften zu steigern [9, 36].
- Benetzung des Bindehaut- und Hornhautepithels zu deren Schutz vor mechanischer Beschädigung durch den hohen Druck, der beim Blinzeln entsteht [37].
- Versorgung der nicht-vaskularisierten Hornhaut mit Nährstoffen und Sauerstoff [28].
- Regulation des Elektrolyt-Haushalts und des pH-Werts (bei 7,5) [38].
- Schutz vor Infektionen (besonders durch Lysozym, Lactoferrin und IgA) [39, 40].
- Abtransport von Stoffwechselendprodukten und Fremdkörpern [41].
- Bereitstellung von Leukozyten, die hornhaut- und konjunktivagängig sind [39, 40, 42].
- Heilung von Verletzungen der Oberfläche.

Einflüsse unterschiedlichster Genese können sich auf die einzelnen Tränenfilmschichten auswirken und entsprechende Folgen auf die Tränenfilmstabilität haben. Treten Erkrankungen des Hornhautepithels auf (beispielsweise Narben), kann es zu Tränenfilminstabilitäten an dieser Stelle kommen, da sich die MUC1-Schicht nicht an die Hornhautmembran binden kann. Bei bestehendem Vitamin A-Mangel, einer Gewebswucherung der Bindehaut (Pterygium conjunctivae) [43], nach Brandverletzungen, Konjunktividen oder aufgrund eines Muzinmangels, welcher physiologisch mit zunehmendem Alter entstehen kann, ist eine Herabsetzung der Tränenfilmstabilität möglich [31]. Durch lange Bildschirmarbeitszeiten (ca. 4 Std. pro Tag) kann die Tränenfilmstabilität, über die Ausschüttung von oxidativen Stressfaktoren gesenkt werden [44].

Eine häufige Ursache von Störungen der wässrigen und der lipidreichen Schicht ist das trockene Auge (= Keratokonjunktivitis sicca) [40]. Definiert wird das trockene Auge als eine „multifaktorielle Erkrankung der Tränen- und Augenoberfläche, welche Symptome des Unbehagens, Beeinträchtigungen der Sehkraft und Tränenfilminstabilität mit einer potenziellen Schädigung der Augenoberfläche, hervorrufen. Begleitet wird das trockene Auge von einer gesteigerten Osmolarität des Tränenfilms und einer subakuten Entzündung der Augenoberfläche“ [8, 45]. Es wird zwischen einer hypovolämischen und einer hyperevaporischen Form unterschieden

[46]. Die wässrige Schicht des Tränenfilms ist bei der hypovolämischen Variante betroffen und kann u.a. folgende Ursachen haben [45, 47 - 49]:

- Autoimmunkrankheiten (Sjögren-Syndrom) [50, 51]
- Angeborene Störungen (z. B. kongenitale Alakrimie)
- Hormonelle Dysfunktionen (z. B. durch herabgesetzte Östrogenproduktion nach der Menopause)
- Funktionsstörungen der Tränendrüse (z. B. durch Infektionen, Radiotherapie, Verätzungen)
- Nervenschäden, bspw. werden bei LASIK-Eingriffen (= Laser-assisted in situ keratomileusis) die sympathischen und parasympathischen Innervationen der Tränendrüsen teilweise versehrt, was bei 60 % der Patienten einen Monat nach LASIK-Operationen zu Symptomen des trockenen Auges führt [52]
- Medikamente (z. B. Antihistaminika und Beta-Blocker).

Zu den therapeutischen Möglichkeiten gehören unter anderem Silikon- oder Kollagenplugs, welche am inneren Augenwinkel in das Punctum lacrimale eingebracht werden [33].

Bei der hyperevaporischen Form findet eine erhöhte Verdunstung der wässrigen Schicht des Tränenfilms statt. Ursachen können Veränderungen der Lider (z. B. Ektropium), der Augenoberfläche und des Lipidfilms [31, 53] sein. Diese Form des trockenen Auges wird vornehmlich durch Lidhygiene behandelt. Sowohl bei der hypovolämischen, als auch bei der hyperevaporischen Störung werden zusätzlich Tränenersatzmittel empfohlen [48, 49, 54].

3 Konservierungsmittel in Augentropfen

Benzalkoniumchlorid (BAC) ist ein quartäres, kationisches und grenzflächenaktives Ammoniumsalz, dessen Alkylteil aus C₈- bis C₁₈ - Ketten besteht (siehe Abbildung 2; n= Anzahl der Kohlenstoffatome) [57]. Es ist das meist verwendete Konservierungsmittel in Augentropfen, Inhalatoren oder Nasensprays [55] und findet Verwendung als Flächen-desinfektionsmittel (z. B. in „Sagrotan“). Das Wirkspektrum deckt hauptsächlich gram-positive Keime (Staphylococcus), aber auch Pilzarten (Candida albicans und Aspergillus fumigatus) und Hefen ab. Mit einem Zusatz von 0,1 - prozentigem Ethylendiamintetraacetat (EDTA) kann BAC verstärkt gram - negative Bakterien bekämpfen. Im Gegensatz zu anderen Konservierungsmitteln wie Chlorhexidin, quecksilberhaltigen Derivaten, Alkoholen, Silberchlorid-komplexen, EDTA oder Parabenen hat es eine niedrige allergische Potenz und ein breites Wirkungsspektrum. Aufgrund des bipolaren Charakters zerstört BAC die Zellmembran der Bakterien und führt zu deren Lyse. Dies findet bereits bei einer gängigen Konzentration von 0,004 bis 0,025 % statt. Bei 37 °C hat BAC die höchste Wirksamkeit [55].

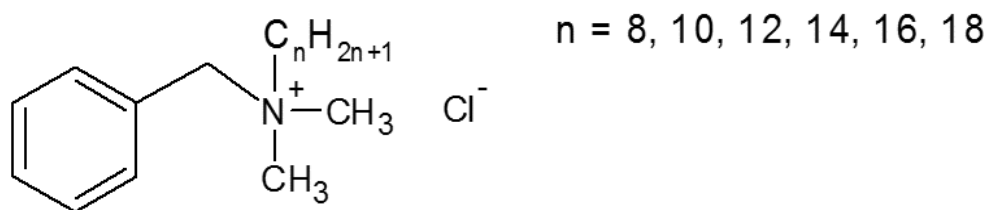


Abbildung 2: Chemische Formel von Benzalkoniumchlorid [56].

Bereits im Jahr 1944 konnte die Toxizität von BAC auf die Augenoberfläche nachgewiesen werden [58]. In zahlreichen experimentellen Studien werden die schädlichen Auswirkungen von verschiedenen Konservierungsmitteln dargestellt.

Am Beispiel von BAC zeigte sich, dass die Art des herbeigeführten Zelltodes dosisabhängig ist. Bei hohen Konzentrationen resultierte eine Nekrose der Konjunktivalzellen, bei niedrigen Konzentrationen erfolgte eine Apoptose. Diese Erkenntnis könnte einige oberflächliche Unregelmäßigkeiten des Auges erklären, die bei Patienten auftreten, welche unter längerer topischer Therapie mit konservierungsmittelhaltigen Medikamenten stehen [11]. Furrer et al. schilderten ihre Beobachtung bei einer 28-tägigen Behandlung von Kaninchen, in der mit 1 - 2 Tropfen einer Lösung von 0,01 % BAC-haltigen oder 0,012 % Benzododeciniumbromid - haltigen Beta Rezeptorblockern pro Tag kleinste Defekte auf der Hornhautoberfläche verursacht wurden. Nach dieser Zeit füllten diese Veränderungen bei einigen Versuchstieren 15 % der Fläche aus [59].

Mittels Durchflusszytometrie und Microtitration Fluorimetric Assays on Live Cells-(MiFALC) Techniken konnten Untersuchungen an lebenden Konjunktivalzellen durchgeführt werden. Als Parameter für die Augenschädigung wurden die Chromatinkondensation, das Überleben der Zellen im Allgemeinen, die Entwicklung von freien Sauerstoffradikalen und das mitochondriale transmembrane Potenzial festgelegt. Alle untersuchten Konservierungsmittel, besonders BAC, zeigten selbst in niedrigen Dosen toxische Wirkungen in Form einer erhöhten Freisetzung freier Sauerstoffradikale und Zelltodinduktionen (durch DNS-Zerstückelung, Chromatinkondensation, Verminderung des Zellvolumens und Exprimierung des proapoptischen Markers Apo 2.7) [11, 60 - 67].

In einer anderen Studie untersuchten Mietz et. al. die Wirkung konservierungsmittelhaltiger Antiglaukomtherapeutika (Latanoprost und Timolol). Sie stellten fest, dass eine signifikant gesteigerte Exprimierung entzündlicher Marker (HLA-DR = Oberflächenrezeptor auf Leukozytenantigenkomplexen), CD23 (IgE-Rezeptor) und Intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 (befinden sich an Leukozyten-und Endothelienmembranen) und eine reduzierte Exprimierung des Muzins MUC5AC in den Konjunktivalzellen auftraten. Es zeigten sich im Verlauf Entzündungen und Epithelmetaplasien, welche durch Lymphozyteneinwanderung Effekte auf die membrandurchgängigen Muzine und Becherzellen hatten. Das Ausmaß der Bindehautentzündung war abhängig von der Dosis der verwendeten Augentropfen sowie der Therapiezeit. In tierexperimentellen Versuchen konnte zudem eine durch konservierungsmittelhaltige Augentropfen ausgelöste Invasion von Fibroblasten nachgewiesen werden, die zu einer subkonjunktivalen Fibrose führte. Diese Beeinträchtigung der Augenoberfläche hatte eine Verhornung, eine verdickte Epithelschicht und einen Untergang von Becherzellen zur Folge [68, 69].

Ein um 60 % reduziertes Vorkommen an Becherzellen unter einer Langzeittherapie mit Timolol, alleine oder kombiniert mit Dipivefrin, konnten auch Yalvac et al. im Vergleich zu einer gesunden Versuchsgruppe feststellen. Die dadurch veränderte Zusammensetzung der Tränenflüssigkeit minderte die Qualität und erhöhte die Instabilität des Tränenfilms [70]. Nuzzi et al. erhärteten diese Ergebnisse und entdeckten, dass die Therapiedauer die Produktion der Tränenflüssigkeit in den Becherzellen der Konjunktiva (Bindehaut) negativ beeinflusst. In einer dreimonatigen Untersuchung behandelten sie zudem Probanden ohne Erkrankungen des vorderen Augenabschnittes mit BAC. Es resultierten Veränderungen der Konjunktiva und der Tränenflüssigkeit analog zu Patienten mit therapiertem Offenwinkelglaukom [71]. Zwischen unbehandelten Augen und mit konservierungsmittelfreiem Timolol therapierten Augen konnte kein Unterschied festgestellt werden [67, 70].

Eine herabgesetzte BUT wiesen auch Wilson et al. bei 16 Augengesunden nach. Diese wurde mit der Spaltlampe vor und 10 Minuten nach Einbringen von zwei Tropfen eines 0,01 % BAC-haltigen Lokalanästhetikums (Oxybuprocain) in jeweils ein Auge der Probanden ermittelt. Die „dry spots“, welche bei der Spaltlampenuntersuchung als schwarze Flecken beim Aufriss des Tränenfilms erschienen, traten nach BAC-Gabe doppelt so schnell auf. Als Ursache wurde hier das Auflösen der Lipidschicht durch die Grenzflächenaktivität von BAC vermutet. Daraus folgte eine Destabilisierung und erhöhte Evaporationsrate des Tränenfilms [72].

In den USA wurde eine Studie durchgeführt, bei der trockene Augen von (mit konservierungsmittelhaltigen Medikamenten behandelten) Glaukompatienten durch den OSDI© (Ocular Surface Disease Index), den Schirmer - Test und die BUT quantifiziert wurden und deutlich reduzierte Tränenfilmmengen resultierten [12, 73]. Pisella et al. untersuchten in einer klinischen Studie, wie häufig Symptome und klinische Veränderungen am Auge bei konservierungsmittelhaltigen Antiglaukomtherapeutika auftraten. In absteigender Häufigkeit waren dies Beschwerden bei der Benetzung durch die Augentropfen, ein Gefühl von Brennen, Fremdkörpergefühle, trockene Augen, Tränen und juckende Augenlider. Die Häufigkeit des Auftretens war signifikant geringer ausgeprägt bei Patienten, die mit konservierungsmittelfreien Betablockern behandelt wurden [74].

Die beschriebenen Untersuchungen zeigen auf, wie Konservierungsmittel zu Hornhaut- und Konjunktivaldefekten beitragen können. Sie führen in großem Maße zur Tränenfilminstabilität, da hierdurch die Glykokalix bzw. Muzinschicht keine kontinuierliche innere Tränenfilmschicht bilden kann.

4 Methoden zur Untersuchung des vorderen Augenabschnittes

4.1 Anamnese

Die Anamnese enthält neben dem allgemeinen Teil auch die Arbeitsplatzanamnese (z.B. chemische und physikalische Reizungen des Auges durch Lacke, Farben, Rauch oder Smog, sowie Klimaanlage und Heizungen), die Freizeitanamnese (z.B. Hobbys, die mögliche Auswirkungen auf den Tränenfilm haben, wie Schwimmen in chlorhaltigem Wasser, starke Sonnenstrahlung beim Wandern oder Windsurfen), die Augenanamnese (z. B. vorausgegangene Krankheiten und deren Therapien, Kontaktlinsen, Augenfehlbildungen und Operationen am Auge) und die Medikamentenanamnese (z. B. verändern einige Medikamente die Zusammensetzung des Tränenfilms und können dadurch zum trockenen Auge führen. Dazu gehören: Betablocker, Atropin, Antihistaminika, Antidepressiva und viele mehr) [53]. All diese Punkte tragen dazu bei, die Ätiologie des veränderten Tränenfilms herauszufinden.

4.2 Der OSDI®-Fragebogen

Die subjektive Einschätzung eines trockenen Auges kann mithilfe eines standardisierten Fragebogens, dem Ocular Surface Disease Index® (OSDI®) erfasst werden (siehe Tabelle 1). Er wurde von Outcomes Research Group at Allergan Inc. (Irvine, Calif) entwickelt und beinhaltet 12 Fragen, die in drei Kategorien unterteilt werden [75]:

1. Definierte Symptome der Augen
2. Einschränkungen in unterschiedlichen Alltagssituationen
3. Reaktionen auf bestimmte Umwelteinflüsse

Die Fragen beziehen sich alle auf die vorangegangene Woche. Um die subjektiven Angaben zu objektivieren, sind die Antwortmöglichkeiten auf eine Skala von 0 bis 4 beschränkt, wobei 0 zu keiner Zeit oder nicht beantwortet bedeutet, 1 manchmal, 2 die Hälfte der Zeit, 3 meistens und 4 für immer steht. Die Probanden kreuzen die für sie am ehesten zutreffende Antwort an. Haben sie sich in dem angegebenen Zeitraum nicht in der angegebenen Situation oder unter den angegebenen Umständen befunden, wird „N/A“ ausgewählt.

Tabelle 1: Der Ocular Surface Disease Index® [75].

Sind bei Ihnen folgende Symptome während der letzten Woche aufgetreten?	Immer	Meistens	Die Hälfte der Zeit	Manchmal	Nie
1. Lichtempfindliche Augen?	4	3	2	1	0
2. Augenreiben durch Augengriß?	4	3	2	1	0
3. Schmerzhaft oder wund Augen?	4	3	2	1	0
4. Verschwommene Sicht?	4	3	2	1	0
5. Mangelhafte/ Schwache Sicht?	4	3	2	1	0

Haben Sie die Augenprobleme bei der Durchführung der folgenden Aktivitäten, während der letzten Woche, eingeschränkt?	Immer	Meistens	Die Hälfte der Zeit	Manchmal	Nie	N/A
6. Beim Lesen?	4	3	2	1	0	N/A
7. Beim Fahren in der Nacht?	4	3	2	1	0	N/A
8. Beim Arbeiten am PC, am Bank- oder Geldautomat?	4	3	2	1	0	N/A
9. Beim Fernsehen schauen?	4	3	2	1	0	N/A

Hatten Sie während der letzten Woche in den folgenden Situationen ein unangenehmes Gefühl in den Augen?	Immer	Meistens	Die Hälfte der Zeit	Manchmal	Nie	N/A
10. Bei windigen Umständen?	4	3	2	1	0	N/A
11. An Orten oder Gebieten mit geringer Luftfeuchtigkeit?	4	3	2	1	0	N/A
11. An Orten, die klimatisiert sind?	4	3	2	1	0	N/A

Die Gesamtpunktzahl des OSDI wird nach folgender Formel berechnet:

$$\text{OSD} = \frac{\text{Summe der Punktzahlen für alle beantworteten Fragen} \times 25}{\text{Gesamtzahl der beantworteten Fragen}}$$

Die OSDI-Werte sind auf einer Skala von 0 bis 100 aufgelistet und in Schweregrade eingeteilt. Je höher die erreichte Punktzahl ist, desto stärker sind die subjektiven Beschwerden des trockenen Auges. Die Punkte reichen von 0 - 12 (keine pathologischen Veränderungen), über 13 - 22 (leichte Symptomatik des trockenen Auges), zu 23 - 32 (mäßige trockenes Auge) und 33 - 100 (schwerwiegende Symptomatik des trockenen Auges) [51, 75 - 77].

4.3 Untersuchung des Lidrandes

4.3.1 Blinzelrate

Das Blinzeln bewirkt nicht nur die Verteilung des Tränenfilms auf der Augenoberfläche, sondern regt auch die Meibomdrüsen zur Sekretion an. Die Blinzelrate schwankt im Alltag extrem um $15,5 \pm 13,7$ pro Minute. Bei Computertätigkeiten oder während des Lesens kann sie bis auf $5,3 \pm 4,5$ Lidschläge pro Minute herabgesetzt sein [78, 79].

4.3.2 Lidschluss und Lidkante

Weisen die Lider einen disrudenten Lidschluss (z. B. bei Ektropie oder Entropie) oder einen unvollständigen Lidschluss (z. B. bei Fazialislähmung) auf, kann dies zu einer erhöhten Evaporationsrate führen. Auch eine Entzündung der Lidränder kann eine Veränderung des Tränenfilms zur Folge haben [80].

4.3.3 Abstrich der Lidkante

Um das Sekret der Meibom - Drüsen zu untersuchen, übt man mit einem Kimura-Spatel einen leichten Druck auf den Lidrand aus. Dadurch wird das Sekret freigesetzt und kann auf verschiedenen Nährböden (Agar-Platten, Thioglycolat-Bouillon, etc.) kultiviert werden. Auf diese Weise ermittelt man den pathologischen Mikroorganismus und seine Resistenzvielfalt [80].

4.3.4 Meibometrie

Mithilfe der Meibometrie kann die Lipidmenge am Lidrand quantifiziert werden. Dazu entnimmt man mit einem Klebeband Sekretproben an der Lidkante und analysiert sie densitometrisch [81].

4.4 Qualitative Tränenfilmuntersuchungsmethoden

4.4.1 Die Tränenfilmuntersuchung mit dem Keeler TearScope-Plus®

Das Keeler TearScope-Plus® (Keeler, Windsor, United Kingdom) wurde von der Firma Keeler zusammen mit Dr. Guillon entwickelt und dient der nichtinvasiven Untersuchung des Tränenfilms (Non-Invasive Tearfilm Break Up Time, NIBUT) und seiner Charakteristiken. Das Gerät wird entweder direkt vor das Auge gehalten oder an einer biomikroskopischen Spaltlampe befestigt, um eine stärkere Vergrößerung zu erlangen. Das Messinstrument besteht aus einem Haltegriff und einer darauf angebrachten, kegelförmig zulaufenden kurzen Röhre, die im Inneren ein Gittermuster enthält. Dieses Gitter wird von einer dahinterliegenden Kaltkathode weiß beleuchtet. Die Kaltkathode hat den Vorteil, dass die Verdunstung des Tränenfilms

während der Untersuchung minimiert wird. Das Gerät erzeugt damit eine diffuse Beleuchtung des Gitters, welches von dem Tränenfilm reflektiert wird und dieser dadurch begutachtet werden kann. Ein stabiler Tränenfilm liefert ein exaktes Spiegelbild des eingebauten Gitters. Verzerrt oder verformt sich das Spiegelbild im Laufe der Untersuchung, spricht dies für einen Aufriss im Tränenfilm und damit für eine Störung in der Lipidschicht. Auf eine Veränderung der Hornhautoberfläche deutet eine von Anfang an bestehende Verzerrung des gespiegelten Musters hin. Um eine Verdunstung des Tränenfilms und die reflektorische Tränensekretion durch andere Lichtquellen zu verhindern, sollte der Raum abgedunkelt werden. Die Zeit zwischen dem letzten kompletten Lidschluss und dem ersten Anzeichen einer Verzerrung des Bildes wird mithilfe der integrierten Stoppuhr gemessen. Aus drei Messungen bildet man den Mittelwert, der als repräsentatives Ergebnis für die Tränenfilmstabilität des Probanden steht. Durchschnittlich beträgt die BUT, abhängig vom Untersuchungsverfahren, bei Augengesunden circa 20 - 30 Sekunden. Eine BUT unter 10 Sekunden wird als pathologisch angesehen [10, 82, 83].

4.5 Die Untersuchung des vorderen Augenabschnittes mittels der Licht-, Spiegel- und Laser-Rastermikroskopie

Mithilfe eines besonderen Objektivadapters wurde ein Confocal-Laser-Scanning-Ophthalmoskop (CLSO, Firma Zeiss) zu einem Laser-Rastermikroskop für den vorderen Teil des Auges und des Tränenfilms abgewandelt. Dadurch wird ein hoher Grad an Bildschärfe erreicht und eine nichtinvasive Darstellung des präcornealen Tränenfilms (inklusive der einzelnen Schichten), von Luftbläschen, Meibomsekret, Epithelzellteilen, sowie von Tränenfilmaufrissen erreicht. Um die Dynamik zu beurteilen, werden gleichzeitig das Videobild und das Zeitbild aufgenommen. Zusätzlich wurde eine Spaltlampe mit Vorsätzen versehen, die eine 200fache Vergrößerung erlauben und den Tränenfilm als Spiegelbild wiedergeben. Mit einem weiteren Vorsatz, einem Gitter, können Tränenfilmaufrisscharakteristiken anhand der Reflexion des Musters, nichtinvasiv (und ohne Fluorescein), analysiert werden [84].

4.6 Tränen-Clearance

Die Tränen-Clearance erfasst die Tränenproduktion, deren Stabilität, Verdunstung und Abfluss über den Ductus nasolacrimalis. Hilfreich ist dieser Test für eine umfassende Untersuchung der Tränendrüse, der Augenoberfläche und der Meibom-Drüse [85, 86]. Die Abnahme der Fluoresceinkonzentration im Tränenfilm über eine bestimmte Zeit wird als Tränen-Clearance

bezeichnet [87]. Dazu wird ein Standard- Schirmer - Streifen 1, 10, 20 und 30 Minuten nach Einbringung von 5 μ l Fluoresceinlösung für eine Minute in das untere temporale Lid eingehängt. Die Streifen werden nun unter einem Blaufilter, mit fluorphotometrischen Methoden oder anhand einer Analogskala analysiert. Nach ca. 20 Minuten sollte kein Farbstoff mehr nachweisbar sein. [88].

4.7 Untersuchung der Muzinschicht

4.7.1 Farnkrauttest

Die Muzinschicht des Tränenfilms kann mithilfe des Farnkrauttests untersucht werden. Er macht sich dabei zunutze, dass schleimhaltige Substanzen auskristallisieren, wenn sie trocknen. Diese Kristalle gleichen farnkrautähnlichen Figuren, die mikroskopisch beurteilt werden können und Rückschlüsse auf einen Muzinmangel oder eine veränderte Osmolarität zulassen. Dazu wird 1 μ l Tränenflüssigkeit mit einer Mikropipette entnommen und auf einen Objektträger getropft. Das Farnkrautphänomen kann, nach 10 Minuten Trockenzeit bei Raumtemperatur, unter dem Mikroskop begutachtet werden. Dafür eignet sich besonders ein Phasenmikroskop mit 40 bis 100facher Vergrößerung. Die erhaltenen Muster werden in vier Stadien nach Rolando eingeteilt: Von Stadium 1, bei dem ein einheitliches Farnkrautmuster vorhanden ist über die mittleren Stadien, bei denen kleine und große Löcher im Muster erkennbar sind, bis Stadium 4, wo nur noch Überbleibsel vom kristallinen Muster vorhanden sind. Bei Veränderungen der Muzinschicht, wie beim Schleimhautpemphigoid, Stevens–Johnson-Syndrom, Trachom oder nach Verätzung sind diese pathologischen Muster charakteristisch. Auch im Fall der Keratokonjunctivis Sicca (KKS) tritt kaum ein Farnkrautphänomen auf, da der Tränenfilm hyperosmolar und durch eine veränderte Zusammensetzung gekennzeichnet ist [53, 87, 89 - 91].

4.7.2 Immunoblotanalyse von Muzinen

Das ausschließlich von den konjunktivalen Becherzellen sezernierte Muzin MUC5AC ist Gelbildend und ein bedeutsamer Marker in Studien über Syndrome des trockenen Auges. Es kann direkt aus der Tränenflüssigkeit, durch eine Mikropipette oder von einem Schirmer-Teststreifen nach dessen Anwendung entnommen werden und mittels ELISA-Test (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) oder durch direkte immunhistochemische Untersuchungen bestimmt werden [28].

4.8 Untersuchungen zur wässrigen Phase des Tränenfilms

4.8.1 Schirmer-Test

Durch Otto Schirmer wurde im Jahr 1903 der Schirmer - Test als Untersuchungsmethode der Tränensekretionsmenge eingeführt [92]. Es werden Schirmer – I - und II - Test unterschieden, wobei der erste Test die Reizsekretion und der zweite Test, durch vorherige Gabe eines Lokalanästhetikums, die basale Sekretion bestimmt. Diese Tests untersuchen die wässrige Phase des Tränenfilms. Dazu wird ein 0,5 cm breiter steriler Filterpapierstreifen an dem einen Ende abgeknickt und, ohne die Hornhaut zu berühren, in den unteren temporalen Bindehautsack eingehängt. Der Patient wird daraufhin gebeten, die Augen zu schließen. Durch das unangenehme Gefühl des Fremdkörpers, findet eine verstärkte Sekretion statt, die sogenannte Reizsekretion. Nach 5 Minuten wird der Papierstreifen vorsichtig entfernt und die tränenbefeuchtete Strecke anhand einer dort aufgedruckten Skala abgelesen. Physiologisch sind 10 bis 20 mm des Streifens benetzt, ab einem Wert von unter 10 mm ist der Test jedoch pathologisch. Die Testergebnisse sind allerdings aufgrund der unterschiedlichen Empfindlichkeiten der Patienten nicht konstant und daher ist die Aussagekraft des Tests als begrenzt anzusehen.

Dieses Problem umgeht der Schirmer – II - Test, der auch als Jones - Test bekannt ist, durch die Verabreichung eines Lokalanästhetikums 5 Minuten vor Beginn der Durchführung. Die dadurch entstehende Unempfindlichkeit gegenüber mechanischen Reizen verhindert eine überschießende Tränensekretion und es wird nur die basale Sekretion gemessen. Der Ablauf ist derselbe wie beim ersten Test. Als pathologisch angesehen werden hier Messergebnisse, die unter 6 mm liegen. Im Gegensatz zum Schirmer–I-Test ist der Schirmer – II - Test ein verlässliches Verfahren zur Einschätzung eines trockenen Auges, da sich eine geringe basale Tränensekretion in einer verkürzten Befeuchtungsstrecke darstellt.

4.8.2 Phenolrot–Faden-Test

Der Phenolrot – Faden - Test (PRT) [15] wird mit einem Baumwollfaden durchgeführt, welcher mit dem pH - Indikator Phenolrot gefärbt wurde. Bei Kontakt mit dem leicht alkalischen Tränenfilm findet an dem Baumwollfaden ein Farbumschlag von rot nach gelb statt. Mithilfe des Baumwollfadens soll die Reflexstimulation der Tränendrüse umgangen werden, die durch Reizung sensibler Nervenfasern der Hornhaut mittels des Papierstreifens des Schirmer-I-Tests ausgelöst wird. Dazu wird ein Teil des Fadens in das Unterlid temporal eingehängt und der Proband gebeten, die Augen zu schließen. Nach 15 Sekunden wird der Faden entfernt. Eine gefärbte Strecke unter 10 mm ist pathologisch. In der Theorie ging man

davon aus, dass der PRT den Tränenfluss oder die Tränenproduktionsrate misst. Jedoch weiß man heute, dass der PRT das Vorhandensein und die Menge des Tränenfilms im unteren Konjunktivalsack abschätzt und nicht allein die Produktionsrate bestimmt [14, 93, 94].

4.8.3 Osmolarität/MMP-9 Test

Ein wichtiges Indiz für die Quantität des Tränenfilms ist die Osmolarität. Mit einer Entnahmesonde werden circa fünf Nanoliter des Tränenfilms aufgenommen und anhand des TearLab© kann in wenigen Sekunden die Osmolarität bestimmt werden. Hierbei werden die osmotisch wirksamen Teilchen des Tränenfilms ermittelt. Die Osmolarität ist beim trockenen Auge erhöht [95], wobei die untere Grenze zum pathologischen Bereich bei 312 mOsmol/L liegt. Beeinflusst wird die Osmolarität von der Becherzellichte, von epithelialen Veränderungen der Hornhautoberfläche [53, 96], sowie von einem gestörten Gleichgewicht zwischen Tränenproduktion und -verdunstung [87]. In klinischen Studien wird derzeit ein Schnelltest auf Matrix-Metalloproteinase-9 (MMP-9) bei Patienten mit trockenen Augen bewertet. Dieser kann Hinweise auf Entzündungen liefern. Aufgrund der niedrigen Datenmenge und der widersprüchlichen Ergebnisse findet bis heute keiner der beiden Tests als Routineverfahren zur Diagnostik des trockenen Auges Verwendung [6, 97].

4.8.4 Messung der Höhe des Tränenmeniskus

Der Tränensee an der inneren Unterlidkante wird als Tränenmeniskus bezeichnet. Die Höhe des Tränenmeniskus (TMH) entspricht dabei der Menge des Tränenfilms und beträgt bei Augengesunden durchschnittlich $0,35 \text{ mm} \pm 0,13$ [98]. Ein Meniskus unter 0,2 mm wird als pathologisch angesehen. Um die Höhe des Tränenmeniskus zu bestimmen, werden unterschiedliche invasive und nichtinvasive Methoden beschrieben [17, 50, 99 - 102]. Mittels der Spaltlampe kann der Meniskus z. B. auch ohne Fluorescein beurteilt werden. Die Untersuchung sollte mit einer minimalen Beleuchtung stattfinden, um das Ergebnis durch eine reflektorische Sekretion (aufgrund der Blendung) nicht zu verfälschen. Evaluiert wird die Höhe und Form des Tränensees. Erscheint der Tränenmeniskus eher uneben, so lässt dies auf einen zu niedrigen Wasseranteil bzw. einen erhöhten Fettanteil des Tränenfilms schließen [103]. Ein schaumiger Tränenfilm deutet auf eine Fehlfunktion der Meibom-Drüse hin. Hier liegt eine Störung der Lipidfilmkonstellation vor, bei der zu viele freie Fettsäuren vorhanden sind [87].

4.8.5 Tränenproteinanalyse

Patienten mit Sicca-Symptomatik haben meist eine veränderte Zusammensetzung der Proteine im Tränenfilm. Ohashi et al. untersuchten in ihrer Studie die Tränenproteinmenge bei

Probanden mit normalen und trockenen Augen. Es zeigte sich, dass bei Probanden mit okulärer Trockenheit z. B. Lactoferrin, EGF (epidermaler Wachstumsfaktor) und Lysozym erniedrigt sind, dagegen war Aquaporin 5 erhöht. Um die Tränenproteine zu bestimmen, können sie aus Tränendrüsenproben oder direkt aus der Tränenflüssigkeit entnommen werden und mittels der ELISA-Methode, der High-Performance-liquid-Chromatographie (HPLC), der Kapillarelektrophorese, der Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese (PAGE), der Flowzytometrie, der Polymerasekettenreaktion und mit SELDI-TOF-MS (Surface-enhanced Laser Adsorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry)-basierten ProteinChip-Arrays untersucht werden [28, 104].

4.9 Analyse des Lipidfilms

4.9.1 Träneninterferometrie

Zusätzlich zur NIBUT lässt sich mit dem Keeler Tearscope auch die Lipidschicht des Tränenfilms bezüglich der Dicke und Morphologie anhand ihrer Interferenzmuster beurteilen [21, 105, 106]. Interferenzen entstehen, wenn Lichtwellen von dünnen, transparenten Grenzflächen (der äußeren und inneren Grenzfläche der extrem dünnen Lipidschicht, sowie an tieferen Grenzflächen) unterschiedlich reflektiert werden. In Abhängigkeit der Wellenlänge des reflektierten Lichts lassen sich an der untersuchten Oberfläche Farben und Muster erkennen, anhand derer man Rückschlüsse auf die Dicke zieht [107].

Ein dickerer Lipidfilm präsentiert sich in einer bläulichen Farbe, ein dünnerer Film führt zu kurzwelligeren Interferenzen und zeigt sich daher in rötlicher Farbe. Während die Augen bei der Untersuchung ganz normal blinzeln können, beobachtet man die Interferenzmuster sowie -farben, und teilt die Lipidschichtdicke in Grade ein. Hier spricht man von Grad 1 bei ungleichmäßiger Verteilung der Lipidschicht (offenes Maschenwerk), von Grad 2 bei einheitlicher Verteilung der Lipidschicht (geschlossenes Maschenwerk), von Grad 3 bei ungleichmäßigen Wellen, von Grad 4, wenn einige Farben und eine ungleichmäßige Verteilung der Lipidschicht vorliegen, von Grad 5 bei normalen Farben der Lipidschicht (braun und blau) und von Grad 6 bei abnormen Farben (rot und grün). Die Grade 2 - 5 zeigen eine normale Lipidschicht an und sind mit einer normalen Tränenfilmstabilität vereinbar. Das offene Maschenwerk beschreibt eine dünne Lipidschicht, welche gewöhnlich mit Symptomen des trockenen Auges einhergeht. Das Muster bei Grad 6 kennzeichnet eine extrem dicke Lipidschicht, die von einer abnorm erhöhten Sekretion der Meibom-Drüse herrührt [21, 105, 106, 108, 109].

4.9.2 Evaporimetrie

Der Evaporimeter nach REFOJO et al. (1986) misst mithilfe einer luftdicht verschlossenen Brille, ähnlich einer Schwimmbrille, die Verdunstung der Tränenflüssigkeit. Dazu wird Luft mit einem bestimmten Feuchtigkeitsanteil in die Brille eingelassen und der Flüssigkeitsanteil an der austretenden Luft mittels eines Sensors gemessen. Der Proband wird gebeten die Augen solange geschlossen zu halten, bis die relative Luftfeuchtigkeit innerhalb der Brille erreicht ist, um die Ergebnisse nicht zu verfälschen. Ist diese erreicht, soll der Proband die Augen für eine Minute offenhalten. Auf die Lider und die augenumgebende Region trägt man Vaseline auf, um den Einfluss auf die Verdunstung zu minimieren. Die Evaporationsrate ist dabei proportional zur Instabilität des Tränenfilms [53, 110]. Nach Tsubota und Yamada (1992) weisen Augengesunde bei 40 %iger Basisfeuchtigkeit eine normale Evaporationsrate von $15,6 \pm 3,8 \times 10^{-7}$ g/s auf [111]. McCulley et al. fanden heraus, dass die Evaporationsrate von der Basisfeuchtigkeit des Auges abhängt und konnten damit erklären, warum die Beschwerden bei Siccapatienten und bei Patienten, die sich einer LASIK-Operation (laser-assisted in situ keratomileusis) unterzogen haben, in trockener Raumluft zunehmen [112].

4.10 Vitalfärbungen

4.10.1 Fluorescein

In der Routinediagnostik werden 5 µl einer 0,5 - 1 %igen Natriumfluoresceinlösung auf die bulbäre Bindehaut eingebracht. Nach der Auftragung wird ein Gelbfilter (ca. 520 nm) an der Spaltlampe zugeschaltet, um den Kontrast der Hornhautfärbung zu verstärken. Zur Einschätzung der Epitheldefekte der Hornhaut nutzt man einen Kobaltblaufilter. Das normale Hornhautepithel lässt sich nicht anfärben. Fehlt jedoch die muköse Schicht des Tränenfilms, dringt die Farbe bis zum Hornhautepithel durch und färbt dieses an.

4.10.2 Bengalrosa

Ein Tropfen Bengalrosa wird in Form einer 0,5 - 1%igen Lösung in das Unterlid eingebracht. Eine Bewertung ist erst nach 2 Minuten Einwirkungszeit empfohlen, um eine Schädigung der Horn- oder Bindehaut nicht zu unterschätzen. Es werden dabei besonders degenerierte oder abgestorbene Zellen, sowie Schleimstoffe farblich markiert. Die Anfärbbarkeit der untersuchten Regionen (nasales Dreieck, Hornhaut, temporales Dreieck) wird nach dem Bijsterveld-Score in 3 Grade (gering, mäßig und deutlich) eingeteilt. Bengalrosa bringt jedoch einige Nachteile mit sich, wie ein stark brennendes Gefühl beim Auftragen in die Bindehaut und eine steigende toxische Wirkung bei höheren Konzentrationen [53, 113].

4.10.3 Lissamingrün

Die Anfärbung der Horn- oder Bindehaut mit Lissamingrün erfolgt nach der gleichen Methode wie mit Bengalrosa. Der entscheidende Unterschied zu Bengalrosa ist, dass Lissamingrün keine schädigende Wirkung auf das Hornhautepithel besitzt [53, 113].

4.11 Untersuchung der lidkantenparallelen Konjunktivalfalten

Lidkantenparallele Konjunktivalfalten (LIPCOF) treten bei Menschen mit trockenen Augen an der Übergangszone vom mittleren zum temporalen Drittel des unteren Bindehautbereichs auf. Eine Übersicht über die Falten bekommt man mithilfe der Spaltlampe. Die Anzahl und Höhe der LIPCOF weisen auf den Grad des trockenen Auges hin. Hoh et al. zeigten 1995 bei der Untersuchung von symptomatischen Siccapatienten, dass es eine Verbindung zwischen den LIPCOF und dem Ausmaß der okulären Trockenheit gibt [114]. Die Einteilungsgrade nach Hoh richten sich nach der Größe der konjunktivalen Falten, die mit der Höhe des Tränenmeniskus (=TMH) verglichen werden:

- Grad 0: Keine dauerhaft bestehende Falte
- Grad 1: Eine einzelne kleine Falte, die unter der TMH liegt erscheint in der primären Augenposition
- Grad 2: Viele Falten, die bis zur TMH reichen
- Grad 3: Viele Falten, die über den Tränenmeniskus hinausgehen

Zu beachten ist hierbei, dass echte LIPCOF verschwinden, sobald der Untersucher das Unterlid vom Auge wegzieht. Sie bilden sich nach mehrmaligem Blinzeln wieder in genau der gleichen Ausprägung [103, 115].

4.12 Impressionszytologie

Das Verfahren beruht auf der Entnahme von oberflächlichen Lagen der okulären Epithelschicht mithilfe eines Filterpapiers aus Zellulose. Die entfernten Zellen können daraufhin einer histologischen, immunhistologischen oder molekularen Analyse unterzogen werden. Zuerst wurde diese Methode von Egbert et al. im Jahr 1977 beschrieben, um Becherzellen zu untersuchen. Seither wurde die Technik genutzt, um Veränderungen der Augenoberfläche zu analysieren. Durch Modifizierungen ist es heutzutage eine einfach durchzuführende, nichtinvasive Untersuchung, mittels der man verlässliche Informationen über den entnommenen Bereich der Probe gewinnen kann und die dem Patienten kaum Unannehmlichkeiten zufügt [116 - 121]. Nach Betäubung der Bindehaut, wird der Tränenfilm abgetupft. Ein Millipore-Filter wird bei 12 Uhr mittels eines Tonometers (durch einen Druck von 25 - 30 mmHg) für 2 Sekunden auf

die Bindehaut gedrückt, anschließend sorgfältig abgezogen und das Gleiche mit einem neuen Filter auf 3, 6 und 9 Uhr wiederholt. Da die Becherzellichte in den verschiedenen Bereichen stark schwankt, ist dieses Vorgehen notwendig. Die Millipore-Filterpapiere werden analog zu ihrem Entnahmeort auf einem Objektträger ausgebreitet und mit hochprozentigem Alkohol fixiert.

Anschließend erfolgt die Färbung mit PAS (periodic acid-schiff reaction), welches die Becherzellen in dunkelrosa bis violetter Farbe markiert und Zellkerne von abgestorbenen oder verhornten Zellen blass darstellt. Bei einem schweren Siccasyndrom zeigt sich das kondensierte Chromatin der Kerne in Form eines „S“, welches auch „snake“ genannt wird. Eine Einteilung erfolgt in 4 Stadien (siehe Tabelle 2), wobei Stadium 1 einen normalen und Stadium 4 einen hochgradig pathologischen Befund darstellt. Zwischen der Impressionszytologie und den subjektiven Symptomen, sowie den objektiven Anzeichen einer okulären Trockenheit besteht Analysen zufolge ein eindeutiger Zusammenhang [87].

Tabelle 2: Stadien der impressionszytologischen Befunde [87].

	Becherzellanzahl	Epithelzellen	Zusammenhang	Kern-Plasma-Relation
Stadium 0	Viele (normal)	Klein & rund	Vorhanden	1:1 oder 1:2
Stadium 1	Stark reduziert	Vergrößert	Verlust	1:3
Stadium 2	Sehr gering	Sehr groß & polygonal	Beginnende Keratinisierung	1:4
Stadium 3	Nicht vorhanden	Einzelne mit pyknotischen Kernen & Snakes		> 1:6

4.13 Hornhautsensibilität

Eine verminderte Reizsekretion der Tränendrüse kann auch aus einer herabgesetzten oder fehlenden Hornhautsensibilität resultieren. Daher ist die Messung der Hornhautsensibilität sehr bedeutsam und kann mithilfe des Hornhautästhesiometers (nach Cochet Bonnet) oder eines feinen Wattfadens geprüft werden [53, 87].

5 Aktueller Stand der Methoden zur Diagnostik des trockenen Auges

Das trockene Auge ist ein verbreitetes Syndrom, dessen Prävalenz weltweit von 5 – 35 % reicht. Bis heute hat sich offiziell noch keine einzelne Untersuchungsmethode als Goldstandard zur Diagnostik des trockenen Auges durchgesetzt. Im Jahr 2007 wurden von dem Dry Eye Workshop fünf diagnostische Richtlinien veröffentlicht [45] (alle Untersuchungsmethoden wurden im Kapitel 4 beschrieben).

Die erste Richtlinie sieht eine Anamnese evtl. anhand eines Fragebogens vor, um differentialdiagnostisch mögliche Erkrankungen wie bspw. eine Entzündung und Nebenwirkungen von Medikamenten auszuschließen.

Der Schirmer-Test wird als gängige Methode zur Beurteilung der Tränenmenge angesehen [122]. Aufgrund seiner niedrigen Spezifität, Sensitivität und Reproduzierbarkeit hat er als alleiniges Beurteilungskriterium jedoch keine ausreichende Aussagekraft zur Diagnostik des trockenen Auges [123 - 125].

Die BUT dient als weiteres Diagnosekriterium und gibt Auskunft über die Stabilität des Tränenfilms und die Beschaffung der Lipidschicht. Mittels der gebräuchlichen Fluoresceininstallation im Bindehautsack, kann der Tränenfilm an der Spaltlampe untersucht und die BUT bestimmt werden. Die Anfärbung der Binde- und besonders der Hornhaut mit Fluorescein, Lissamingrün oder Bengalrosa wird empfohlen, um diese besser auf Unregelmäßigkeiten untersuchen zu können.

Die Lidkante, die Öffnung und das Sekret der Meibomdrüse werden auf pathologische Veränderungen untersucht, um Rückschlüsse auf die Lipidschicht des Tränenfilms zu ziehen. Zur äußerlichen Begutachtung der Drüse wird die Spaltlampe verwendet. Anhand eines Meibometers wird der Lipidgehalt einer Sekretprobe der Meibomdrüsen photometrisch gemessen. Nichtinvasive Untersuchungen können mittels des Keeler TearScope-Plus[®], der Licht-, Spiegel- und Laserrastermikroskopie und des Oculus[®] Keratographen 5M durchgeführt werden. Zur Kontaktlinsenanpassung ist der Oculus[®] Keratograph 5M bereits im alltäglichen Betrieb, jedoch hat er sich in der Diagnostik der Tränenfilmstabilität noch nicht etabliert. Klinisch stellte sich die Osmolarität des Tränenfilms als bestes Maß für die Diagnose des trockenen Auges heraus. Sie wird mittels des TearLab[®] gemessen. Zudem steht die Hyperosmolarität in engem Zusammenhang mit dem Schweregrad der Krankheit. Weitere Untersuchungen sind jedoch nötig um den Subtyp der Erkrankung zu differenzieren [102, 126].

Im Jahr 2011 wurde beim Meibom Gland Dysfunction (MGD) Workshop die These aufgestellt, dass eine Fehlfunktion der Meibomdrüse die Hauptursache des trockenen Auges sein kann. Die Darstellung des Schweregrades des trockenen Auges anhand der Symptomstärke und der

klinischen Befunde sind in Tabelle 3 dargestellt. Bislang konnte jedoch keine weltweite Einigung über die Einteilung, Definition, Diagnose und Therapie der MGD gefunden werden [127, 128].

Eine aktuellere Veröffentlichung von Milner et al. aus dem Jahr 2017 stellt einen Algorithmus zur Diagnostik und Therapie des dysfunktionalen Tränensyndroms (DTS) vor. Dieses wird definiert als Funktionsstörung des Tränenfilms, welche dessen Qualität oder Quantität betrifft und sich symptomatisch an der Oberfläche des Auges bemerkbar macht. Dabei können mehrere Krankheitsursachen involviert sein und eine einzelne oder mehrere Komponenten des Tränenfilms betroffen sein [102]. Die Veröffentlichung enthält Leitlinien aus den Delphi panel treatment recommendations for dysfunctional tear syndrome (DTS) (2006), des International Dry Eye Workshop (DEWS) (2007) und von der American Academy of Ophthalmology (2013).

Tabelle 3: Einteilung des trockenen Auges nach Schweregraden [127].

Schweregrad des trockenen Auges	1	2	3	4
Schweregrad und Häufigkeit	mild, episodisch ungünstige Umweltbedingungen	moderat, auch ohne Umweltbelastung	schwer, häufig/konstant ohne Umweltbelastung	äußerst schwer, behindernd
Visussymptome	keine, eventuell „müde Augen“	vorhanden, aktivitätslimitierende Episoden	vorhanden, limitieren chronisch/konstant Aktivitäten	konstant, eventuell behindernd
Bindehautinjektion	keine/mild	keine/mild	+/-	+ /++
Hornhautanfärbung	keine/mild	variabel	vor allem zentral	keine Angaben
Hornhautbefund Tränenbefund	keine/mild	variabel	Keratopathia filiformis, Mukusbildung, Tränendebris	Keratopathia filiformis, Hornhautulkus, Mukusbildung, Tränendebris
Lider/ Meibomdrüsen	MDD variabel	MDD variabel	MDD häufig	Trichiasis, Keratinisierung, Symblephara
Tränenfilmaufrisszeit (Sekunden)	variabel	≤ 10	≤ 5	sofortiger Tränenfilmaufriss
Schirmer-Test (Messung der Sekretionsmenge der Tränendrüse) (mm/5 Minuten)	variabel	≤ 10	≤ 5	≤ 2

MDD= Meibomdrüsendysfunktion:- nicht vorhanden, + mild, ++ moderate.

Es zeigt sich, dass für die optimale Behandlung erst der Subtyp des dysfunktionalen Tränen-syndroms ermittelt werden soll. Unterschieden werden 4 Subtypen:

- Mangel an Tränenflüssigkeit
- Blepharitis (Entzündung der Augenlider)/Meibomdrüsendysfunktion
- Mangel an Becherzellen/Muzinmangel
- Expositionsbedingtes DTS.

In einer Voruntersuchungsreihe wird bei jedem Patienten mit potentiell dem DTS, nach ausführlicher Anamneseerhebung, ein Test zur Sehschärfe durchgeführt. Dies ist nötig, da Patienten mit trockenen Augen häufig unter Sehstörungen leiden. Im Anschluss erfolgt die:

- Untersuchung der Tränenosmolarität
- Messung der Brechkraft des Auges
- Anwendung des Schirmer Tests (mit oder ohne Anästhesie)
- Durchführung eines Fragebogens (bspw. OSDI)
- Feststellung von Entzündungsmarkern im Tränenfilm (bspw. MMP¹-9)[6]

Zur Feststellung des Subtyps wird eine Reihe von Untersuchungen durchgeführt [126, 129]. Dazu gehört neben einer ausführlichen Untersuchung des äußerlichen Auges und der Lider auch eine Spaltlampenuntersuchung nach den Richtlinien des Dry Eye Workshops, die im oberen Abschnitt ausgeführt wurden.

Abhängig von diesen Messergebnissen können folgende Untersuchungsmethoden zusätzliche Informationen liefern [102]:

- Hornhauttopographie
- Darstellung des Tränenfilms (bspw. Darstellung des Tränenmeniskus mittels OCT² oder Untersuchung der Lipidschicht)
- Empfindlichkeit der Hornhaut
- Darstellung der Meibomdrüsen
- Kultivierung der Augenoberfläche
- Durchführung serologischer Tests

Anhand dieser Untersuchungsabläufe, welche im Jahr 2018 von Shimazaki et al. erneut bestätigt wurden, wird deutlich, wie umfangreich sich die Diagnostik des trockenen Auges gestalten kann [130].

¹ Matrixmetalloproteinase dient als ein Marker des Entzündungsschweregrades

² Optische Kohärenz Tomographie

6 Methoden und Probanden

6.1 Methoden zur Untersuchung der BUT

Die in der Arbeit verwendeten Messgeräte zur Untersuchung der BUT sind der Oculus® Keratograph 5M und die Spaltlampe.

6.1.1 Die Tränenfilmuntersuchung mit dem Oculus® Keratograph 5M

Der Oculus® Keratograph 5M (OCULUS Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Deutschland) ist ein optisches Messsystem und wird hauptsächlich zur Pachymetrie und zur Kontaktlinsenanpassung verwendet. Zusätzlich kann er auch zur Beurteilung des Tränenfilms und von Brechkraftveränderungen der Hornhautoberfläche genutzt werden. Der Keratograph besteht aus einer konvexen Halbkugel, deren Innenfläche mit konzentrischen Kreisen versehen ist (siehe Abbildung 3).



Abbildung 3: Beispiel einer Untersuchung mit dem Oculus® x Keratograph 5M [131].

Diese sogenannten Placidoringe werden von hinten innerhalb der Kalotte beleuchtet und auf der Hornhaut des Probanden abgebildet, welche die Kreise wiederum reflektiert (siehe Abbildung 4). Die Aufnahme des reflektierten Bildes geschieht mithilfe einer Optik und einer dahinter liegenden hochauflösenden CCD³- Kamera.

Es entsteht ein zweites Bild, welches mit dem originalen Bild verglichen wird. Dabei können Unterschiede ortssensitiv und zeitaufgelöst geprüft werden. Bei der Untersuchung der Hornhautoberfläche wird diffuses weißes Licht verwendet. Mithilfe eines Joysticks justiert der Untersucher die Optik des Gerätes in die richtige Position. Diese wird von der Software

³ Charge-coupled Device, ladungsgekoppeltes Bauteil

vorgegeben. Ist das Pupillenzentrum erreicht, gibt die Software dem Untersucher die Anweisung, den Probanden noch zweimal blinzeln zu lassen. Die Messung startet anschließend automatisch und dauert ca. 24 Sekunden. Durch vorzeitiges Blinzeln wird die Messung abgebrochen.



Abbildung 4: Darstellung der auf der Hornhaut des Probanden abgebildeten Placidoringe durch den Oculus[®] Keratograph 5M.

Bei dieser Untersuchung wird die BUT nichtinvasiv gemessen (non invasive tearfilm break up time = NITBUT). Sie erfolgt mit dem Keratograph und wird daher NIKBUT (non invasive keratograph break up time) genannt. Die NIKBUT wird in einer sogenannten tearmap (siehe Abbildung 5), einer topografischen Darstellung aller aufgerissenen Tränenfilmsegmente über die gemessene Zeit, abgebildet.

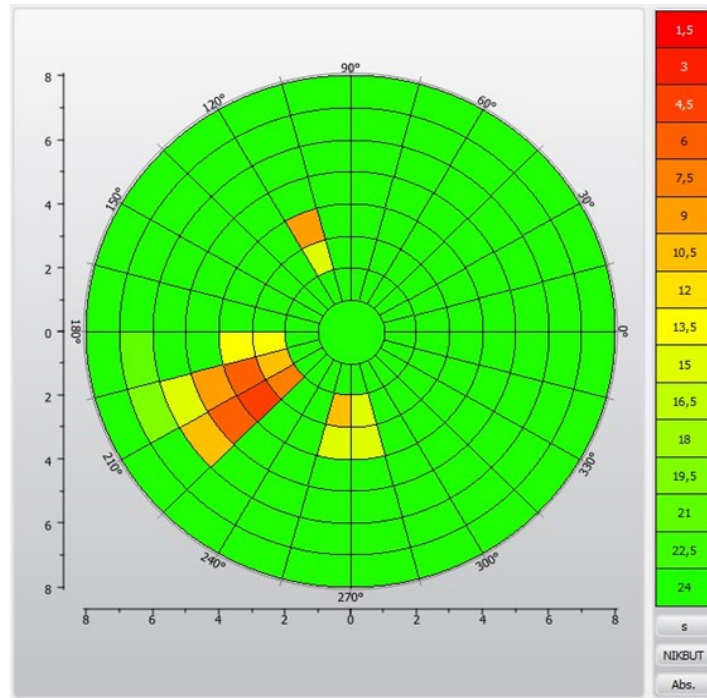


Abbildung 5: Tearmap einer Probandin.

Bis zu 20.000 Messpunkte werden auf der Augenoberfläche erfasst. Je nach Aufrisszeit wird das Tränenfilmsegment farblich markiert: Von rot (1,5 - 9 s) über gelb (>9 - 13,5 s) bis grün (>13,5 - 24 s). In Abbildung 5 ist die Tearmap einer Probandin am Ende der Untersuchung dargestellt. Die Tränenfilmaufrisse sind nach Lokalisation und farblich nach Zeit markiert. Erfolgt kein verfrühter Tränenfilmaufriss bleibt die Tearmap vollständig grün gefärbt. Die Aufrisscharakteristik wird in einem anderen Diagramm dargestellt (Abbildung 6), wobei die aufgerissenen Tränenfilmsegmente (TF-Seg.) prozentual in Abhängigkeit von der Zeit (t) dargestellt werden.

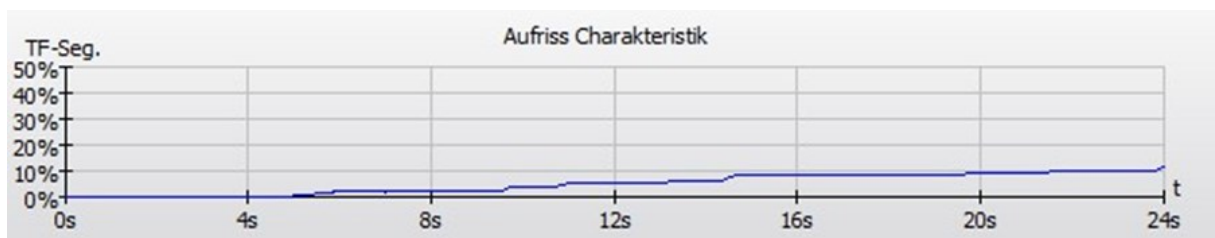


Abbildung 6: Tränenfilmaufriss-Charakteristik.

Bei jeder Untersuchung werden außerdem die Messdauer, der Zeitpunkt des ersten Tränensegmentaufrisses, die durchschnittliche NIKBUT (zeitlicher Mittelwert aller aufgerissenen Segmente) und die Klassifikation der Tränenfilmstabilität angegeben. Diese Klassifikation teilt die Aufrissmittelwerte in Grade ein: Grad 0 = Mittelwerte ≥ 14 s (stabiler Tränenfilm), Grad 1 = Mittelwerte ≥ 7 s bis < 14 s (kritische Tränenfilmstabilität), Grad 2 = Mittelwerte < 7 s

(instabiler Tränenfilm/ trockenes Auge). Zusätzliche Untersuchungsfunktionen des Keratographen sind:

- MeiboScan (zur morphologischen und dreidimensionalen Darstellung der Meibomdrüsen im Ober- und Unterlid)
- Messung der Lipidschichtstärke (mithilfe von Interferenzfarben und deren Struktur kann die Dicke der Lipidschicht beurteilt werden)
- Tränenfilm-Dynamik (anhand einer Videoaufnahme wird die Verteilung der Partikel im Tränenfilm sichtbar und durch deren Fließverhalten kann man Rückschlüsse auf die Viskosität des Tränenfilms ziehen)
- Bestimmung der Tränenmeniskushöhe (hiermit kann das Volumen des Tränenfilms bestimmt werden, welches sich proportional zur Höhe des Tränenmeniskus verhält. Diese Funktion kann als zusätzliche Methode z.B. bei Verdacht auf eine Tränenabflussstörung oder der Beurteilung des trockenen Auges verwendet werden). Eine Tränenmeniskushöhe unter 0.3 mm wird als anormal angesehen. [18, 19, 102, 132].

6.1.2 Spaltlampenuntersuchung

Die biomikroskopische Spaltlampenuntersuchung hat sich als Routineuntersuchung des vorderen Augenabschnittes und des Glaskörpers etabliert. Mithilfe spezieller Aufsätze können auch die Netzhaut und die Kammerwinkel begutachtet werden. Die Spaltlampe besteht aus einem Stereomikroskop mit einer daran befestigten Beleuchtungseinheit. Anhand dieser Vorrichtung und einem gebündelten, spaltförmigen Lichtstrahl kann das Auge mit einer 6- bis 50-fachen Vergrößerung untersucht werden. Die BUT wird mit der Spaltlampe nichtinvasiv gemessen. Dazu legt der Patient seinen Kopf in eine Haltevorrichtung für Kinn und Stirn ab. Ein Papierstreifen, der mit 0,1 %iger Natrium-Fluorescein-Lösung imprägniert ist, wird mit einer sterilen 0,9 %igen Natriumchlorid-Lösung (NaCl-Lösung) angefeuchtet, um die Fluoresceinfarbe auf die Bindehaut aufzutragen

Unter Zuschaltung eines Kobaltblaufilters an der Spaltlampe wird das Fluorescein zur Fluoreszenz angeregt. Der Proband wird nun gebeten einige Male zu blinzeln um die Farbe auf dem Tränenfilm zu verteilen. Während der Untersuchung soll der Lidschlag vermieden werden, um die unverfälschte Tränenfilmaufrisszeit zu erfassen. Die BUT, im Folgenden angesichts der Fluoresceingabe als FBUT bezeichnet, wird mit einer Stoppuhr gemessen. Um einen repräsentativen Wert zu erhalten, sollte der Mittelwert aus mindestens drei Untersuchungen berechnet werden und die Untersuchung immer vor dem Schirmer-Test durchgeführt werden. Die Tränenfilmdefekte stellen sich als kleine schwarze Flecken auf dem grün-fluoreszierenden

Tränenfilm dar [50, 51, 53, 87, 133]. In Abbildung 7 ist der fluoreszierende Tränenfilm durch die Vorschaltung eines Kobaltblaufilters an der Spaltlampe dargestellt.

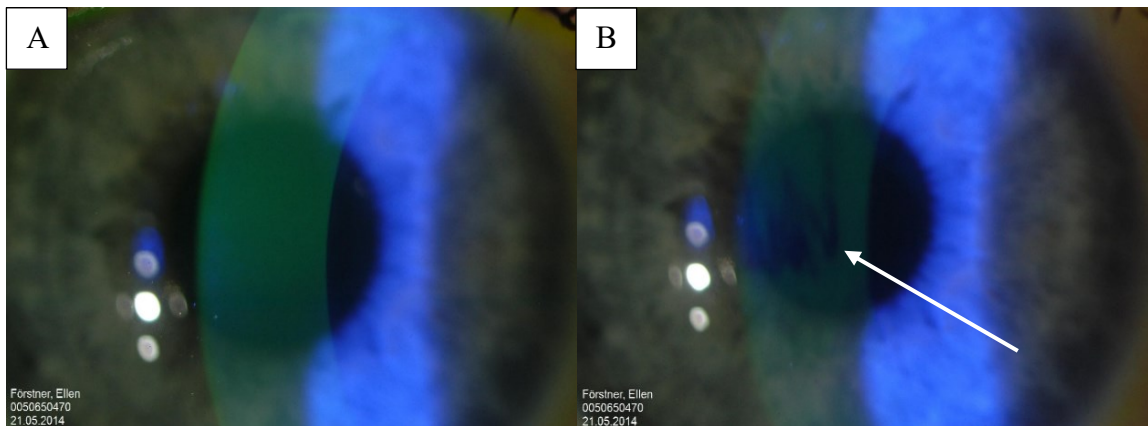


Abbildung 7: Spaltlampenmikroskopische Aufnahme der FBUT am Beispiel der eigenen Augen.

6.2 Probanden

Die Einschlusskriterien beinhalten:

- Alter zwischen 20 - 30 Jahre
- Medizinstudenten der Universitätsmedizin Rostock
- Einwilligung nach umfassender Aufklärung

Die Ausschlusskriterien beinhalten:

- Krankheiten des vorderen Augenabschnittes (z.B. Trockenes Auge, Erkrankungen der Tränendrüsen)
- Autoimmunerkrankungen (z.B. Sjögren-Syndrom)
- Status nach Augenoperation (z.B. LASIK)
- Regelmäßige Einnahme von Medikamenten, welche Auswirkung auf die Tränensekretion haben (z.B. Psychopharmaka, Betablocker)

Die Rekrutierungswege erfolgten über:

- Mündliche und schriftliche Kontaktaufnahme mit Kommilitonen
- Kooperation mit Assistenzärzten der Universitären Augenklinik Rostock: Bei Studentenkursen wurden diese über eine mögliche Teilnahme informiert

6.3 Proparacain-POS®

Um die Veränderung der BUT durch das Konservierungsmittel BAC zu messen, wurden Proparacain-POS® 0,5 % Augentropfen (Ursapharm Arzneimittel GmbH, Saarbrücken) verwendet. Dieses Lokalanästhetikum vom Estertyp enthält:

- Proxymetacainhydrochlorid
- BAC (0,005 %)
- Natriumedetat
- Natriumchlorid
- Natriummetabisulfit
- Wasser

Verwendung findet Proparakain-POS[®] üblicherweise in der Oberflächenanästhesie, in der Tonometrie (Augendruckmessung), bei der Entfernung von Fremdkörpern und bei chirurgischen Eingriffen.

6.4 Ablauf der Messungen

Für alle nachfolgend beschriebenen Messungen gilt, dass diese bei jedem Probanden am rechten Auge durchgeführt wurden. Das linke Auge verdeckte der Proband selbst mit der linken Hand um die äußerlichen Einflüsse auf dieses, und indirekt auf das rechte Auge, zu minimieren. Um Verfälschungen der Messwerte vorzubeugen, wurden 24 Stunden vor Beginn der Untersuchungen keine Kontaktlinsen getragen.

6.4.1 Untersuchungszeitpunkt 1 - NIKBUT-Messungen ohne Proparakain

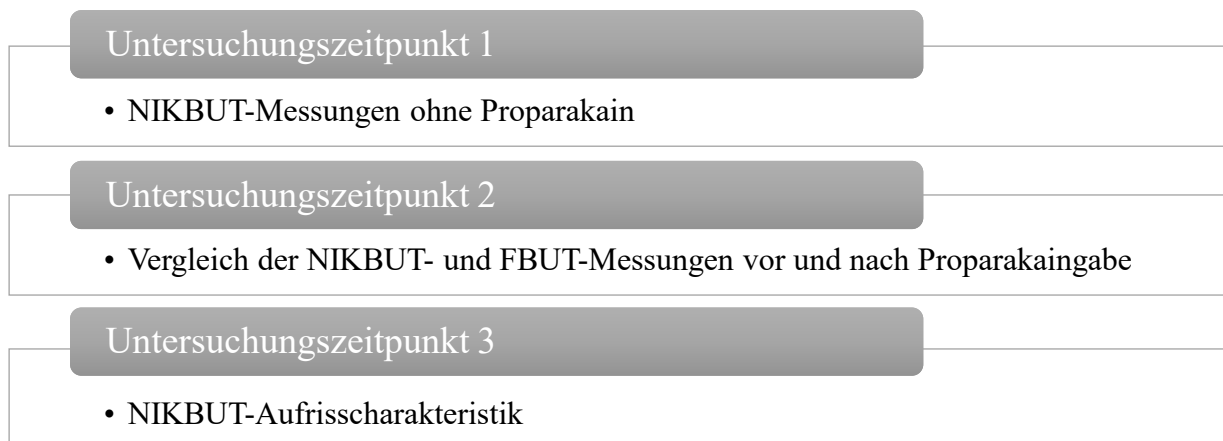


Abbildung 8: Übersicht der zu den Untersuchungszeitpunkten 1 - 3 durchgeführten Messungen.

Diese fanden ohne Proparakaingabe und im Rotationssystem statt, sodass ausreichend Regenerationszeit zwischen den einzelnen Messungen bestand. Für den Fall, dass eine Messung zu kurz und damit nicht aussagekräftig für die Auswertung des Oculus[®] Keratograph 5M war, fand eine Wiederholung dieser Messung statt.

6.4.2 Untersuchungszeitpunkt 2 - Vergleich der NIKBUT- und FBUT-Messungen vor und nach Proparakaingabe

Zum Untersuchungszeitpunkt 2 (siehe Abbildung 9) wurde die NIKBUT (anhand des Oculus[®] Keratograph 5M) gemessen und mit der FBUT verglichen, welche an der Spaltlampe unter Fluoresceinanwendung ermittelt wurde. Dazu wurden zehn Probanden mit beiden Methoden untersucht. An beiden Geräten wurden drei Messwerte je Proband (zum Messzeitpunkt t_0 , t_1 und t_2) erfasst. Hierbei erfolgte die erste Messung (t_0) jeweils ohne Proparakaingabe und die zwei darauffolgenden Messungen (t_1 und t_2) nach Gabe jeweils eines Tropfens Proparakaïn. Vor jeder Messung wurde eine Proparakaïneinwirkzeit von fünf Minuten eingehalten.

Bei der Untersuchung mittels Spaltlampe fanden zu jedem Zeitpunkt (t_0 , t_1 und t_2) drei Messungen pro Proband und Messzeitpunkt statt, aus denen jeweils der Mittelwert verwendet wurde.

Untersuchungszeitpunkt 2

- 10 Probanden (8 weiblich, 2 männlich)
- 3 NIKBUT-Messwerte pro Proband (Zeitpunkt t_0 , t_1 und t_2)
- 3 FBUT- Messwerte pro Proband (Zeitpunkt t_0 , t_1 und t_2)

Abbildung 9: Übersicht der Probanden und erhobenen Messwerte zum Untersuchungszeitpunkt 2.

Die Ermittlung der FBUT mittels Spaltlampe fand durch eine Fachärztin für Augenheilkunde der Universitätsaugenklinik Rostock statt.

Zwischen beiden Messmethoden wurde ein Zeitabstand von mindestens einem Tag festgelegt.

6.4.3 Untersuchungszeitpunkt 3 - NIKBUT-Aufrisscharakteristik

Die NIKBUT-Aufrisscharakteristik (siehe Abbildung 6) stellt den aufreißenden Tränenfilm (in Prozent) auf einer Zeitachse in einem linearen Diagramm dar. Diese prozentual aufgerissenen Tränenfilmsegmente werden automatisch bei jeder Messung in 4 Sekunden Abschnitten (0 s, 4 s, 8 s, 12 s, 16 s, 20 s und 24 s) durch den Oculus[®] Keratograph 5M bestimmt.

Zum Untersuchungszeitpunkt 3 (siehe Abbildung 10) wurden bei fünf Probanden die einzelnen prozentualen Tränenfilmaufrisswerte an den oben genannten sieben Zeitpunkten aus dem Aufrissdiagramm (aus Abbildung 6) ermittelt.

Untersuchungszeitpunkt 3

- 5 Probanden (3 weiblich, 2 männlich)
- 4 Messungen pro Proband
- 7 Tränenfilmaufrisswerte pro Messung

Abbildung 10: Übersicht zu den Probanden erhobenen Messwerten zum Untersuchungszeitpunkt 3.

Dies erfolgte mithilfe des Programms ImageJ (1.46r, Wayne Rasband, NIH, USA). Es fanden insgesamt vier Messungen je Proband mit dem Oculus[®] Keratograph 5M (zum Messzeitpunkt t_0 , t_1 , t_2 und t_3) statt. Die Messungen fanden vor (t_0) und nach dreimaliger Proparakaingabe (t_1 , t_2 und t_3) statt. Dabei wurde je ein Tropfen Proparakaïn zum Messzeitpunkt t_1 , t_2 und t_3 gegeben und anschließend die fünfminütige Einwirkzeit berücksichtigt. Die NIKBUT-Messungen wurden bei allen Probanden von demselben Untersucher durchgeführt.

6.5 Statistik

6.5.1 Statistiksoftware

Die Analyse aller Messergebnisse erfolgte mithilfe der Software IBM[®] SPSS[®] Statistics (Version 19.0.0.1) und mit Microsoft Office Professional Plus Excel 2013.

$P < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen.

6.5.2 Kolmogorow-Smirnov-Test

Der Kolmogorow-Smirnov-Test wurde zur Analyse aller drei Untersuchungszeitpunkte zu Beginn durchgeführt. Er dient zur Überprüfung der Stichprobe auf Normalverteilung. Die Normalverteilung gilt für die nachfolgenden Tests als Voraussetzung, um Aussagen über die Grundgesamtheit zuzulassen [134 - 136].

6.5.3 T-Test für abhängige Stichproben

Die zum Untersuchungszeitpunkt 1 und 2 erfassten Daten wurden mithilfe des t-Tests für abhängige Stichproben untersucht. Dabei werden zwei Mittelwerte aus jeweils zwei abhängigen Stichproben auf signifikante Differenzen untersucht. Als „abhängig“, respektive „verbunden“ gelten Messungen, wenn sie aus zwei unterschiedlichen Stichproben stammen, sich aber gegenseitig beeinflussen [136 - 139].

Das Ziel des Untersuchungszeitpunktes 1 war, die benachbarten Mittelwerte der Messungen (Nr. 1 mit Nr. 2, Nr. 2 mit Nr. 3, etc.) auf Signifikanz zu überprüfen. Zum Untersuchungszeitpunkt 2 wurden die NIKBUT- und FBUT-Messungen einerseits zu unterschiedlichen Messzeitpunkten innerhalb der einzelnen Untersuchungsart auf Differenzen untersucht (NIKBUT t_0 mit

NIK BUT t_1 , NIK BUT t_0 mit NIK BUT t_2 und NIK BUT t_1 mit NIK BUT t_2 , sowie FBUT t_0 mit FBUT t_1 , FBUT t_0 mit FBUT t_2 und FBUT t_1 mit FBUT t_2) (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Übersicht der mittels t-Test durchgeführten Untersuchungen auf Signifikanz zum Untersuchungszeitpunkt 2.

		NIK BUT			FBUT		
		t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
NIK BUT	t_0		X	X	X		
	t_1					X	
	t_2						X
FBUT	t_0					X	X

Zu denselben Messzeitpunkten wurden zudem die beiden unterschiedlichen Untersuchungsarten (NIK BUT t_0 mit FBUT t_0 , NIK BUT t_1 mit FBUT t_1 , etc.) verglichen und geprüft, ob eine Signifikanz vorhanden ist.

6.5.4 Repeated Measurement (Einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung)

Dieser Test stellt eine Erweiterung des t-Tests für multiple Stichproben dar. Bezeichnend für diese Untersuchung ist der Vergleich von Mittelwerten der einzelnen Messwerte zu unterschiedlichen Messzeitpunkten. Die jeweiligen Messwiederholungen (gleiche Messungen zu aufeinanderfolgenden Zeitpunkten) werden auch als „Faktorstufen“ bzw. als „Faktoren“ bezeichnet, wenn der Vergleich der Messungen zu einem bzw. mehreren bestimmten Zeitpunkt(en) und nicht der zeitliche Verlauf eine Rolle spielt. Voraussetzung hierfür ist eine Intervallskalierung der Variablen (bei Untersuchungszeitpunkt 3 in der Aufrisscharakteristik sind es z.B. vier Sekunden Abstände im Bereich von 0 - 24 Sekunden). Die Varianzanalyse mit Messwiederholung wird als „einfaktoriell“ definiert, wenn nur ein Messwiederholungsfaktor benutzt wird [135, 137 - 140].

Der Messwiederholungsfaktor beträgt zum Untersuchungszeitpunkt 3 vier Sekunden. Mittels repeated measurement wurde die Aufrisscharakteristik analysiert. Die einzelnen NIK BUT-Messzeitpunkte mit Proparakaininstallation ($t_1 - t_3$) wurden dabei gegenüber den NIK BUT-Messzeitpunkten ohne Proparakain (t_0) auf signifikante Differenzen untersucht [137, 139, 140].

7 Ergebnisse

21 Medizinstudenten der Universitätsmedizin Rostock wurden in den Jahren 2012 und 2013 rekrutiert. Das Alter lag zwischen 23 und 30 Jahre (Durchschnittsalter \pm Standardabweichung = $26 \pm 2,2$ Jahre). Dreizehn der Probanden waren weiblich, acht Probanden männlich. Bei den Probanden waren keine Krankheiten des vorderen Augenabschnittes bekannt. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als signifikant und ein p-Wert $< 0,1$ als Trend zur Signifikanz angesehen.

7.1 Untersuchungszeitpunkt 1 - NIKBUT-Messungen ohne Proparackain

Für den Untersuchungszeitpunkt 1 wurden sechs Probanden ausgewählt, um die Repetierbarkeit der NIKBUT-Messungen zu testen. Die NIKBUT der sechs Probanden (siehe Abbildung 11) erstreckten sich von 3,0 s bis 24,98 s (Mittelwert \pm Standardabweichung = $15 \text{ s} \pm 4,16 \text{ s}$).

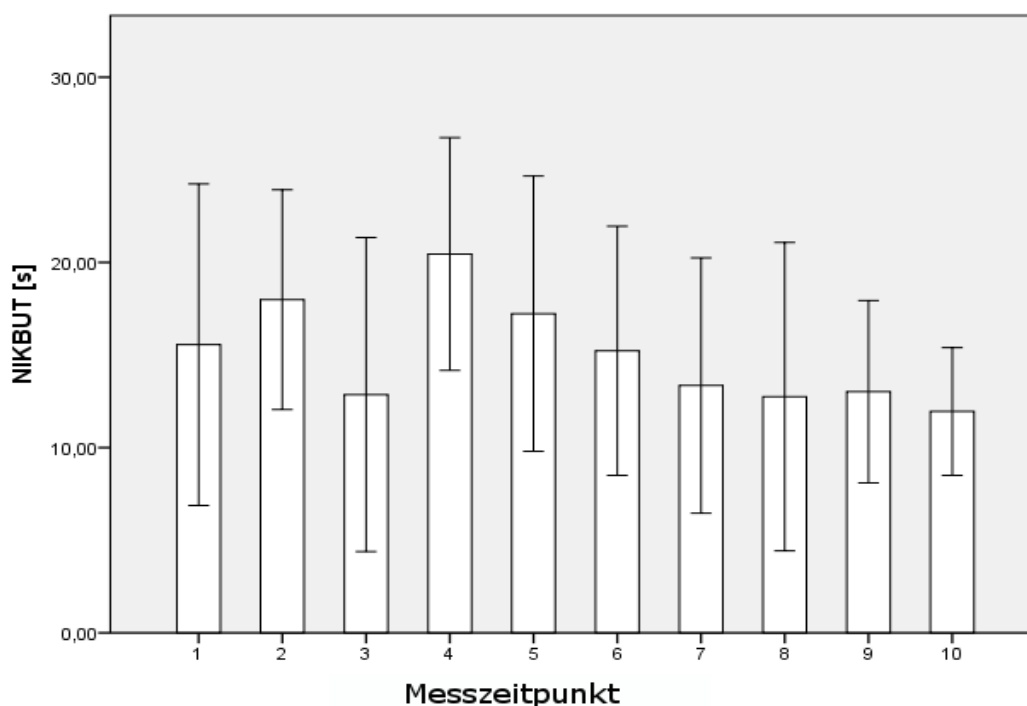


Abbildung 11: Darstellung der NIKBUT-Mittelwerte der sechs Probanden zum jeweiligen Messzeitpunkt (1 - 10) mit Standardabweichung.

Bei den weiblichen Probanden wurden NIKBUT-Werte von durchschnittlich $12,24 \text{ s} \pm 8,52 \text{ s}$ Standardabweichung ermittelt und bei den männlichen Probanden $10,25 \text{ s} \pm 7,77 \text{ s}$ Standardabweichung. Je Proband wurden 10 NIKBUT-Messungen durchgeführt. Unter Verwendung des t-Tests für abhängige Stichproben wurde die Hypothese untersucht, ob signifikante Unterschiede zwischen den benachbarten Messungen (Nr. 1 und Nr. 2, Nr. 2 und Nr. 3, etc.) bestehen (siehe Tabelle 5). Mit Ausnahme von Paar 3 (signifikant mit $p = 0,04$) zeigen die

aneinandergrenzenden neun Wertepaare, in Tabelle 5, nicht signifikante Unterschiede. Die Varianzhomogenität der Gruppen (bis auf Gruppe 3) kann damit bewiesen werden.

Tabelle 5: Auszug der Ergebnisse des t-Tests für abhängige Stichproben. Kennzeichnung des signifikanten Ergebnisses mit *.

Getestete Paare		Gepaarte Differenzen			
		Anzahl	Differenz der Mittelwerte (s)	Standardabweichung (s)	Signifikanz (2-seitig)
Paar 1	Messung 1 Messung 2	6	-2,43	11,37	0,62
Paar 2	Messung 2 Messung 3	6	5,13	7,56	0,16
Paar 3	Messung 3 Messung 4	6	-7,59	6,57	0,04*
Paar 4	Messung 4 Messung 5	6	3,22	5,59	0,22
Paar 5	Messung 5 Messung 6	6	2,01	2,95	0,16
Paar 6	Messung 6 Messung 7	6	1,88	11,27	0,70
Paar 7	Messung 7 Messung 8	6	0,60	4,36	0,75
Paar 8	Messung 8 Messung 9	6	-0,26	4,94	0,90
Paar 9	Messung 9 Messung 10	6	1,06	4,64	0,60

7.2 Untersuchungszeitpunkt 2 - Vergleich der NIKBUT- und FBUT-Messungen vor und nach mehrmaliger Proparakaingabe

Die BUT der zehn Probanden, welche mittels NIKBUT-Methode ermittelt wurden, ergaben durchschnittlich 18,42 s zum Messzeitpunkt t_0 , 15,56 s zum Messzeitpunkt t_1 und 9,02 s zum Messzeitpunkt t_2 . In der FBUT-Untersuchung wurden folgende Mittelwerte erfasst: 25,81 s zum Messzeitpunkt t_0 , 17,15 s zum Messzeitpunkt t_1 und 11,25 s zum Messzeitpunkt t_2 . Die Normalverteilungen der zehn NIKBUT- und FBUT-Messungen wurden geprüft und bestätigt. Mithilfe des t-Tests für gepaarte Stichproben wurden die NIKBUT-Resultate auf die Fragestellung untersucht, ob signifikante Differenzen zwischen den Messzeitpunkten t_0 , t_1 und t_2 bestehen. Hierfür fand ein Vergleich der Ergebnispaaire von t_0 und t_1 , t_0 und t_2 , sowie von t_1 und t_2 statt (siehe Tabelle 6). Aus dem t-Test resultierte eine signifikante Differenz der

NIKBUT-Werte zwischen den Messzeitpunkten von Paar 2 (t_0 und t_2 ; $p = 0,002$) und von Paar 3 (zwischen t_1 und t_2 ; $p = 0,016$). Bei Paar 1 (zwischen t_0 und t_1) konnte kein signifikanter Unterschied ermittelt werden ($p = 0,327$).

Tabelle 6: Die t-Test-Ergebnisse innerhalb der NIKBUT-Methode. Kennzeichnung des signifikanten Ergebnisses mit *.

Getestete Paare		Gepaarte Differenzen			
		Anzahl	Differenz der Mittelwerte (s)	Standardabweichung (s)	Signifikanz (2-seitig)
Paar 1	NIKBUT t_0 NIKBUT t_1	10	2,87	8,76	0,327
Paar 2	NIKBUT t_0 NIKBUT t_2	10	9,4	7,01	0,002*
Paar 3	NIKBUT t_1 NIKBUT t_2	10	6,53	6,99	0,016*

Innerhalb der FBUT-Methode wurde ebenfalls mittels t-Test für abhängige Stichproben untersucht, ob sich die Ergebnisse zu den Messzeitpunkten t_0 , t_1 und t_2 signifikant unterscheiden (siehe Tabelle 7). Hieraus resultierten signifikante Unterschiede der FBUT-Werte von Paar 1 (zwischen den Messzeitpunkten t_0 und t_1 ; $p = 0,049$) und von Paar 2 (zwischen t_0 und t_2 ; $p = 0,007$). Bei Paar 3 (zwischen t_1 und t_2 ; $p = 0,085$) konnte kein signifikanter Unterschied ermittelt werden. Jedoch ist ein Trend ersichtlich, da $p < 0,1$.

Tabelle 7: Die t-Test-Ergebnisse innerhalb der FBUT-Methode. Kennzeichnung des signifikanten Ergebnisses mit *.

Getestete Paare		Gepaarte Differenzen			
		Anzahl	Differenz der Mittelwerte (s)	Standardabweichung (s)	Signifikanz (2-seitig)
Paar 1	FBUT t_0 FBUT t_1	10	8,7	12,08	0,049*
Paar 2	FBUT t_0 FBUT t_2	10	14,7	13,38	0,007*
Paar 3	FBUT t_1 FBUT t_2	10	6	9,81	0,085

Zur Prüfung der Fragestellung, ob eine signifikante Differenz zwischen den Untersuchungsmethoden NIKBUT und FBUT zu den Messzeitpunkten t_0 , t_1 und t_2 besteht, wurde erneut der t-Test für abhängige Stichproben verwendet (siehe Tabelle 8). Zum Messzeitpunkt t_0 ließ sich bei Paar 1 zwischen den Untersuchungsmethoden der NIKBUT und der FBUT ein Trend erkennen ($p < 0,1$).

Tabelle 8: Der t-Test von NIKBUT und FBUT zu den Messzeitpunkten t_0 , t_1 und t_2 .

Getestete Paare		Gepaarte Differenzen			
		Anzahl	Differenz der Mittelwerte (s)	Standardabweichung (s)	Signifikanz (2-seitig)
Paar 1	NIKBUT t_0 FBUT t_0	10	-7,40	12,40	0,089
Paar 2	NIKBUT t_1 FBUT t_1	10	-1,65	10,59	0,634
Paar 3	NIKBUT t_2 FBUT t_2	10	-2,18	9,09	0,467

Bei den Paaren 2 und 3 (Messzeitpunkte t_1 und t_2) konnte kein signifikanter Unterschied ermittelt werden. Im Boxplotdiagramm (Abbildung 10) sind die Medianwerte als Querbalken dargestellt. Daraus ist ersichtlich, dass diese vor Proparakaingabe (t_0) bei beiden Methoden über 20 s angesiedelt sind, während die Mediane zum Zeitpunkt der Messungen t_1 und t_2 eine deutlich geringere BUT aufweisen. Die Medianwerte beider Untersuchungsmethoden sinken von t_1 zu t_2 weiter ab. Besonders deutlich ist dies bei der NIKBUT-Methode (blau) zu sehen.

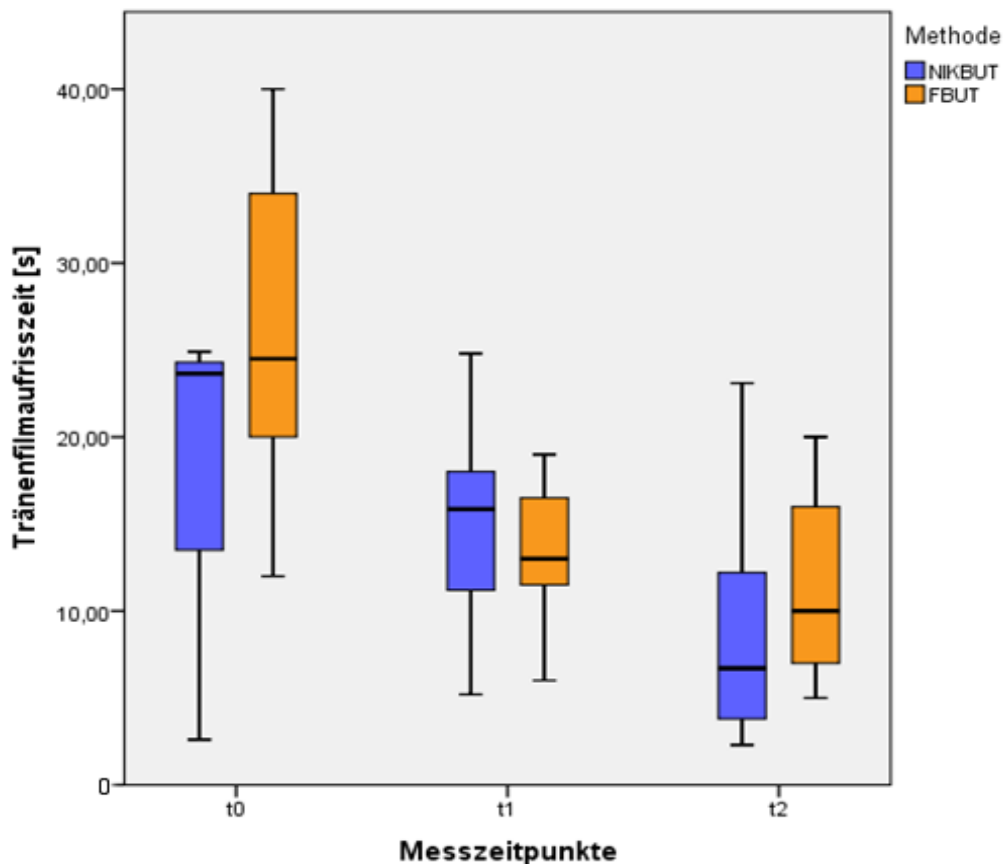


Abbildung 12: Darstellung der Tränenfilmaufrisszeiten der NIKBUT- und FBUT-Methode zu den Messzeitpunkten t_0 , t_1 und t_2 .

7.3 Untersuchungszeitpunkt 3 - NIKBUT-Aufrisscharakteristik vor und nach mehrmaliger Proparakaingabe

In Abbildung 6 ist die Aufrisscharakteristik dargestellt. Die Aufrisscharakteristik wurde mittels repeated measurement analysiert. Die prozentual aufgerissenen Tränenfilm-Flächen zum Messzeitpunkt ohne Proparakaingabe (t_0 = Referenz) wurden als Referenz verwendet. Die prozentual aufgerissenen Tränenfilm-Flächen der einzelnen NIKBUT-Messzeitpunkte mit Proparakaingabe ($t_1 - t_3$) sind gegenüber des Referenzzeitpunktes (t_0) auf signifikante Unterschiede untersucht worden. Zu jedem Aufrisszeitpunkt (4, 8, 12, 16, 20, 24 s) wurden die Messzeitpunkte separat verglichen (siehe Tabelle 9). Verglichen wird z.B. zum Aufrisszeitpunkt 4s die prozentual aufgerissene Fläche von Messzeitpunkt t_1 (Untersuchung nach 1. Gabe Proparakaingabe) mit dem Referenz-Messzeitpunkt t_0 (Untersuchung ohne Proparakaingabe) auf einen signifikanten Unterschied, die aufgerissene Fläche von dem Messzeitpunkt t_2 (Untersuchung nach 2. Gabe Proparakaingabe) mit dem Messzeitpunkt t_0 usw.

Tabelle 9: Ergebnisse des repeated measurement.

Aufrisszeitpunkt	Verglichene Messzeitpunkte	Signifikanz (p)
4s	Messzeitpunkt t_1 vs. Messzeitpunkt t_0	0,374
4s	Messzeitpunkt t_2 vs. Messzeitpunkt t_0	0,481
4s	Messzeitpunkt t_3 vs. Messzeitpunkt t_0	0,887
8s	Messzeitpunkt t_1 vs. Messzeitpunkt t_0	0,374
8s	Messzeitpunkt t_2 vs. Messzeitpunkt t_0	0,125
8s	Messzeitpunkt t_3 vs. Messzeitpunkt t_0	0,374
12s	Messzeitpunkt t_1 vs. Messzeitpunkt t_0	0,374
12s	Messzeitpunkt t_2 vs. Messzeitpunkt t_0	0,481
12s	Messzeitpunkt t_3 vs. Messzeitpunkt t_0	0,887
16s	Messzeitpunkt t_1 vs. Messzeitpunkt t_0	0,374
16s	Messzeitpunkt t_2 vs. Messzeitpunkt t_0	0,200
16s	Messzeitpunkt t_3 vs. Messzeitpunkt t_0	0,461
20s	Messzeitpunkt t_1 vs. Messzeitpunkt t_0	0,092
20s	Messzeitpunkt t_2 vs. Messzeitpunkt t_0	0,069
20s	Messzeitpunkt t_3 vs. Messzeitpunkt t_0	0,174
24s	Messzeitpunkt t_1 vs. Messzeitpunkt t_0	0,500
24s	Messzeitpunkt t_2 vs. Messzeitpunkt t_0	0,090
24s	Messzeitpunkt t_3 vs. Messzeitpunkt t_0	0,295

In der Tabelle 9 und in der Abbildung 13 sind Differenzen der aufgerissenen Tränenfilm-Flächen zwischen den untersuchten Messzeitpunkten zu den einzelnen Aufrisszeitpunkten ersichtlich. Die Statistik lieferte keine signifikanten Unterschiede.

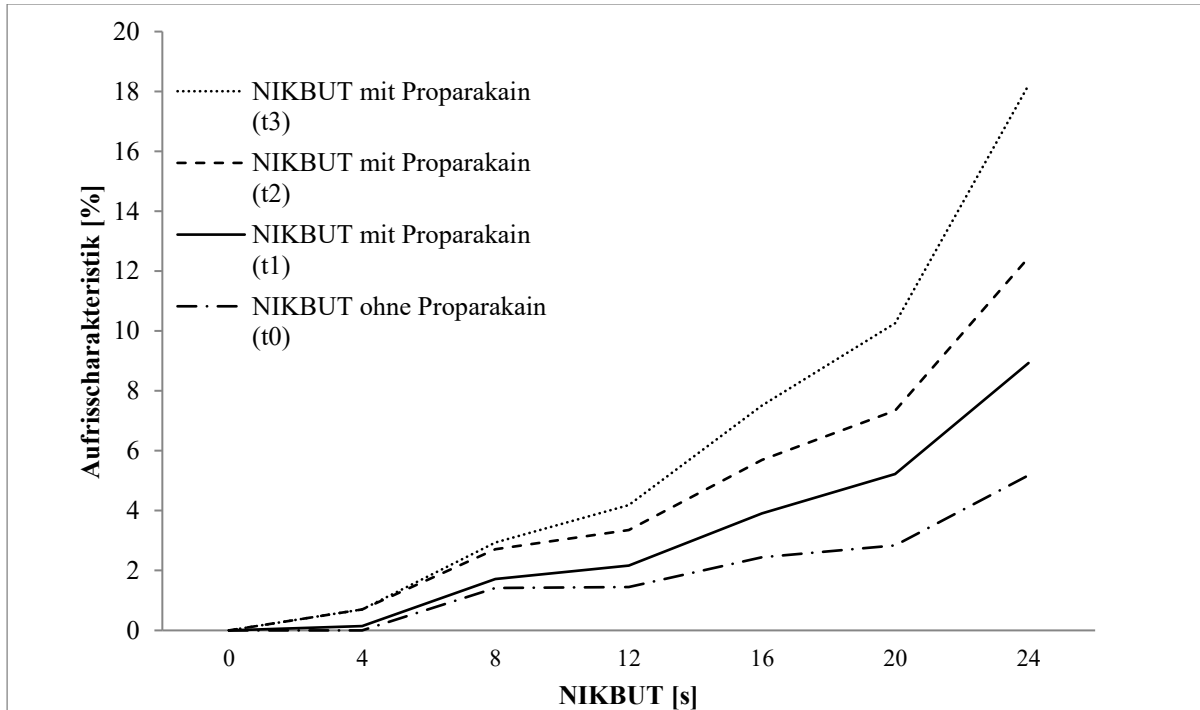


Abbildung 13: Darstellung der prozentualen Aufrisscharakteristik anhand der NIKBUT.

8 Diskussion

Die Ergebnisse dieser Arbeit leisten einen Beitrag im Bereich der Messung und Lokalisation von Tränenfilmaufrissen, sowie in der Erforschung von Tränenfilmdestabilisierungen. Der Beitrag wird deutlich durch die Bestätigung des vergleichsweise neueren Messinstruments - dem Oculus® Keratograph 5M - als geeignetes Untersuchungsgerät zur kontinuierlichen, untersucherunabhängigen Messung der BUT in der Arbeitsroutine. Zudem zeigt die Arbeit, dass mittels der Lokalisierungsfunktion des Oculus® Keratograph 5M bei wiederholten Messungen weitere Rückschlüsse auf die Ursache des Tränenfilmaufrisses aufgrund des Tränenfilmaufrissortes gezogen werden können. Zum Beispiel kann eine Pathologie der Hornhaut bei einem ortskonstanten Tränenfilmaufriss oder ein Substanzmangel einer Tränenfilmschicht im Falle eines ortsunabhängigen, verfrühten Tränenfilmaufrisses vorliegen. Zusätzlich wird die Destabilisierung des Tränenfilms durch ein niedrig konzentriertes BAC-haltiges Lokalanästhetikum anhand einer verkürzten BUT mit der Spaltlampe und dem Oculus® Keratograph 5M bewiesen. Dies stellt einen Fortschritt zu den, in bereits veröffentlichter Literatur verwendeten, deutlich höheren BAC-Konzentrationen dar und kann z. B. vorübergehende Schädigungen des Tränenfilms bei einer kurzzeitigen Einnahme von BAC-haltiger Augenmedikation erklären. Die Tränenfilmdynamik leistet, durch die ermittelte Varianz in der aufgerissenen Fläche pro Zeiteinheit, unter dem Einfluss eines BAC-haltigen Lokalanästhetikums, einen weiteren Beitrag zur Erforschung der Tränenfilmdestabilisierung.

8.1 Wiederholbarkeit der Messungen (Untersuchungszeitpunkt 1 -NIKBUT-Messungen ohne Proparacain)

Diese Arbeit zeigt, dass sich der Oculus® Keratograph 5M als Methode zur NIKBUT-Messung eignet, da mehrheitlich wiederholbare Ergebnisse erzielt wurden. Die Ergebnisse belegen durch die größtenteils nicht signifikanten Differenzen zwischen den Messungen 1 - 10 zum Untersuchungszeitpunkt 1 eine Messwertkontinuität in 90 % der durchgeführten Untersuchungen. Ein einzelnes signifikantes Ergebnis, welches für unbeständige Werte steht, lag im Fall von Paar 3 vor (Vergleich von Messung 3 und Messung 4). Ein größeres Untersuchungskollektiv wäre wünschenswert um den signifikanten Unterschied aufzuheben.

Zwei Studien wurden zur Wiederholbarkeit von NIKBUT-Messungen veröffentlicht, die mit dem Oculus® Keratograph 5M gemessen wurden. Eine Studie von Hong et al. [18] bewies eine konstante und eine andere Studie von Cox et al. [141] zeigte eine diskontinuierliche Wiederholbarkeit. Ursächlich für diese gegensätzlichen Studienergebnisse in der Wiederholbarkeit

können z.B. dynamische Probleme beim Blinzeln, wie ein unvollständiges Blinzeln oder ein selteneres Blinzeln bei längeren Bildschirmarbeiten, ein Blepharospasmus (krampfartiger Lidschluss), nächtliches (unwillkürliches) Augenöffnen und Lagophthalmus (unvollständiger Lidschluss) sein. Zudem können durch Pathologien der einzelnen Tränenfilmschichten statische Probleme vorhanden sein, welche einen instabilen Tränenfilm begünstigen [10]. Ramoth et al. stellten zudem die These auf, dass der Reflex des Lidschlusses zufällig nach kurzer Zeit auftreten kann und nicht zwingend Rückschlüsse auf die Qualität des Tränenfilms gibt. Der Lidschluss hängt den Autoren zufolge hauptsächlich von der subjektiven Fähigkeit ab, die Augen geöffnet zu halten [142].

Die gemessenen NIKBUT zum Untersuchungszeitpunkt 1, die teilweise unter 10 Sekunden liegen und damit als pathologisch (Grad I = kritische Tränenfilmstabilität) eingestuft werden müssten [10, 82, 83], sollten daher genauer diskutiert und deren mögliche Ursache besprochen werden. Die Werte der sechs untersuchten 23 bis 30-jährigen Probanden (davon waren vier weiblich und zwei männlich) wurden mit $12,24 \text{ s} \pm 8,52 \text{ s}$ Standardabweichung bei den weiblichen und mit $10,25 \text{ s} \pm 7,77 \text{ s}$ Standardabweichung bei den männlichen Probanden erhoben. Zwei Studien von Hong et al. [143] und Ozdemir et al. [144] wurden zur alters- und geschlechtskorrelierenden Dauer der BUT mit gegensätzlichen Ergebnissen bei unterschiedlichen Untersuchungsmethoden (einmal mit dem Oculus® Keratograph 5M und einmal mit der Spaltlampe) publiziert: Hong et al. bestimmten die NIKBUT von vierzig chinesischen Probanden mit dem Oculus® Keratograph 5M. Bei den Probanden waren, wie in der hier durchgeführten Arbeit, keine Krankheiten des vorderen Augenabschnittes bekannt. Hong et al. konnten keinen Zusammenhang zwischen einer verminderten NIKBUT und steigendem Alter ($32,8 \pm 16,7$ Jahre) beweisen. Die durchschnittliche NIKBUT wurde mit $5,5 \text{ s} \pm 2,0$ Standardabweichung in der männlichen und mit $4,5 \text{ s} \pm 2,5$ Standardabweichung in der weiblichen Probandengruppe gemessen [143]. Im Gegensatz dazu dokumentierten Ozdemir et al. eine altersabhängige Verkürzung der BUT. Zur Ermittlung der BUT verwendeten sie die Spaltlampe. Es wurden 140 augengesunde Probanden im Alter von 11 - 86 Jahren rekrutiert und je Altersdekade zwanzig Probanden (10 männliche und 10 weibliche) ausgewählt. Die durchschnittliche BUT (\pm Standardabweichung) betrug in der 20. Lebensdekade bei den männlichen Probanden $44,10 \text{ s} \pm 6,15$ und $34,9 \text{ s} \pm 6,82$ bei den weiblichen Probanden. In der 80. Lebensdekade $13,1 \text{ s} \pm 3,18$ in der männlichen und $15,90 \text{ s} \pm 4,35$ in der weiblichen Probandengruppe [144].

Eine Erklärung für die Differenz zwischen den vom Oculus® Keratograph 5M gemessenen NIKBUT zum Untersuchungszeitpunkt 1 in der eigenen Arbeit und zu den an der Spaltlampe

erfassten Messwerte in der oben genannten Studie von Ozdemir et al. könnte die hochauflösende Technik der CCD-Kamera am Oculus® Keratograph 5M sein. Die Augenoberfläche kann damit deutlich präziser untersucht werden und zu einer früheren Erfassung der BUT führen, als es mit der Spaltlampe möglich ist. Vermutlich können kleinste Aufrisse des Tränenfilms mit dem Oculus® Keratograph 5M erfasst werden, welche dem menschlichen Auge während der Spaltlampenuntersuchung verborgen bleiben [19, 132]. In einer Veröffentlichung von Wang et al. wurden Probanden mit trockenen Augen und eine Kontrollgruppe (mit gesunden Augen) anhand der Spaltlampe und mittels des Oculus® Keratograph 5M untersucht [145]. Die Ergebnisse der beiden Messmethoden in der Gruppe mit trockenen Augen korrelierten miteinander, während in der Kontrollgruppe signifikant längere NIKBUT-Werte ermittelt wurden (11,9 s vs. 5 s). Die Sensitivität des Oculus® Keratograph 5M ist in dieser Studie bei einem instabilen Tränenfilm höher als bei der Spaltlampe. Diese Ergebnisse widersprechen den in der eigenen Arbeit erworbenen Resultaten. Eine mögliche Erklärung der unterschiedlichen Ergebnisse kann eine höhere Menge an Fluorescein bei der Spaltlampenuntersuchung sein (siehe Kapitel 8.2.1).

Bezieht man die Ergebnisse von Ramoth et al. mit ein, können einzelne verkürzte BUT durch die Theorie des zufälligen Tränenfilmaufrisses erklärt werden [142].

Die in dieser Arbeit zum Untersuchungszeitpunkt 1 ermittelten Ergebnisse lassen die Überlegung zu, dass anhand des Oculus® Keratograph 5M eine reduzierte BUT auch bei jungen, augengesunden Probanden ermittelt werden kann, da diese Defekte nicht nach jedem Blinzeln, sondern willkürlich [142] und an unterschiedlichen Lokalisationen des Auges auftreten können. Das junge Alter und der vorliegende Augengesundheitszustand der Probanden stellen einen positiven Aspekt der durchgeführten Arbeit dar. Einschränkungen existieren bei dem signifikanten Unterschied von Paar 3 (Vergleich von Messung 3 und Messung 4) und bei den teils verkürzt gemessenen NIKBUT. Durch eine Erhöhung der Probandenzahl kann diese signifikante Differenz vermutlich aufgehoben werden. Hong et. al. postulieren außerdem einen ethnischen Unterschied des Tränenfilms der asiatischen Bevölkerung gegenüber den westlichen Ländern [143]. Diese Aussage mindert die Vergleichbarkeit mit der eigenen Arbeit und bietet die Möglichkeit einer neuen, darauf aufbauenden Studie.

8.2 Destabilisierung des Tränenfilms mit einer sehr niedrigen Konzentration von BAC (Untersuchungszeitpunkt 2 - NIKBUT versus FBUT, vor und nach mehrmaliger Proparakaingabe)

Da Fluorescein als Grundlage für die Messung der FBUT mit der Spaltlampe dient, wird in Kapitel 8.2.1 zunächst dessen möglicher Einfluss auf die Messergebnisse eruiert. Anschließend erfolgt die Diskussion der Ergebnisse zum Untersuchungszeitpunkt 2 zu einem besseren Verständnis in zwei Kapiteln 8.2.2 und 8.2.3 statt. Dadurch kann ein bereits vor Proparakaingabe bestehender Unterschied der Messergebnisse zwischen den beiden Untersuchungsmethoden übersichtlicher diskutiert werden.

8.2.1 Der Einfluss von Fluorescein auf die BUT-Messung mit der Spaltlampe

Zum Untersuchungszeitpunkt 2 in der eigenen Arbeit wurde zur Untersuchung der FBUT der Farbstoff Fluorescein in das Auge eingebracht. Es ist anzunehmen, dass von dem verwendeten Fluorescein-Papierstreifen nur ein geringer Effekt auf die FBUT ausging. Drei Veröffentlichungen befassen sich mit dem Einfluss von Fluorescein auf die Tränenfilmstabilität: Mengher et al. entdeckten 1985 bei einer Studie mit neun Probanden, dass die Fluorescein-einbringung in das Auge die Tränenfilmstabilität gegenüber der Kontrollgruppe ohne Fluoresceingabe signifikant ($P < 0,05$) senkte [146]. Wang et al. bewiesen 2018 in einer Studie kürzere Tränenfilmaufrisszeiten bei Messungen mit der Spaltlampe gegenüber denen mittels Oculus® Keratograph 5M [145]. Johnson et al. bewiesen in ihrer Studie, dass die Menge des verwendeten Fluoresceins die Tränenfilmaufrisszeit bis zu einem bestimmten Grad verlängert [20]. Das Ergebnis von Johnson et al. steht damit im Widerspruch zu den Aussagen von Mengher et al. und Wang et al. [20, 133]. In der alltäglichen Praxis hat sich der Farbstoff zur Messung der Tränenfilmaufrisszeit mit der Spaltlampe als Goldstandard etabliert [20]. Die installierbare Fluoresceinmenge wurde in der hier durchgeführten Arbeit durch die verwendeten Farbstreifen begrenzt. Daher wird davon ausgegangen, dass die verwendete Fluoresceinmenge keinen bedeutsamen Einfluss auf die gemessene FBUT hatte.

8.2.2 NIKBUT versus FBUT vor Proparakaingabe (Vergleich der Messmethoden)

In der Arbeit wird zum Untersuchungszeitpunkt 2 eine frühere Detektion der Tränenfilmaufrisse durch den Oculus® Keratograph 5M (NIKBUT) gegenüber der Spaltlampe (FBUT) zum Messzeitpunkt t_0 (ohne Proparakaingabe) aufgezeigt. Deutlich werden die früher detektierten Tränenfilmaufrisse an den Messergebnissen der BUT zwischen den beiden Untersuchungsmethoden, welche einen Trend zur signifikanten Differenz ($p = 0,089$) nachweisen. Dieses

Ergebnis verstärkt die bereits erläuterten Thesen, dass mit dem Oculus® Keratograph 5M teilweise kleinste Irritationen des Tränenfilms ermittelt werden und somit die NIKBUT stellenweise verringert gemessen wurde.

Zwei Studien zur Messung der NIKBUT mittels des Oculus® Keratograph 5M und der Spaltlampe wurden mit unterschiedlicher Probandenzahl und unterschiedlichem Augengesundheitszustand der Probanden publiziert. Sie erbrachten widersprüchliche Ergebnisse. Hong et al. untersuchten 44 Patienten mit Symptomen eines trockenen Auges und 41 Probanden ohne bekannte Krankheiten des vorderen Augenabschnittes mit dem Oculus® Keratograph 5M und mittels Spaltlampe. Dabei belegten sie, dass sich die Ergebnisse signifikant ($p < 0,01$) mit $3,2 \text{ s} \pm 2,3$ (Oculus® Keratograph 5M) gegenüber $5,24 \text{ s} \pm 3,4$ (Spaltlampe) unterscheiden [18]. Diese Ergebnisse untermauern den in der eigenen Arbeit ermittelten Trend. Demgegenüber erfasste eine Studie von Abdelfattah NS et al. die Tränenfilmaufrisszeiten von 296 Augen (Durchschnittsalter 64 Jahre, 71 % weiblich und 29 % männlich) anhand des Oculus® Keratograph 5M und der Spaltlampe. Von den untersuchten Augen besaßen 223 eine Erkrankung der vorderen Augenoberfläche (klinisch diagnostizierte Meibomdrüsendysfunktion oder Syndrom des trockenen Auges). Die Kontrollgruppe bestand aus 73 Augen. Die Ergebnisse zeigten, dass sich die NIKBUT-Werte der OSD1-Gruppe mit einem Mittelwert von 6,7 s nicht signifikant ($p = 0,69$) von der Kontrollgruppe mit 8,2 s als Mittelwert unterscheiden. Dagegen zeigten die Tränenfilmaufrisszeiten der Kontrollgruppe einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) gegenüber der OSD-Gruppe an der Spaltlampe. Die Mittelwerte erstreckten sich von 5,6 s in der OSD-Gruppe zu 6,7 s in der Kontrollgruppe [147]. Die mittels Fluorescein an der Spaltlampe ermittelten Tränenfilmaufrisszeiten sind bei beiden Gruppen kürzer als die mittels des Oculus® Keratograph 5M gemessenen. Sie spiegeln zudem nicht die Erkenntnisse an der Spaltlampe von Ozdemir et al. wider [144].

Im Gegensatz zum Untersuchungszeitpunkt 2 in der eigenen Arbeit wurden bei der Studie von Abdelfattah NS et al. die beiden Gruppen (OSD- und Kontrollgruppe) nur innerhalb der jeweiligen Untersuchungsmethode (innerhalb der Ergebnisse des Oculus® Keratograph 5M oder innerhalb der Ergebnisse der Spaltlampe) verglichen [147]. Eine Überprüfung der gleichen Gruppen (OSD-Gruppen und Kontrollgruppen) zwischen den Untersuchungsmethoden (Oculus® Keratograph 5M und Spaltlampe) auf Signifikanz fand nicht statt. Ein Vergleich der Studienergebnisse von Abdelfattah NS et al. mit den in der eigenen Arbeit gemessenen Tränenfilmaufrisszeiten ist daher nur bedingt möglich.

Ein positiver Aspekt dieses Untersuchungszeitpunktes stellt die frühere Detektion der Tränenfilmaufrisse durch den Oculus® Keratograph 5M gegenüber der Spaltlampe ohne Proparakain-Zusatz dar. Dieses Ergebnis leistet einen wichtigen Beitrag zur Alltagstauglichkeit des Oculus®

Keratograph 5M. Limitationen ergeben sich durch das nicht signifikante Ergebnis zum Untersuchungszeitpunkt 2. Es wird empfohlen diese Untersuchung mit einer größeren Probandenzahl durchzuführen, um die Wiederholbarkeit zu erhöhen.

8.2.3 NIKBUT versus FBUT nach Proparakaingabe (Destabilisierung des Tränenfilms)

Die künstliche Destabilisierung des Tränenfilms wird in dieser Arbeit durch den Konservierungsstoff BAC erreicht, welcher in dem verwendeten Lokalanästhetikum Proparacain enthalten ist. Bereits vor Durchführung der statistischen Tests war zum Untersuchungszeitpunkt 2 eine Destabilisierung des Tränenfilms durch Proparacain ersichtlich. Statistisch wurde die Destabilisierung einerseits durch die nicht signifikanten Differenzen der verglichenen Mittelwerte aus der Oculus® Keratograph 5M- und Spaltlampen-Methode zu den Messzeitpunkten t_1 und t_2 bewiesen. Andererseits belegten signifikante Differenzen bei zwei von drei Untersuchungspaaren einen instabilen Tränenfilm innerhalb der jeweiligen Untersuchungsmethode (Oculus® Keratograph 5M und Spaltlampe). Die signifikanten Differenzen entstanden mit dem Oculus® Keratograph 5M zwischen den Messzeitpunkten t_0 und t_2 und zwischen t_1 und t_2 . Eine mögliche Ursache für das nicht signifikante Ergebnis zwischen den Messzeitpunkten t_0 und t_1 des Oculus® Keratograph 5M wäre, dass die Lipidschicht des Tränenfilms noch nicht messbar durch Proparacain angegriffen wurde. Dies kann zwei Ursachen haben: Die Einwirkzeit von 5 min. war zu kurz und/oder die Konzentration der Proparacaintropfen von 0,005 % (entspricht der Konzentration von 0,05 mg/ml laut Angaben des Herstellers Ursapharm Arzneimittel GmbH) zu niedrig. Dadurch stieg die Evaporationsrate eventuell nicht wesentlich an und erst eine Erhöhung der Dosis mit der zweiten Gabe Proparacain und/oder die zweite Messung nach weiteren 5 min. führte zu messbaren Defekten.

Mit der Spaltlampenuntersuchung konnte die destabilisierende Wirkung von BAC besonders deutlich gezeigt werden. Es wurden signifikante Differenzen zwischen den Messzeitpunkten t_0 und t_1 , sowie zwischen t_0 und t_2 ermittelt und ein Trend zur Signifikanz zwischen t_1 und t_2 ($p = 0,085$) berechnet. Diese Ergebnisse verdeutlichen die destabilisierende Wirkung von BAC auf den Tränenfilm. Die Literatur bestätigt die destabilisierende Wirkung von BAC, beispielsweise in der von Choi et al. veröffentlichten Studie. Dort wurden BAC-haltige Augentropfen (0,1 %) zur Destabilisierung des Tränenfilms bei Kaninchen in der Kontrollgruppe verwendet. In der Probandengruppe wurde eine Cyclosporin-A-Behandlung angewendet, welche die destabilisierende Wirkung von BAC (über Entzündungsmediatoren) signifikant senkte. Die BUT wurde mit der Spaltlampe erfasst. In einer von Wilson et al. publizierten Studie wurden gleichermaßen Probanden (im Alter von 19 - 40 Jahren) und Kaninchen mit 0,01 %igen BAC-haltigen Augentropfen behandelt. Nach zehn Minuten wurde die Tränenfilmaufrisszeit mit der

Spaltlampe erfasst. Dabei konnte in der Kaninchengruppe ein Viertel und in der Probandengruppe die Hälfte der Tränenfilmaufrisszeit im Vergleich zu den Ausgangswerten ermittelt werden [72]. Das in der eigenen Arbeit verwendete Proparakain ist ein in der Ophthalmologie täglich verwendetes Medikament und besitzt eine repräsentative Konzentration [148], die von Wilson et al. verwendeten Augentropfen wurden dagegen nicht namentlich erwähnt und zeigen daher eine fragliche Alltagsrelevanz. Die in Kapitel 8.1 erwähnte Theorie des zufälligen Blinzeln von Ramoth et al. kann eine weitere Erklärung für die Ergebnisse der beiden Untersuchungsmethoden sein [142].

Die destabilisierende Wirkung von Proparakain auf den Tränenfilm kann in der hier durchgeführten Arbeit zum Untersuchungszeitpunkt 2 mithilfe der beiden Untersuchungsmethoden, besonders mit der Spaltlampenuntersuchung, verdeutlicht werden. Einschränkungen innerhalb der beiden Methoden durch nicht signifikante Ergebnisse werden bei einer größeren Probandenanzahl vermutlich aufgehoben.

8.3 Untersuchungszeitpunkt 3 - Aufrisscharakteristik

Der Oculus® Keratograph 5M bietet mit der Aufrisscharakteristik eine neuartige Funktion, um die Dynamik und die Lokalisation des Tränenfilmaufrisses genauer zu untersuchen. Die mittels repeated measurement analysierte Aufrisscharakteristik (siehe Tabelle 9) zeigt zum Untersuchungszeitpunkt 3 zwischen den unterschiedlichen Messzeitpunkten einen Trend zur Signifikanz ($p < 0,1$) bei der Wirkung von Proparakain auf den zeitlichen Ablauf der Tränenfilmaufrissfläche. Exemplarisch beim Vergleich der prozentual aufgerissenen Fläche zwischen den Messzeitpunkten t_2 vs. t_0 zu den Aufrisszeitpunkten 20 s ($p = 0,069$) und 24 s ($p = 0,09$). Beim Vergleich der Messzeitpunkte t_3 vs. t_0 lässt sich außerdem zum Aufrisszeitpunkt 24 s ein geringerer p-Wert ($p = 0,295$) erkennen als beispielsweise zum Aufrisszeitpunkt 4 s ($p = 0,887$). Trotz nicht signifikanter Differenzen, kann dies eine Richtung der Ergebnisse aufzeigen, welche mit einer größeren Stichprobe bewiesen werden könnten.

In Zukunft kann der Ablauf des Tränenfilmaufrisses eine wichtigere Rolle spielen als die bisher gemessene BUT, da der Verlauf und die Fläche des Aufrisses pro Zeit erfasst werden, welche weitere Rückschlüsse auf die Qualität des Tränenfilms zulassen. Anhand eines früh detektierten einzelnen „Dry spot“ lässt sich durch wiederholte Messungen überprüfen, ob zum Beispiel jeweils eine konstante Fläche zu denselben Zeitpunkten aufreißt oder ob zu unterschiedlichen Zeitpunkten unterschiedliche Flächen aufreißen. In einer weiteren Studie könnte über die aufgerissenen Tränenfilmflächen zwischen einer Pathologie des Tränenfilms, der Augenoberfläche und eines zufälligen Tränenfilmaufrisses differenziert werden [142]. Möglich

wäre eine Pathologie des Tränenfilms – z. B. bei ortsunabhängigen Tränenfilmaufrissen derselben Flächen zur selben Zeit, oder einer möglichen Hornhautpathologie – z. B. bei ortsabhängigen Tränenfilmaufrissen derselben Fläche zu unterschiedlichen Zeiten.

9 Zusammenfassung und Ausblick

Der Tränenfilm leistet aufgrund seiner einzigartigen Zusammensetzung mit einem antibakteriellen Protein und aufgrund seines dreischichtigen Aufbaus einen wichtigen Beitrag zum Schutz des Auges. Durch die Bildung einer glatten Oberfläche trägt er maßgeblich zu der optischen Eigenschaft der Hornhaut bei. Ein stabiler Tränenfilm ist daher für die dauerhafte und flächendeckende Benetzung des Auges von besonderer Bedeutung [1, 3, 4]. Die Tränenfilmstabilität wird durch unterschiedliche interne und externe Faktoren moduliert und kann über die Tränenfilmaufrisszeit (BUT) gemessen werden [8, 9]. Insbesondere beeinflussen in Augentropfen enthaltene Konservierungsmittel die BUT. In dieser Arbeit wurde die BUT, unter Fluoresceineinbringung mit der Spaltlampe (FBUT) und mit dem Oculus® Keratograph 5M (NIKBUT), ermittelt, um den Einfluss von Konservierungsmitteln am Beispiel von Benzalkoniumchlorid in Bezug auf die Destabilisierung und die Dynamik des Tränenfilms zu untersuchen. Gleichzeitig wurde die Eignung des Oculus® Keratograph 5M für die Bestimmung der NIKBUT untersucht [11, 18- 20]. Diese Ziele der Arbeit konnten mit den durchgeführten Untersuchungen teilweise erreicht werden:

- (1) Mehrheitlich wurden konstante NIKBUT-Messungen mit dem Oculus® Keratograph 5M ermittelt.
- (2) Künstliche Tränenfilmdestabilisierungen durch ein Benzalkoniumchlorid-haltiges Lokal-anästhetikum wurden sowohl anhand des Oculus® Keratograph 5M, als auch mit der Spaltlampe im Großteil der Untersuchungen belegt.
- (3) Geringe Veränderungen in der Dynamik des Tränenfilmaufrisses wurden unter dem Einfluss von Benzalkoniumchlorid detektiert und geben Hinweise auf die Tränenfilmqualität. Eine Weiterführung der BUT-Messungen mit standardisierten Untersuchungsbedingungen z. B. einem größeren Probandenkollektiv und konstanten Umgebungsbedingungen (Raumtemperatur, Luftfeuchtigkeit, Durchführungszeit der Messung, etc.) könnte helfen, die Aussagekraft der Ergebnisse dieser Arbeit weiter zu erhöhen.

Die Weiterentwicklung der Technologie des Oculus® Keratograph 5M kann zukünftig zu einer früheren Detektierbarkeit und präziseren Lokalisation der Tränenfilmaufrisse führen. Folglich wäre eine Anpassung des Grenzwertes und der Definition der BUT wichtig, da in der hier durchgeführten Arbeit ebenso wie in der Untersuchung von Abdelfattah et al. einige Messwerte des Oculus® Keratograph 5M [147] deutlich unter dem Grenzwert von 10 s für eine pathologische BUT liegen [10]. Dieser Grenzwert könnte z. B. gerätespezifisch festgelegt werden, da die Detektion des Tränenfilmaufrisses mit dem Oculus® Keratograph 5M deutlich früher erfolgt als mit der Spaltlampe. Eine erweiterte Definition der BUT, welche flächenabhängig ist

und mit dem Oculus® Keratograph 5M gemessen wird, wäre zudem möglich. Für diese flächenabhängige BUT ist die genaue Erfassung des aufgerissenen Areals von Bedeutung.

Durch die Weiterentwicklung des Oculus® Keratograph 5M kann möglicherweise auch eine Differenzierung zwischen einem unwillkürlichen Lidschluss und einem Lidschluss aufgrund eines destabilisierten Tränenfilms erfolgen. Der zufällige Lidschluss findet vermutlich bei einem intakten oder gering destabilisierten Tränenfilm statt. Dies wäre in einer weiteren Arbeit eruierbar und anschließend in der Weiterentwicklung der Technik des Oculus® Keratograph 5M anwendbar.

Bis heute hat sich der Oculus® Keratograph 5M noch nicht als Standard-Messmethode zur Untersuchung der Tränenfilmstabilität durchgesetzt. Dies ist vermutlich daraufhin zurückzuführen, dass die Messwerte bei den Einzelpersonen noch nicht konstant wiederholbar sind und damit die Durchführung und Interpretation der Ergebnisse nicht einheitlich verwendbar sind. In einer Studie vom Jahr 2018 legen Wang et al. die Differenzen der beiden Messmethoden (Spaltlampe und Oculus® Keratograph 5M) dar [145] und beweisen eine höhere Spezifität des Oculus® Keratograph 5M gegenüber der Spaltlampe in der Detektion des trockenen Auges. Diese Differenzierungsfähigkeit könnte in Zukunft für die Diagnostik des trockenen Auges vermehrt genutzt werden.

10 Thesen

Im Rahmen dieser Studie wurde an jungen, augengesunden Probanden mithilfe von zwei Messgeräten (der Spaltlampe unter Fluoresceineinbringung und der Oculus® Keratograph 5M) die Benzalkoniumchlorid-assoziierte Veränderung der Tränenfilmaufrisszeit untersucht und die von Benzalkoniumchlorid modifizierte Tränenfilmdynamik analysiert.

1. Der Oculus® Keratograph 5M eignet sich als nicht-invasives Messgerät zur Detektion der Tränenfilmaufrisszeit und erlaubt es, objektiv Veränderungen der Tränenfilmaufrisszeit unter Benzalkoniumchloridhaltigen Augentropfen zu ermitteln.
2. Die im Vergleich zur Spaltlampe kürzer gemessenen Ergebnisse anhand des Oculus® Keratograph 5M, deuten bei jungen Menschen nicht zwangsläufig auf eine Pathologie des Tränenfilms hin, sondern können physiologische und technische Ursachen aufweisen.
3. Der Einfluss von Fluorescein auf die Tränenfilmaufrisszeit erscheint unwesentlich, da in dieser Arbeit nur sehr geringe Mengen eingesetzt wurden.
4. Bereits eine Benzalkoniumchlorid-Konzentration von 0,005 % mit einer Einwirkzeit von 5 min. führt zu einer messbaren Destabilisierung des Tränenfilms.
5. Anhand der Aufrisscharakteristik können bei wiederholten Untersuchungen Schlussfolgerungen auf die Qualität des Tränenfilms gezogen werden und zur Diagnostik einer Pathologie der Augenoberfläche und des Tränenfilms beitragen.
6. Der Oculus® Keratograph 5M hat sich bis heute nicht als Standardmessgerät zur Untersuchung der Tränenfilmaufrisszeit etabliert, was möglicherweise auf nicht kontinuierliche Messergebnisse zurückzuführen ist. Ein gerätespezifischer Grenzwert für eine pathologische Tränenfilmaufrisszeit, welcher sich sowohl auf die Aufrisszeit, als auch auf die Größe des Aufrissareals bezieht, könnte zu Erleichterungen bei der Diagnose des trockenen Auges führen.

IV Literaturverzeichnis

- 1 Holly, F.J. and Lemp, M.A. Tear physiology and dry eyes. *Survey of ophthalmology*, 1977. 22(2): p. 69-87.
- 2 Mishima, S. Some physiological aspects of the precorneal tear. *Arch Ophthalmol*, 1965. 73: p. 233-41.
- 3 Holly, F.J. Formation and stability of the tear film. *International ophthalmology clinics*, 1973. 13(1): p. 73-96.
- 4 Rolando, M. and Zierhut, M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Survey of ophthalmology*, 2001. 45 Suppl 2: p. S203-10.
- 5 Karakus, S. et al. Validation of an Objective Measure of Dry Eye Severity. *Transl Vis Sci Technol*, 2018. 7(5): p. 26.
- 6 Yamaguchi, T. Inflammatory Response in Dry Eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018. 59(14): p. Des192-des199.
- 7 Pult, H., Purslow, C. and Murphy, P.J. The relationship between clinical signs and dry eye symptoms. *Eye (London, England)*, 2011. 25(4): p. 502-10.
- 8 Sweeney, D.F., Millar, T.J. and Raju, S.R. Tear film stability: a review. *Experimental eye research*, 2013. 117: p. 28-38.
- 9 Craig, J.P. and Tomlinson, A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optom Vis Sci*, 1997. 74(1): p. 8-13.
- 10 Tsubota, K. et al. New Perspectives on Dry Eye Definition and Diagnosis: A Consensus Report by the Asia Dry Eye Society. *Ocul Surf*, 2017. 15(1): p. 65-76.
- 11 De Saint Jean, M. et al. Effects of benzalkonium chloride on growth and survival of Chang conjunctival cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999. 40(3): p. 619-30.
- 12 Baudouin, C. et al. Preservatives in eyedrops: The good, the bad and the ugly. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2010. 29(4): p. 312-334.
- 13 Wilson, W. S., A.J.D and Jay, J. L. Effect of benzalkonium chloride on the stability of the precorneal tear film in rabbit and man. *Br J Ophthalmol.* , Nov 1975. 59(11): p. 667-669.
- 14 Mainstone, J.C., Bruce, A.S. and Golding, T.R. Tear meniscus measurement in the diagnosis of dry eye. *Current eye research*, 1996. 15(6): p. 653-61.
- 15 Hamano, H. et al. Tear secretion test. *J. Jpn. Cont. L. Soc.* 1982. 24: p. 103±107.

- 16 Li, N., Deng, X.G. and He, M.F. Comparison of the Schirmer I test with and without topical anesthesia for diagnosing dry eye. *International journal of ophthalmology*, 2012. 5(4): p. 478-81.
- 17 Lim, K.J. and Lee, J.H. Measurement of the tear meniscus height using 0.25% fluorescein sodium. *Korean journal of ophthalmology: KJO*, 1991. 5(1): p. 34- 6.
- 18 Hong, J. et al. Assessment of tear film stability in dry eye with a newly developed keratograph. *Cornea*, 2013. 32(5): p. 716-21.
- 19 Jiang, Y. et al. Noninvasive Keratograph assessment of tear film break-up time and location in patients with age-related cataracts and dry eye syndrome. *The Journal of international medical research*, 2014. 42(2): p. 494-502.
- 20 Johnson, M.E. and Murphy, P.J. The Effect of instilled fluorescein solution volume on the values and repeatability of TBUT measurements. *Cornea*, 2005. 24(7): p. 811-7.
- 21 Guillon, J.P. Non-invasive Tearscope Plus routine for contact lens fitting. *Contact lens & anterior eye: the journal of the British Contact Lens Association*, 1998. 21 Suppl 1: p. S31-40.
- 22 Markoulli, M. et al. Imaging the Tear Film: A Comparison between the Subjective Keeler Tearscope-Plus and the Objective Oculus(R) Keratograph 5M and LipiView(R) Interferometer. *Curr Eye Res*, 2018. 43(2): p. 155-162.
- 23 Choi, J.H. et al. The Efficiency of Cyclosporine A-Eluting Contact Lenses for the Treatment of Dry Eye. *Curr Eye Res*, 2018.
- 24 Glasgow, B.J. Ellipsometry of human tears. *Ocul Surf*, 2019.
- 25 King-Smith, P.E. et al. The thickness of the tear film. *Curr Eye Res*, 2004. 29(4-5): p. 357-68.
- 26 Gipson, I.K, Hori, Y. and Argueso, P. Character of ocular surface mucins and their alteration in dry eye disease. *Ocul Surf*, 2004. 2(2): p. 131-48.
- 27 Förstner, E. Aufbau des Tränenfilms. 2017: Eigene Zeichnung mittels ChemSketch.
- 28 Ohashi, Y., Dogru, M. and Tsubota, K. Laboratory findings in tear fluid analysis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 2006. 369(1): p. 17-28.
- 29 De Souza, G.A., Godoy, L.M. and Mann, M. Identification of 491 proteins in the tear fluid proteome reveals a large number of proteases and protease inhibitors. *Genome Biol*, 2006. 7(8): p. R72.
- 30 Stahl, U., Willcox, M. and Stapleton, F. Osmolality and tear film dynamics. *Clin Exp Optom*, 2012. 95(1): p. 3-11.

- 31 Sachsenweger, M. *Augenheilkunde. Duale Reihe*, ed. B.K. Bob A. Vol. 2. 2003, Stuttgart: Thieme.
- 32 Davidson, H.J. and Kuonen, V.J. The tear film and ocular mucins. *Vet Ophthalmol*, 2004. 7(2): p. 71-7.
- 33 Messmer, E.M. The pathophysiology, diagnosis, and treatment of dry eye disease. *Dtsch Arztebl Int*, 2015. 112(5): p. 71-81; quiz 82.
- 34 Stern, M.E. et al. The pathology of dry eye: The interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea*, 1998. 17(6): p. 584-9.
- 35 Bron, A.J. and Tiffany, J.M. The meibomian glands and tear film lipids. Structure, function, and control. *Adv Exp Med Biol*, 1998. 438: p. 281-95.
- 36 Mishima, S. and Maurice, D.M. The oily layer of the tear film and evaporation from the corneal surface. *Exp Eye Res*, 1961. 1: p. 39-45.
- 37 McCulley, J.P. and Shine, W.E. Meibomian gland function and the tear lipid layer. *Ocul Surf*, 2003. 1(3): p. 97-106.
- 38 Avetisov, S.E. et al. Ocular surface acidity and buffering system (by studying the conjunctival sac). *Vestn Oftalmol*, 2014. 130(5): p. 5-10.
- 39 Huang, L.C. et al. Ocular surface expression and in vitro activity of antimicrobial peptides. *Curr Eye Res*, 2007. 32(7-8): p. 595-609.
- 40 Johnson, M.E. and Murphy, P.J. Changes in the tear film and ocular surface from dry eye syndrome. *Prog Retin Eye Res*, 2004. 23(4): p. 449-74.
- 41 Gipson, I.K. and Argueso, P. Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. *Int Rev Cytol*, 2003. 231: p. 1-49.
- 42 Pflugfelder, S.C. and de Paiva, C.S. The Pathophysiology of Dry Eye Disease: What We Know and Future Directions for Research. *Ophthalmology*, 2017. 124(11s): p. S4-S13.
- 43 Balogun, M.M. et al. Tear break-up time in eyes with pterygia and pingueculae in Ibadan. *West Afr J Med*, 2005. 24(2): p. 162-6.
- 44 Choi, J.H. et al. The influences of smartphone use on the status of the tear film and ocular surface. 2018. 13(10): p. e0206541.
- 45 The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf*, 2007. 5(2): p. 75-92.
- 46 Jacobi, C. and Messmer, E.M. Diagnosis of dry eye disease. *Ophthalmologe*, 2018.

- 47 Perry, H.D. Dry eye disease: Pathophysiology, classification, and diagnosis. *The American journal of managed care*, 2008. 14(3 Suppl): p. S79-87.
- 48 Kastelan, S. et al. Diagnostic procedures and management of dry eye. *BioMed research international*, 2013. 2013: p. 309723.
- 49 Pflugfelder, S.C, Solomon, A. and Stern, M.E. The diagnosis and management of dry eye: a twenty-five-year review. *Cornea*, 2000. 19(5): p. 644-9.
- 50 Uchida, A. et al. Noninvasive interference tear meniscometry in dry eye patients with Sjogren syndrome. *American journal of ophthalmology*, 2007. 144(2): p. 232-237.
- 51 Versura, P. et al. Diagnostic performance of tear function tests in Sjogren's syndrome patients. *Eye (London, England)*, 2007. 21(2): p. 229-37.
- 52 Shtein, R.M. Post-LASIK dry eye. *Expert Rev Ophthalmol*, 2011. 6(5): p. 575- 582.
- 53 Straub, W. et.al. *Augenärztliche Untersuchungsmethoden*. 2ed. Vol. 1. 1995, Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag. 41.
- 54 Albietsz, J.M. Dry eye: An update on clinical diagnosis, management and promising new treatments. *Clin Exp Optom*, 2001. 84(1): p. 4-18.
- 55 De Saint Jean, M. et al. Effects of benzalkonium chloride on growth and survival of Chang conjunctival cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 1999. 40(3): p. 619-630.
- 56 Förstner, E. Chemische Formel von Benzalkoniumchlorid. Eigene Zeichnung mittels Chems sketch, 2017.
- 57 *European Pharmacopoeia 7.1*. Benzalkonium chloride. 04/2009: 0372.
- 58 Swan, K.C. Reactivity of the ocular tissues to wetting agents. *American journal of ophthalmology*, 1944. 27: p. 1118- 1122.
- 59 Furrer, P. et al. A comparative study of the ocular tolerance of 3 timolol-based preparations: the influence of preservatives on ocular tolerance. *J Fr Ophtalmol*, 2001. 24(1): p. 13-9.
- 60 Brasnu, E. et al. In vitro effects of preservative-free tafluprost and preserved latanoprost, travoprost, and bimatoprost in a conjunctival epithelial cell line. *Curr Eye Res*, 2008. 33(4): p. 303-12.
- 61 Debbasch, C. et al. Quaternary ammoniums and other preservatives' contribution in oxidative stress and apoptosis on Chang conjunctival cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001. 42(3): p. 642-52.

- 62 Debbasch, C. et al. Mitochondrial activity and glutathione injury in apoptosis induced by unpreserved and preserved beta-blockers on Chang conjunctival cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001. 42(11): p. 2525-33.
- 63 Labbe, A. et al. Comparison of toxicological profiles of benzalkonium chloride and polyquaternium-1: an experimental study. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2006. 22(4): p. 267-78.
- 64 De Saint Jean, M. et al. Toxicity of preserved and unpreserved antiglaucoma topical drugs in an in vitro model of conjunctival cells. *Curr Eye Res*, 2000. 20(2): p. 85-94.
- 65 Guenoun, J.M. et al. In vitro comparison of cytoprotective and antioxidative effects of latanoprost, travoprost, and bimatoprost on conjunctiva-derived epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005. 46(12): p. 4594-9.
- 66 Guenoun, J.M. et al. In vitro study of inflammatory potential and toxicity profile of latanoprost, travoprost, and bimatoprost in conjunctiva-derived epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005. 46(7): p. 2444-50.
- 67 Pisella, P.J. et al. Conjunctival proinflammatory and proapoptotic effects of latanoprost and preserved and unpreserved timolol: an ex vivo and in vitro study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004. 45(5): p. 1360-8.
- 68 Mietz, H. et al. Early conjunctival changes following treatment with metipranolol and preservatives are not reversible with dexamethasone. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1997. 235(7): p. 452-9.
- 69 Mietz, H., Niesen, U. and Krieglstein, G.K. The effect of preservatives and antiglaucomatous medication on the histopathology of the conjunctiva. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1994. 232(9): p. 561-5.
- 70 Yalvac, I.S. et al. Effects of antiglaucoma drugs on ocular surface. *Acta Ophthalmol Scand*, 1995. 73(3): p. 246-8.
- 71 Nuzzi, R., Finazzo, C. and Cerruti, A. Adverse effects of topical antiglaucomatous medications on the conjunctiva and the lachrymal (Brit. Engl) response. *Int Ophthalmol*, 1998. 22(1): p. 31-5.
- 72 Wilson, W.S., Duncan, A.J. and Jay, J.L. Effect of benzalkonium chloride on the stability of the precorneal tear film in rabbit and man. *Br J Ophthalmol*, 1975. 59(11): p. 667-9.
- 73 Leung, E.W., Medeiros, F.A. and Weinreb, R.N. Prevalence of ocular surface disease in glaucoma patients. *J Glaucoma*, 2008. 17(5): p. 350-5.

-
- 74 Pisella, P.J., Pouliquen, P. and Baudouin, C. Prevalence of ocular symptoms and signs with preserved and preservative free glaucoma medication. *Br J Ophthalmol*, 2002. 86(4): p. 418-23.
- 75 Schiffman, R.M. et al. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Archives of ophthalmology*, 2000. 118(5): p. 615-21.
- 76 Miller, K.L. et al. Minimal clinically important difference for the ocular surface disease index. *Archives of ophthalmology*, 2010. 128(1): p. 94-101.
- 77 Sullivan, B.D. et al. An objective approach to dry eye disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010. 51(12): p. 6125-30.
- 78 Bentivoglio, A.R. et al. Analysis of blink rate patterns in normal subjects. *Mov Disord*, 1997. 12(6): p. 1028-34.
- 79 Freudenthaler, N. et al. Characteristics of spontaneous eyeblink activity during video display terminal use in healthy volunteers. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2003. 241(11): p. 914-20.
- 80 Arita, R. et al. Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. *Ophthalmology*, 2008. 115(5): p. 911-5.
- 81 Yokoi, N. et al. Assessment of meibomian gland function in dry eye using meibometry. *Archives of ophthalmology*, 1999. 117(6): p. 723-9.
- 82 Lemp, M.A. and Hamill, J.R. Jr. Factors affecting tear film breakup in normal eyes. *Arch Ophthalmol*, 1973. 89(2): p. 103-5.
- 83 Craig, J.P. et al. TFOS DEWS II Report Executive Summary. *Ocul Surf*, 2017. 15(4): p. 802-812.
- 84 Torens, S. et al. Imaging of the microarchitecture and dynamics of the break-up phenomena of the preocular tear film with the aid of laser scanning microscopy. *Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 2000. 97(9): p. 635-9.
- 85 Pflugfelder, S.C. et al. Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea*, 1998. 17(1): p. 38-56.
- 86 Garaszczuk, I.K. et al. The tear turnover and tear clearance tests - a review. 2018. 15(3): p. 219-229.
- 87 Straub W., Küchle M, Küchle H.-P. *Augenärztliche Untersuchungsmethoden*. Vol. 3. 2008, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.

- 88 Macri, A., Rolando, M. and Pflugfelder, S. A standardized visual scale for evaluation of tear fluorescein clearance. *Ophthalmology*, 2000. 107(7): p. 1338-43.
- 89 Ravazzoni, L. et al. Forecasting of hydrophilic contact lens tolerance by means of tear ferning test. *Graefes archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie*, 1998. 236(5): p. 354-8.
- 90 Norn, M. Quantitative tear ferning. *Clinical investigations. Acta ophthalmologica*, 1994. 72(3): p. 369-72.
- 91 Vaikoussis, E., Georgiou, P. and Nomicarios, D. Tear mucus ferning in patients with Sjogren's syndrome. *Documenta ophthalmologica. Advances in ophthalmology*, 1994. 87(2): p. 145-51.
- 92 Schirmer, O. Studien zur Physiologie und Pathophysiologie der Tränenabsonderung und Tränenabfuhr. *Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1903. 56: p. 197-203.
- 93 Blades, K.J. and Patel, S. The dynamics of tear flow within a phenol red impregnated thread. *Ophthalmic & physiological optics: the journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, 1996. 16(5): p. 409- 15.
- 94 Patel, S. et al. The value of a phenol red impregnated thread for differentiating between the aqueous and non-aqueous deficient dry eye. *Ophthalmic & physiological optics: the journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, 1998. 18(6): p. 471-6.
- 95 Messmer, E.M. Osmoprotection as a new therapeutic principle. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 2007. 104(11): p. 987-90.
- 96 Foulks, G.N. and Pflugfelder, S.C. New Testing Options for Diagnosing and Grading Dry Eye Disease. *American journal of ophthalmology*, 2014.
- 97 Sambursky, R. et al. Sensitivity and specificity of a point-of-care matrix metalloproteinase 9 immunoassay for diagnosing inflammation related to dry eye. *JAMA Ophthalmol*, 2013. 131(1): p. 24-8.
- 98 Bron, A.J. The Doyne Lecture. Reflections on the tears. *Eye (London, England)*, 1997. 11 (Pt 5): p. 583-602.
- 99 Yokoi, N. et al. Reflective meniscometry: a non-invasive method to measure tear meniscus curvature. *The British journal of ophthalmology*, 1999. 83(1): p. 92- 7.
- 100 Oguz, H, Yokoi, N. and Kinoshita, S. The height and radius of the tear meniscus and methods for examining these parameters. *Cornea*, 2000. 19(4): p. 497-500.

- 101 Kawai, M. et al. Quantitative evaluation of tear meniscus height from fluorescein photographs. *Cornea*, 2007. 26(4): p. 403-6.
- 102 Milner, M.S. et al. Dysfunctional tear syndrome: Dry eye disease and associated tear film disorders - new strategies for diagnosis and treatment. *Curr Opin Ophthalmol*, 2017. 27 Suppl. 1: p. 3-47.
- 103 Dietze H. et al. *Die optometrische Untersuchung*. Vol. 1. 2008, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- 104 Grus, F.H. et al. SELDI-TOF-MS ProteinChip array profiling of tears from patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005. 46(3): p. 863-76.
- 105 King-Smith, P.E. et al. The thickness of the human precorneal tear film: evidence from reflection spectra. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000. 41(11): p. 3348-59.
- 106 Jones, S.M. and Nischal, K.K. The non-invasive tear film break-up time in normal children. *The British journal of ophthalmology*, 2013. 97(9): p. 1129- 33.
- 107 Jahrreiß H, W.N. *Einführung in die Physik*. 1993, Deutscher Ärzte-Verlag GmbH: Köln.
- 108 Guillon, M. et al. Preocular tear film characteristics of nonwearers and soft contact lens wearers. *Optometry and vision science: Official publication of the American Academy of Optometry*, 1997. 74(5): p. 273-9.
- 109 Kosina-Hagyo, K. et al. Tear film function in patients with seasonal allergic conjunctivitis outside the pollen season. *International archives of allergy and immunology*, 2012. 157(1): p. 81-8.
- 110 Rolando, M. and Refojo, M.F. Tear evaporimeter for measuring water evaporation rate from the tear film under controlled conditions in humans. *Experimental eye research*, 1983. 36(1): p. 25-33.
- 111 Tsubota, K. and Yamada, M. Tear evaporation from the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1992. 33(10): p. 2942-50.
- 112 McCulley, J.P. et al. Correlations in a change in aqueous tear evaporation with a change in relative humidity and the impact. *American journal of ophthalmology*, 2006. 141(4): p. 758-60.
- 113 Nichols, J.J. and Sinnott, L.T. Tear film, contact lens, and patient factors associated with corneal staining. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011. 52(2): p. 1127- 37.
- 114 Hoh, H. et al. Lid-parallel conjunctival folds are a sure diagnostic sign of dry eye. *Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 1995. 92(6): p. 802-8.

- 115 Nemeth, J. et al. Lid-parallel conjunctival folds (LIPCOF) and dry eye: a multicentre study. *The British journal of ophthalmology*, 2012. 96(11): p. 1380- 5.
- 116 Egbert, P.R., Lauber, S. and Maurice, D.M. A simple conjunctival biopsy. *American journal of ophthalmology*, 1977. 84(6): p. 798-801.
- 117 Krenzer, K.L. and Freddo, T.F. Cytokeratin expression in normal human bulbar conjunctiva obtained by impression cytology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1997. 38(1): p. 142-52.
- 118 Maskin, S.L. and Bode, D.D. Electron microscopy of impression-acquired conjunctival epithelial cells. *Ophthalmology*, 1986. 93(12): p. 1518-23.
- 119 Thiel, M.A., Bossart, W. and Bernauer, W. Improved impression cytology techniques for the immunopathological diagnosis of superficial viral infections. *The British journal of ophthalmology*, 1997. 81(11): p. 984-8.
- 120 Tseng, S.C. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology*, 1985. 92(6): p. 728-33.
- 121 Vadrevu, V.L. and Fullard, R.J. Enhancements to the conjunctival impression cytology technique and examples of applications in a clinico-biochemical study of dry eye. *The CLAO journal: Official publication of the Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc*, 1994. 20(1): p. 59-63.
- 122 Schirmer, O. Studien zur Physiologie und Pathologie der Tränenabsonderung und Tränenabfuhr. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1903. 56: p. 197-291.
- 123 Lucca, J.A, Nunez, J.N. and Farris, R.L. A comparison of diagnostic tests for keratoconjunctivitis sicca: lactoplate, Schirmer, and tear osmolarity. *Clao j*, 1990. 16(2): p. 109-12.
- 124 Cho, P. and Yap, M. Schirmer test. I. A review. *Optom Vis Sci*, 1993. 70(2): p. 152-6.
- 125 Cho, P. and Yap, M. Schirmer test. II. A clinical study of its repeatability. *Optom Vis Sci*, 1993. 70(2): p. 157-9.
- 126 Bron, A.J. et al. Rethinking dry eye disease: a perspective on clinical implications. *Ocul Surf*, 2014. 12(2 Suppl): p. S1-31.
- 127 Nichols, K.K. et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: executive summary. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011. 52(4): p. 1922- 9.
- 128 Lemp, M.A. et al. Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *Am J Ophthalmol*, 2011. 151(5): p. 792-798.e1.
- 129 Savini, G. et al. The challenge of dry eye diagnosis. *Clin Ophthalmol*, 2008. 2(1): p. 31 - 55.

- 130 Shimazaki, J. Definition and Diagnostic Criteria of Dry Eye Disease: Historical Overview and Future Directions. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018. 59(14): p. Des7-des12.
- 131 Mit freundlicher Genehmigung von Oculus Optikgeräte GmbH.
- 132 Best, N., Drury, L. and Wolffsohn, J.S. Clinical evaluation of the Oculus Keratograph. *Contact lens & anterior eye: The journal of the British Contact Lens Association*, 2012. 35(4): p. 171-4.
- 133 Mengher, L.S. et al. A non-invasive instrument for clinical assessment of the pre-corneal tear film stability. *Current eye research*, 1985. 4(1): p. 1-7.
- 134 Fahrmeir, L. et al. *Statistik: Der Weg zur Datenanalyse 29*. September 2012: Springer-Lehrbuch.
- 135 Rzany, C.W. B. *Basiswissen Medizinische Statistik 14*. Juli 2013: Springer-Lehrbuch.
- 136 Jann, B. *Einführung in die Statistik*. 2. Auflage ed. 2005, München: Oldenbourg.
- 137 Backhaus, K. et al. *Multivariate Analysemethoden. Eine anwendungsorientierte Einführung*. Vol. 13. 2011, Berlin: Springer.
- 138 Bühl, A. *SPSS 20: Einführung in die moderne Datenanalyse 1*. Dezember 2011: Pearson Studium - Scientific Tools.
- 139 Bortz, J.S. *Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler Vol. 7*. Auflage. 2010 Heidelberg: Springer.
- 140 Field, A. *Discovering Statistics Using SPSS*. 4th ed. 2013, London: Sage.
- 141 Cox, S.M. et al. Agreement between Automated and Traditional Measures of Tear Film Breakup. *Optom Vis Sci*, 2015. 92(9): p. e257-63.
- 142 Ramoth, T. et al. Characterisation of tear film dynamics after application of trehalose for treatment of dry eye. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2013. 230(12): p. 1220-4.
- 143 Hong, J. et al. Evaluation of age-related changes in noninvasive tear breakup time. *Optom Vis Sci*, 2014. 91(2): p. 150-5.
- 144 Ozdemir, M. and Temizdemir, H. Age- and gender-related tear function changes in normal population. *Eye (Lond)*, 2010. 24(1): p. 79-83.
- 145 Wang, M.T.M. and Craig, J.P. Comparative Evaluation of Clinical Methods of Tear Film Stability Assessment: A Randomized Crossover Trial. *Jama Ophthalmol*, 2018. 136(3): p. 291-294.
- 146 Mengher, L.S. et al. Effect of fluorescein instillation on the pre-corneal tear film stability. *Curr Eye Res*, 1985. 4(1): p. 9-12.

- 147 Abdelfattah, N.S. et al. Noninvasive Imaging of Tear Film Dynamics in Eyes with Ocular Surface Disease. *Cornea*, 2015. 34 Suppl 10: p. S48-52.
- 148 Gebrauchsinformation von Proparacain-POS® 0,5% Ursapharm.
- 149 Förstner, E. Originalbilder aus der Untersuchung der eigenen Augen anhand der Spaltlampe. *Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde*. 2014.

V Danksagung

Ein großer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Guthoff für die Überlassung des interessanten Themas und die Einsicht in die aktuelle Forschung.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. rer. nat. Stachs für die stetige Unterstützung und Beratung, die guten Arbeitsbedingungen und die zahlreichen Hinweise bei der Durchsicht des Manuskripts. Frau Sabine Peschel danke ich für die freundliche Unterstützung und die methodische Einarbeitung. Dem Team der Augenklinik möchte ich danken für die nützlichen Tipps und das angenehme Arbeitsklima.

Mein persönlicher Dank gilt meiner Familie für die Ermöglichung meines Studiums und der Promotion. Vielen Dank für die stetige Unterstützung, die guten Ratschläge und die immer währende Geduld. Besonders meiner Mutter möchte ich für das zahlreiche Durchsehen der Manuskriptentwürfe danken.

Zudem möchte ich mich bei meinen Freunden bedanken, die mich stets bei Laune gehalten haben und mich bei der Promotion unterstützt haben. Besonders gilt dieser Dank: Markus, Fanciska, Hannah und Wolf.

Schließlich möchte ich mich bei vielen anderen bedanken, die nicht namentlich erwähnt wurden, mich aber auf meinem Weg unterstützt haben.

VI Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere eidesstattlich durch eigenhändige Unterschrift, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Veröffentlichungen entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit ist noch nicht veröffentlicht und ist in gleicher oder ähnlicher Weise noch nicht als Studienleistung zur Anerkennung oder Bewertung vorgelegt worden. Ich weiß, dass bei Abgabe einer falschen Versicherung die Prüfung als nicht bestanden zu gelten hat.

Ellen Alexandra Förstner