

(24)

Ocena grubości warstwy lipidowej filmu łzowego w diagnostyce zespołu suchego oka u dzieci po przeszczepieniu allogenicznych komórek macierzystych układu krwiotwórczego

Assessment of lipid layer thickness of tear film in the diagnosis of dry-eye syndrome in children after the hematopoietic stem cell transplantation

Małgorzata Kurpińska¹, Ewa Gorczyńska², Joanna Owoc-Lempach², Aleksandra Bernacka¹, Marta Misiuk-Hojło¹, Alicja Chybicka²

¹ Z Katedry i Kliniki Okulistyki Akademii Medycznej we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Marta Misiuk-Hojło

² Z Katedry i Kliniki Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej Akademii Medycznej we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Alicja Chybicka

Streszczenie:

Zespół suchego oka (ZSO), znany również jako keratoconjunctivitis sicca (KCS) jest uznawany za bardzo częste powikłanie oczne po allogenicznym przeszczepieniu komórek macierzystych (ang. allogeneic stem cell transplantation – allo-SCT). KCS może być spowodowane zarówno niewystarczającą produkcją łez lub nadmiernym ich parowaniem, jak i hyperosmolarnością, które prowadzą do uszkodzenia powierzchni oczu. Współczynnik ewaporacji i lepszej stabilności filmu łzowego jest determinowany głównie przez stan warstwy lipidowej.

Cel: obserwacja i klasyfikacja wzorów warstwy lipidowej w prawidłowych oczach oraz w oczach z ZSO u pacjentów po allogenicznym przeszczepieniu szpiku (czas po przeszczepieniu od 6 miesięcy do 5 lat, średnio 26,54 miesiąca); ocena współzależności między wzorami warstwy lipidowej w oczach zdrowych oraz w oczach z ZSO, innymi testami diagnostycznymi wykorzystywanymi w ZSO i dolegliwościami subiektywnymi; badanie zależności między ZSO a kondycjonowaniem (leczeniem chemioterapią w megadawkach przed przeszczepieniem), w tym napromienianiem całego ciała (ang. total body irradiation – TBI) wysokimi dawkami terapeutycznymi, leczeniem immunosupresyjnym, czasem po przeszczepieniu, i przewlekłą chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. chronic Graft Versus Host Disease – cGVHD).

Metody: przedrogówkowe wzory warstwy lipidowej filmu łzowego były badane w 114 oczach za pomocą aparatu Tearscope-plus. Pacjenci z ZSO byli diagnozowani na podstawie testu Schirmera i/ lub czasu przerwania filmu łzowego oraz pozytywnego barwienia zielenią lizaminy i/ lub fluoresceiny.

Wyniki: w 42 oczach (36,8%) spośród 114 wystąpiły objawy ZSO po allo-SCT. W grupie badanej wykazano znaczącą statystycznie korelację między grubością warstwy lipidowej a BUT, badaną testem Schirmera, barwieniem zielenią lizaminy i fluoresceiną. Wykazano znaczący statystycznie związek między cGVHD a ZSO u dzieci. Nie wykazano istotnej statystycznie zależności między ZSO a napromienianiem, leczeniem immunosupresyjnym oraz czasem po przeszczepieniu w ww. badaniach.

Wnioski: wzory warstwy lipidowej filmu łzowego wysoce korelują z obecnością ZSO; ocena wzorów warstwy lipidowej filmu łzowego jako nieinwazyjna metoda może być używana we wczesnej diagnostyce ZSO u dzieci po allo-SCT; przewlekła GVHD odgrywa znaczącą rolę w rozwoju ZSO.

Słowa kluczowe:

zespół suchego oka, choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi, przeszczepienie komórek macierzystych.

Summary:

Dry eye syndrome (DES), also known as keratoconjunctivitis sicca (KCS) is recognized as the most frequent ocular complication after allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT). KCS can appear either due to insufficient tear production or excessive tear evaporation, both resulting in tears hyperosmolarity that leads to ocular damage. The evaporation rate and better film stability is determined primarily by the status of the lipid layer.

Purpose: Observation and classification of tear film lipid layer interference patterns in normal and dry eyes in patients after allogeneic stem cell transplantation with a follow-up time of 6 months- 5years (median 26.54 months).

Material and methods: Investigation of the relation between the lipid layer interference patterns in normal and dry eyes and the results of other dry eye examinations and complaints.

Relation between DES and conditioning regimes, including total body irradiation and high-dose chemotherapy, immunosuppressive drugs, the time after allogeneic stem cell transplantation and chronic graft-versus-host disease. Precorneal tears lipid layer interference patterns, were examined in 114 eyes in treatment group with the Tearscope-plus.

Patient with dry eye were identified on the basis of Schirmer test scores and/ or tear breakup time, and positive lissamine and/ or fluorescein staining.

Results: 42 of 114 eyes (36,8%) developed DES after allo-SCT. A significant correlation between thickness of lipid layer and BUT, Schirmer test, lissamine green and fluorescein staining was found in the treatment group. A significant association was found between present chronic GVHD and DES in children. DES was not associated with TBI, corticosteroids, immunosuppressive drugs and the time in the present study.

Conclusions: Tears lipid layer interference patterns are highly correlated with the diagnosis of DES. Tears lipid layer interference patterns (noninvasive method), can be used to diagnose early DES in children after allo-SCT. Chronic GVHD play a major role in development of DES.

Key words: dry eye syndrome, graft versus host disease, stem cell transplantation.

Przeszczepienie komórek macierzystych układu krwiotwórczego jest procedurą ratującą życie u chorych cierpiących na ciężkie złośliwe schorzenia hematologiczne, choroby metaboliczne lub złożone stany niedoboru odporności.

Istnieją dwa zasadnicze rodzaje przeszczepień komórek krwiotwórczych: przeszczep allogeniczny, w którym dawcą komórek macierzystych pochodzących ze szpiku lub krwi obwodowej jest osoba spokrewniona lub niespokrewniona, zgodna w układzie zgodności tkankowej (ang. Human Leukocyte Antigens – HLA) z biorcą, oraz przeszczep autologiczny, w którym dawcą komórek jest sam chory.

Najczęstszym powikłaniem allotransplantacji macierzystych komórek krwiotwórczych (ang. allogeneic stem cell transplantation – allo-SCT) jest choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. Graft-Versus-Host Disease, GVHD) (1,2). Istotą GVHD jest reakcja immunologiczna kompetentnych limfocytów T dawcy z antygenami biorcy znajdującego się w stanie immunosupresji.

Choroba GVHD ma niekorzystny wpływ na jakość życia pacjentów i nadal jest przyczyną wysokiej śmiertelności chorych (1). Może występować w postaci ostrej – ujawniającej się zwykle do 100 dni po przeszczepieniu, jak i przewlekłej – rozwijającej się po tym czasie.

Narządami docelowymi dla przewlekłej reakcji GVH są m.in. skóra, wątroba, przewód pokarmowy oraz narząd wzroku, w których dochodzi do zaburzenia czynnościowego i uszkodzenia anatomicznego. Choroba może atakować komórki epitelialne warstwy podstawnej naskórka, błon śluzowych (spojówkę, śluzówkę jamy ustnej) i rogówki (2).

Objawy okulistyczne GVHD są wynikiem zaburzeń immunologicznych podobnych do tych, które występują w chorobach z autoagresji. Klinicznie może to powodować objawy typowe dla zespołu suchego oka (Sjögren like syndrome – SLS) (3). Poza objawami suchego oka, które są najbardziej powszechne, w odcinku przednim mogą wystąpić zmiany pemfigoidopodobne (4), epitelopatie (4), pseudobłoniaste zapalenie spojówek (5), wirusowe zapalenie rogówki (6), a nawet ciężkie troficzne owrzodzenia rogówki (6,7) prowadzące do jałowej martwicy rogówki i jej perforacji. Powikłania okulistyczne wynikają zarówno z samej istoty choroby, jak i ze stosowania agresywnej terapii (chemioterapii, immunosupresji).

Zespół suchego oka definiowany jest jako zaburzenie ilościowe i jakościowe filmu łzowego, z uwzględnieniem zarówno jego komponenty wodnej, lipidowej jak i mucynowej.

U osób poddanych allo-SCT udowodniono wpływ cytotoksyczny limfocytów T dawcy zarówno na gruczoł łzowy odpowiedzialny za składową wodną (8), jak i gruczoły Meiboma odpowiedzialne za składową lipidową filmu łzowego (9).

W praktyce okulistycznej test Schimera używany jest jako złoty standard w diagnostyce suchego oka u pacjentów po przeszczepieniu szpiku, choć jego swoistość i czułość są kwestionowane. Obarczony może być błędem związanym z powstawaniem łzawienia odruchowego, dużym rozrzutem wyników i brakiem całkowitej powtarzalności (10). Ponadto jest on praktycznie bezużyteczny w przypadkach zaburzeń regulacji i składu filmu łzowego przebiegających z prawidłowym wydzielaniem odruchowym (11), nie daje wówczas odpowiedzi odnośnie składowej lipidowej (10,11). Dodatkowo test jest trudny do wykonania zwłaszcza u dzieci niewspółpracujących.

Test TBUT – również powszechnie stosowany, choć o wyższej czułości – polega na podaniu kropli fluoresceiny do worka spojówkowego, co zmienia istotnie przedrogówkowy film łzowy, a dodatkowo wywołuje łzawienie odruchowe, a więc fałszuje obraz i wpływa negatywnie na wiarygodność wyników (12).

Aparat Tearscope-pluse umożliwia nieinwazyjną, szybką ocenę jakościową i ilościową filmu łzowego, w tym ocenę grubości warstwy lipidowej na podstawie wzorów lipidowych.

Ma to istotne znaczenie w diagnostyce suchego oka u dzieci po przeszczepieniu szpiku, zważywszy na rolę, którą pełni warstwa lipidowa w filmie łzowym – zasadniczo ma zapobiegać wysychaniu łez (zmniejszając parowanie i oddawanie ciepła), ponadto chronić i stabilizować film łzowy. Co ważniejsze, opłaszczona ona rogówkę nawet pod nieobecność warstwy wodnej (13).

Cel

Celem pracy jest:

1. ocena porównawcza wzorów warstwy lipidowej w grupie dzieci po allo-SCT ze zdiagnozowanym ZSO i bez ZSO w świetle innych testów diagnostycznych i zgłaszanych dolegliwości subiektywnych;
2. ocena zależności między ZSO a kondycjonowaniem, immunosupresją, wystąpieniem cGVHD i czasem po przeszczepieniu;
3. ocena przydatności klinicznej pomiaru składowej lipidowej filmu łzowego u dzieci po allogenicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych.

Materiał i metody

Przebadano 57 dzieci/ młodych dorosłych (114 oczu) po allogenicznym przeszczepieniu szpiku kostnego w wieku 7-20 lat (średnia 15,09 roku \pm 1,85), w tym 26 dziewczynek (45,6%) i 31 chłopców (54,4%) – dzieci będących pod opieką Kliniki Transplantacji Szpiku Onkologii i Hematologii Dziecięcej we Wrocławiu.

Wszyscy rodzice bądź opiekunowie prawni dzieci wyrazili zgodę na wykonanie badania. Projekt badawczy realizowano po

uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu, powstał on na podstawie badań sfinansowanych ze środków w ramach projektu badawczego w latach 2005-2008.

Czas po przeszczepieniu szpiku wynosił od 6 miesięcy do 5 lat (średnia 26,54 miesiąca \pm 19,53).

Wskazania do allogenicznego przeszczepienia szpiku kostnego zestawiono w tabeli I.

Rozpoznanie/ Diagnoses	Liczba pacjentów n = 57/ No. of patients n = 57
ALL	21
AML	6
CML	10
MDS	9
SAA	3
RMS	1
NBL	2
z. Griscelli	1
HD	1
ALD-X	1
z. Nijmegen	1
z. Duncana	1

Tab. I. Pacjenci i rozpoznania.

Tab. I. Patients and diagnoses.

ALL – ostra białaczka limfo blastyczna/ Acute Lymphoblastic Leukaemia
 AML – ostra białaczka szpikowa/ Acute Myeloblastic Leukaemia
 CML – przewlekła białaczka szpikowa/ Chronic Myelogenous Leukaemia
 MDS – zespół mielodysplastyczny/ Myelodysplastic Syndrome
 SAA – ciężka postać anemii plastycznej/ Severe Aplastic Anaemia
 RMS – mięsakię poprzecznie prążkowany/ Rhabdomyosarcoma
 NBL – nerwiak zarodkowy współczulny/ Neuroblastoma
 ALD-X – adrenoleukodystrofia sprzężona z chromosomem X/ Adrenoleukodystrophy
 HD – choroba Hodgkina/ Hodgkin's disease

Pacjenci byli badani w okresie od stycznia 2007 r. do kwietnia 2008 r.

W kondycjonowaniu przed transplantacją u 42 pacjentów stosowano wysoko dawkowaną chemioterapię, u 15 zaś napromienianie całego ciała (ang. total body irradiation – TBI).

Długoterminowa kortykosteroidoterapia została zastosowana u 45 dzieci (90 oczu).

Wszystkie dzieci otrzymały cyklosporynę (CSA) po przeszczepieniu, z czego 32 osoby otrzymały dodatkowo po 3 dawki metotreksatu (MTX).

U 34 dzieci (68 oczu) rozpoznano przewlekłą GVHD.

Metody leczenia były dostosowane do wieku dziecka i jego indywidualnej reakcji na leczenie.

Badanie okulistyczne obejmowało wywiad, badanie ostrości wzroku, badanie odcinka przedniego oka w lampie szczelinowej z wykonaniem testów diagnostycznych w kierunku suchego oka, tj. kwestionariusz, za pomocą którego oceniano nasilenie zgłaszanych objawów subiektywnych przez pacjentów (kwestionariusz Mc Monnies), test Schirmera, barwienie fluoresceiną, zielenią lizaminy, pomiar czasu przerywania filmu łzowego, ocenę stabilności filmu łzowego z uwzględnieniem warstwy lipidowej filmu łzowego za pomocą aparatu Tearscope-plus (14).

Kwestionariusz McMonnies dotyczył m.in. objawów subiektywnych występujących na co dzień oraz objawów występujących wskutek narażenia na konkretne czynniki zewnętrzne (np. dym papierosowy, ogrzewanie centralne, wiatr), a także związanych ze stosowaniem leków. Odpowiedzi pozytywne były punktowane i sumowane wg McMonnies Dry Eye Scoring (MCDES) system (15). Wyższa punktacja (w skali 0-45 punktów) wskazywała na większe prawdopodobieństwo istnienia zespołu suchego oka.

Test Schirmera I był mierzony bez użycia kropli znieczulających. W teście barwienia fluoresceiną oceniano stopień zabarwienia rogówki wg pięciostopniowej skali Efrona (16): stopień 0 – brak barwienia, stopień 1. – łagodne barwienie (mikroubytki), stopień 2. – wyraźne barwienie (makroubytki), stopień 3. – zlewne barwienie (zlewne makroubytki), stopień 4. – rozlane barwienie (zlewne plamy wielkości ok. 1 mm lub większe).

W teście barwienia zielenią lizaminy oceniano stopień wybarwienia nabłonka spojówki w trzech obszarach – rogówka, spojówka nosowa, spojówka skroniowa wg skali Bijstervelda (17): stopień 0 – brak zabarwienia, stopień 1. – do 10 wybarwionych punktów, stopień 2. – od 10 do 50 punktów, stopień 3. – powyżej 50 punktów. Stopnie w każdym z pól były sumowane.

Ocenę grubości warstwy lipidowej przeprowadzono na podstawie uzyskiwanych wzorów lipidowych – od braku lipidów, siateczki otwartej, zamkniętej, wzoru falistego, amorficznego po kolorowy film łzowy charakteryzujący się najgrubszą warstwą lipidową.

Za zespół suchego oka uznawano uszkodzenie nabłonka rogówki i/ lub spojówki z nieprawidłowymi wynikami testów BUT i/ lub Schirmera (18).

Jeśli nie było możliwe zbadanie stopnia wybarwienia nabłonka rogówki lub spojówki metodami opisanymi powyżej albo jeśli rogówka lub spojówka barwiły się, lecz BUT i test Schirmera były prawidłowe, takiego pacjenta wykluczano ze statystycznych obliczeń.

Wyniki

Spośród 57 dzieci (114 oczu) włączonych do badania u 21 dzieci (42 oczu) wystąpiły objawy zespołu suchego oka.

Rozkład warstwy lipidowej u dzieci z ZSO i bez ZSO przedstawiono w tabeli II i na rycinie 1.

Wykazano istotne statystycznie zależności między wzorem warstwy lipidowej a testem Schirmera (ANOVA rang Kruskala-Wallisa $p = 0,0000$), fluoresceiną (Chi^2 Pearsona $p = 0,0000$), zielenią lizaminy (Chi^2 Pearsona $p = 0,0000$), TBUT (jednoczynnikowa ANOVA $p = 0,0000$).

Średnie wyniki osiągnięte w teście Schirmera były istotnie statystycznie niższe w grupie pacjentów z brakiem lipidów i siateczką zamkniętą niż w grupie pacjentów ze wzorami falistym, amorficznym czy kolorowym filmu łzowego.

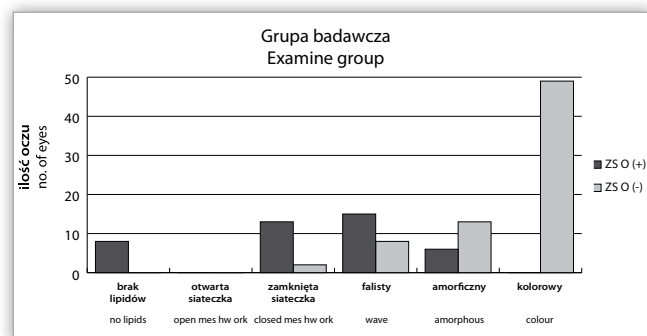
W grupie z kolorowym wzorem filmu łzowego najczęściej obserwowano brak barwienia fluoresceiną i zielenią lizaminy. Obserwowano również coraz mniejszy odsetek oczu z ujemną próbą fluoresceinową w miarę zmniejszania się grubości warstwy lipidowej.

Wzory lipidowe i barwienie fluoresceiną oraz wzory lipidowe i barwienie zielenią lizaminy były ze sobą skorelowane (odpo-

Wzór warstwy lipidowej/ Lipid tear film layer pattern	Grupa badawcza n = 114 oczu Examine group n = 114 eyes	
	ZSO+ n = 42 (DES+)	ZSO- n = 72 (DES-)
1. brak lipidów/ no lipids	8 (19%)	0
2. otwarta siateczka/ open meshwork	0	0
3. zamknięta siateczka/ closed meshwork	13 (31%)	2 (2,8%)
4. fałszywa/ wave	15 (35,7%)	8 (11,1%)
5. amorficzny/ amorphous	6 (14,3%)	13 (18,05%)
6. kolorowy/ colour	0	49 (68,05%)

Tab. II. Wzór warstwy lipidowej filmu łzowego u pacjentów po allogenicznym przeszczepieniu szpiku kostnego.

Tab. II. Lipid layer pattern of the tear film in patients after allogeneic bone marrow transplantation.



Ryc. 1. Wzór warstwy lipidowej filmu łzowego u pacjentów po allogenicznym przeszczepieniu szpiku kostnego.

Ryc. 1. Lipid layer pattern of the tear film in patients after allogeneic bone marrow transplantation.

wiednio R rang Spearmana = 0,5209, p = 0,0000 oraz R rang Spearmana = 0,6484, p = 0,0000).

Najkrótszy TBUT stwierdzano w grupie pacjentów z brakiem lipidów. Najdłużej film łzowy utrzymywał się, gdy obserwowano kolorowy wzór filmu łzowego.

TBUT i wzory lipidowe były ze sobą skorelowane (R rang Spearmana = -0,5888, p = 0,0000).

Wykazano istotną zależność między wystąpieniem przewlekłej GVHD a ZSO (Chi² Pearsona p = 0,02).

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności między ZSO a steroidoterapią, leczeniem immunosupresyjnym, TBI, czasem po przeszczepieniu (do roku i powyżej roku) (p > 0,05).

Wykazano statystyczną istotność między grubością warstwy lipidowej a objawami subiektywnymi odczuwanymi przez dzieci na podstawie kwestionariusza McMonnies (Chi² Pearsona p = 0,00034). Stwierdzono rzadsze występowanie objawów subiektywnych, gdy filmy łzowe były kolorowe, amorficzne i fałszywe, dolegliwości narastały wówczas, gdy wzór był zamknięty i stwierdzano brak lipidów.

Omówienie

Zespół suchego oka jest schorzeniem o różnych etiologii i patogenezie. Może być spowodowany upośledzeniem wydzie-

lania fazy wodnej bądź nadmiernym odparowywaniem łez, jak również zaburzeniem warstwy śluzowej lub lipidowej filmu łzowego, prowadząc zarówno do dolegliwości ocznych, jak i stanu zapalnego powierzchni oczu (19,20).

Warstwa lipidowa stanowi ok. 100-300 μm grubości filmu łzowego obecnego w sytuacji, gdy powieki są otwarte, a jej zasadniczą rolą jest zapobieganie wysychaniu łez poprzez zmniejszenie parowania. Grubsze warstwy lipidowe (> 120 μm) korelują z lepszą stabilnością filmu łzowego (21,22). Cienkie warstwy lipidowe (60 μm) mają związek z niestabilnością filmu łzowego (21,22), wpływają na wzmożoną ewaporację (21), wzrost objawów subiektywnych (22) oraz zaburzenia związane z suchym okiem (22) i wysoką osmolarność (23).

Dowodzono, że istnieje istotna zależność między wzorem warstwy lipidowej a testem Schirmera i wzorem warstwy lipidowej a TBUT (zależność wprost proporcjonalna) oraz między wzorem warstwy lipidowej a zielonią lizaminy i fluoresceiną (zależność odwrotnie proporcjonalna). Uzyskane wyniki sugerują założenie, że pomiary warstwy lipidowej są równie ważne jak inne pomiary diagnostyczne w przypadku zespołu suchego oka. Ponadto nasze obserwacje pozwalają stwierdzić, że im cieńsza warstwa lipidowa, tym większy deficyt wodny filmu łzowego, bardziej niestabilny film łzowy oraz bardziej rozległe uszkodzenie komórek nabłonka rogówki i spojówki. Wyniki również wskazują na to, że deficyt komponenty wodnej filmu łzowego może mieć wpływ na ciekłą warstwę lipidową.

Korelacji między grubością warstwy lipidowej a zmianami na powierzchni oczu w przebiegu zespołu suchego oka i cGVHD dowiodło wielu innych autorów (24-26), którzy również podkreślali znaczenie tego badania w praktyce klinicznej.

W naszym badaniu nie stwierdzono istotnej zależności między występowaniem ZSO a rodzajem kondycjonowania, immunosupresją, steroidoterapią, jednakże istnieją doniesienia o roli ww. czynników w uszkodzaniu funkcji gruczołu łzowego (27).

Reasumując, należy podkreślić, że uzyskane wyniki sugerują dużą wagę pomiaru grubości warstwy lipidowej w diagnostyce suchego oka. Dodatkowe atuty jej pomiaru to nieinwazyjność, prostota i szybkość wykonania, co jest istotne zwłaszcza podczas badania dzieci.

Pomiar grubości warstwy lipidowej jest ponadto niezbędnym badaniem diagnostycznym w przypadku dysfunkcji gruczołów Meiboma, co ma miejsce u dzieci po przeszczepieniu szpiku.

Wzrost grubości warstwy lipidowej, który prowadzi do wzrostu stabilności filmu łzowego, sugeruje rozważenie włączenia lipidów do miejscowych lubrykantów w celu leczenia zespołu suchego oka, co również sugerowali inni autorzy (28).

Wnioski

Ocena grubości warstwy lipidowej filmu łzowego za pomocą aparatu Tearscope-plus ma istotną wartość kliniczną w diagnostyce zespołu suchego oka. Nieinwazyjność badania i możliwość szybkiej oceny powodują, że ten dodatkowy pomiar diagnostyczny jest bardzo istotny w ocenie przedrogówkowego filmu łzowego zwłaszcza u małych, ciężko współpracujących dzieci.

Ponadto umożliwia wykrycie zaburzeń filmu łzowego we wczesnej fazie przedklinicznej, pozwalając tym samym na szybką, skuteczną prewencję.

cGVHD ma istotne znaczenie w patogenezie zespołu suchego oka u dzieci po allogenicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych.

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2005-2008 (PB 2P05E 027 28).

Piśmiennictwo:

1. Billingham RE, Brent L: *A simple method for inducing tolerance of skin homografts in mice*. Transplant Bull 1957, 4, 67-71.
2. Filipovich A, Weisdorf D, Pavletic S: *National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease*. Biology of Blood and Marrow Transplantation 2005, 11, 945-955.
3. Aust NZ: *Ocular surface and lacrimal disturbances in chronic graft-versus-host disease: the role of conjunctival biopsy*. J Ophthalmol 1991, 19(3), 187-191.
4. Nonnenmacher A, Borgmann H, Mahmoud HK, Schaefer UW: *Eye changes following bone marrow transplantation*. Klin Monatsbl Augenheilkd 1985, 186(1), 34-35.
5. Hirst LW, Jabs DA, Tutschka PJ, Green WR, Santos GW: *The eye in bone marrow transplantation. I Clinical study*. Arch Ophthalmol 1983, 101(4), 580-584.
6. Spires R: *Ocular manifestations in bone marrow transplantation*. J Ophthalmic Nurs Technol 1993, 12(5), 208-210.
7. Claes K, Kestelyn P: *Ocular manifestations of graft versus host disease following bone marrow transplantation*. Bull Soc Belg Ophthalmol 2000, (277), 21-36.
8. Hassan A, Clouthier S, Ferrara J: *Lacrimal Gland Involvement in Graft-Versus-Host Disease: A Murine Model*. Inv Ophthalmology 2005, 46, 2692-2697.
9. Sale GE, Beauchamp MD, Akiyama M: *Parafollicular bulges, but not hair bulb keratinocytes, are attacked in graft-versus-host disease of human skin*. Bone Marrow Transplant 1994, 14, 411-413.
10. Prost M: *Diagnostyka zaburzeń przedocznego filmu łzowego*. Klin Oczna 1991, 93, 29-30.
11. Kaszli FA, Krieglstein GK: *Tear film deficiencies, pharmacology of eye drops and toxicity*. Curr Opin Ophthalmol 1996, 12-16.
12. Farris R: *Tear film evaluation*. Cornea 1997, Vol. I, 269-273.
13. Bron AJ: *The Doyne Lecture. Reflections on the tears*. Eye 1997, 11, 583-602.
14. Langwińska-Wośko E, Ambroziak A: *Ocena filmu łzowego w praktyce kontaktologicznej za pomocą aparatu Tearscope-plus firmy Keeler*. Kontaktologia i Optyka Okulistyczna 2001, 2, 20-22.
15. Mc Monnies C: *Key questions in a dry eye history*. J Am Optom Assoc 1986, 57, 512-517.
16. Guillon M, Styles E, Guillon JP, Maissa C: *Preocular tear film characteristics of nonwearers and soft contact lens wearers*. Optom Vis Sci 1997, 74, 273-279.
17. Van Bijsterveld OP: *Diagnostic tests in the sicca syndrome*. Arch Ophthalmol 1969, 82, 10-14.
18. Fahnehjelm K, Tornquist A, Winiarski J: *Dry-eye syndrome after allogenic stem-cell transplantation in children*. Acta Ophthalmol 2008, 86, 253-258.
19. Bron AJ, Sci FM, Tiffany JM: *The contribution of meibomian disease to dry eye*. Ocul Surf 2004, 2, 149-65.
20. Bron AJ, Tiffany JM, Gouveia SM et al.: *Functional aspects of the tear film lipid layer*. Exp Eye Res 2004, 78, 347-360.
21. Craig JP, Tomlison A: *Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation*. Optom Vis Sci 1997, 74, 8-13.
22. Guillon M, Styles E, Guillon JP, Maissa C: *Preocular tear film characteristics of nonwearers and soft contact lens wearers*. Optom Vis Sci 1997, 74, 273-279.
23. Craig JP: *The role of tear physiology in ocular surface temperature*. Eye 2000, 14, 635-641.
24. Fahnehjelm K, Tornquist A: *Dry-eye syndrome after allogeneic stem-cell transplantation in children*. Acta Ophthalmol 2008, 86, 253-258.
25. Gary N, Foulks: *The correlation between the Tear Film Lipid Layer and Dry Eye Disease*. Surv Ophthalmol 2007, 52(4), 369-374.
26. Rolando M, Valente C: *New Test to Quantify Lipid layer Behavior in Healthy Subjects and patients With Keratoconjunctivitis Sicca*. Cornea 2008, 27(8), 866-870.
27. Suh DW, Ruttum MS, Stuckenschneider BJ: *Ocular findings after bone marrow transplantation in a pediatric population*. Ophthalmology 1999, 106(8), 1564-1570.
28. Di Pascuale MA, Goto E, Tseng SC: *Sequential changes of lipid tear film after the instillation of a single drop of a new emulsion eye drop in dry eye patients*. Ophthalmology 2004, 111, 783-791.

Praca wpłynęła do Redakcji 20.12.2009 r. (1190)
Zakwalifikowano do druku 30.03.2011 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

dr n. med. Małgorzata Kurpińska
Katedra i Klinika Okulistyki AM we Wrocławiu
ul. Chalubińskiego 2a
50-368 Wrocław
e-mail: mkurpinska@op.pl