

Kuru Göz Olgularında Gözyaşı Fonksiyonunun Klinik ve Laboratuvar Testlerle Değerlendirilmesi

Kemal NAS*, Meltem YAĞMUR*, T.Reha ERSÖZ", Nihal DEMİRCAN***

ÖZET

Kuru göz olgularında gözyaşı testlerinin değerlendirilmesi amacıyla Sjogren Sendromu tanısı almış 75 hastanın 150 gözü ile 25 kontrol hastasının 50 gözü çalışma kapsamına alındı.

Olgularımızda klinik testler Schirmer 1, gözyaşı parçalanma zamanı, Rose Bengal ile laboratuvar testlerden Laktoferrin ve Lizozim testleri uygulanarak, bu testler sensitivite ve spesifite açısından karşılaştırıldı.

Gözyaşı parçalanma zamanı %84.6 sensitivite ile en duyarlı test olarak tespit edildi. Bunu Laktoferrin ve Lizozim testleri takip etti. Bu testler arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p>0.05$). Testler ikili kombine edildiğinde sensitivite gözyaşı parçalanma zamanı+Lizozim'de %93.6, gözyaşı parçalanma zamanı+Laktoferrin'de %92.3 olarak bulundu. Bu ikili kombinasyona üçüncü bir testin ilavesinin katkısı olmadığı saptandı.

Çalışmamızda Laktoferrin ile Lizozim testleri arasında yüksek bir korelasyon tespit edildi. Uygulama kolaylığı nedeniyle Laktoferrin Radial immünlüfüzyon testinin lizozim testine tercih edilebileceği vurgulandı.

KKS tanısında klinik testlerine laboratuvar testlerden Laktoferrin ilavesiyle tanının yüksek oranda konulabileceği açığa çıktı.

Anahtar Kelimeler: Sjogren sendromu, Lizozim, Laktoferrin

T Klin Oftalmoloji 1995, 4:42-46

SUMMARY

CLINICAL AND LABORATORY ANALYSIS OF TEAR FUNCTION IN DRY EYE PATIENTS

We evaluated the tear function in 150 eyes of 75 patients with Sjogren syndrome and 50 eyes of 25 normal subjects. We performed Schirmer I, tear film break up time (BUT), Rose bengal staining, lactoferrin and lysozyme tests in order to compare the specificity and sensitivity of these tests. Tear film break up time was found to be the most sensitive test with a percentage of 84.6. The sensitivity of lactoferrin (76.6%) and lysozyme (73%) tests were also found to be high. Statistical difference was not observed between the sensitivity of these tests ($p>0.05$). The combination of two tests resulted with a higher sensitivity. The sensitivity was found to be 93.6% with in the combination of BUT and lysozyme tests, 92.3% in lactoferrin plus BUT test. The addition of a third test to this combination was not found to be effective.

We observed a high correlation between lactoferrin and lysozyme tests. But lactoferrin radial immunodiffusion testis preferred because of its easy application.

We can postulate that the application of lactoferrin test in addition to the clinical tests can be a parameter for the accurate diagnosis of dry eyes.

Key Words: Sjogren syndrome, Lysozyme, Lactoferrin

Turk J Ophthalmol 1995,4:42-46

Geliş Tarihi: 14.11.1994

* Uzm.Dr.Çukurova ÜTF. Göz Hastalıkları ABD,

** Doç. Dr.Çukurova ÜTF. Göz Hastalıkları ABD,

*** Yrd.Doç.Dr.Çukurova ÜTF. Göz Hastalıkları ABD, ADANA

¹ Bu çalışma Marmaris'te düzenlenen XXVII.Ulusal Oftalmoloji Kongresinde poster olarak sunulmuştur.

Yazışma Adresi: Meltem YAĞMUR

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Balcalı Hastanesi, Göz Hastalıkları ABD,
01330 ADANA

Giriş

Kuru göz sendromu (keratokonjonktivitis sikka, KKS) göz yaşının kalite ve/veya kantite bozukluğunun yol açtığı bir oküler yüzey hastalığıdır (1-7). Çeşitli nedenlere bağlı olabilir. En sık birarada görüldüğü hastalıklardan birisi Sjögren Sendromudur.

Sjögren Sendromu 1933 yılında Henrik Sjögren tarafından tanımlanmış, esas olarak ekzokrin glandları tutan otoimmün bir hastalıktır (2-4, 6, 8-10). Primer ve

KURU GÖZ OLGULARINDA GÖZYAŞI FONKSİYONUNUN KLİNİK VE LABORATUAR TESTLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ

sekonder olarak iki grupta incelenir. Primer Sjögren Sendromu keratokonjonktivitis sikka ve ağız kuruluğuyla ortaya çıkan bir tablodur. Sekonder Sjögren Sendromu ise kuru göz, kuru ağız ve kronik inflamatuvar konnektif doku hastalıklarıyla beraberdir. Olay ilerleyicidir (11).

KKS tanısı koymak için pek çok klinik ve laboratuvar test tanımlanmış, ancak bunların hiç birisi tek başına tanı koyduracak yeterlilikte bulunmamıştır.

Çalışmamızda klinik testler olarak Schirmer 1 testi, gözyaşı parçalanma zamanı ve Rose Bengal testlerini, laboratuvar testleri olarak da gözyaşı lizozim ve laktoferrin testlerini uyguladık. Laboratuvar testleri klinik testlerle karşılaştırılarak spesifite ve sensitivite açılarından değerlendirildi. Bu testlerin çeşitli kombinasyonların uygulama kolaylığı ve tanıya götürme açısından değerlerini tartıştık.

Gereç ve Yöntem

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Kornea-Kontakt Lens biriminde izlenen ve değişik derecede kuru göze özgü şikayetleri olan tüm hastalar anamnez, klinik bulgu ve laboratuvar sonuçları açısından özel takip formlarına işlenerek göz kuruluğunun saptanmasına yönelik klinik ve laboratuvar testlerden geçirildiler. Bu hastalardan Sjögren Sendromu tanısı alan 75 hastanın 150 gözü bu çalışmanın kapsamına alındı.

Olguların 4'ü erkek, 71'i kadın olup, yaşları 17-70 arasında (ort. 44.6±11.1) değişmekteydi.

Polikliniğimize refraksiyon kusuru nedeniyle başvuran ve başka bir oküler patolojisi olmayan 25 hastanın 50 gözü kontrol grubu olarak alındı. Kontrol grubundaki olguların 5'i erkek, 20'si kadın olup, yaşları 18-70 (ort. 44.6±12.2) arasında değişmekteydi.

Tüm olgularda Schirmer 1 testi, gözyaşı parçalanma zamanı (GPZ), Rose Bengal testi, lizozim ve laktoferrin radial immünodifüzyon testleri uygulandı.

Testler en az 10'ar dakikalık aralıklarla uygulanarak refleks yaşarma ve oküler yüzey değişiklikleri minimize edildi.

Schirmer 1 testi için standart Schirmer filtre kağıdı (5x35 mm Clement Clarke International) kullanıldı. İlk 5 mm'lik kısım dış 1/3 konjonktival fornikse yerleştirildi. 5 dakika sonra ıslaklık miktarı ölçüldü. 10 mm'nin altı anlamlı olarak kabul edildi.

Lizozim tayininde Quantiplate Lysozyme Test Kit (Kallestad Laboratories) kullanıldı. Göz yaşı 1/100 şalınle dilüe edilerek agar plağına kondu. 23 C derecede 18 saat bekletildikten sonra zon çapı ölçülerek değeri tespit edildi.

GPZ yüzeysel anestezi madde kullanılmaksızın Haag Streit floresein kağıdı kullanılarak bakıldı. Flore-

sein kağıdı üst bulber konjonktivaya sürüldü, 10 sn'nin altı anlamlı olarak alındı.

Rose Bengal (RB) boyama için %1'lik Rose Bengal solüsyonundan her iki göze birer damla damlatıldı. Medial, lateral, inferior bulber konjonktiva ve kornea van Bijsterveld tarafından tarif edildiği şekilde ayrı ayrı 3 üzerinden skorlandı. Toplam skor 4 ve üstünde saptanan olgular RB pozitif olarak kabul edildi.

Gözyaşı proteinlerinin saptanması için gerekli olan gözyaşı örnekleri anestezi madde kullanılmaksızın nazal mukozanın pamuklu çubukla uyarımı sonucu mikropipet yardımıyla alt ve iç forniksten pipet konjonktivaya temas ettirilmeden toplandı.

Laktoferrin düzeyi laktoplate radial immünodifüzyon yöntemi ile Micrococcus Lysoikteus'un lizis zonu ölçülerek tayin edildi. 4 mm çapındaki filtre kağıdı 1/3 dış konjonktival fornikse yerleştirildi. 5 dakika sonra penset yardımıyla alınarak M.Lysoikteus jeline yerleştirildi. Oda ısısında 72 saat bekletilerek zon çapı ölçüldü.

Her test ve kombinasyonlar için spesifite ve sensitivite değerleri hesaplandı.

Çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS istatistik paketi bünyesinde Khi kare, Fisher's exact test, basit korelasyon ve lineer regresyon testleri ile yapıldı.

Lizozim testinin laboratuvar işlemleri de dahil olmak üzere tüm testler ve değerlendirmeler aynı kişi (K.N.) tarafından yapıldı.

Bulgular

Olgularımızda değişik derecelerde oküler iritasyon, kuruluk hissi, yabancı cisim hissi, yanma, ışıktan rahatsız olma gibi yakınmalar mevcuttu. Biomikroskopik muayenelerinde gözyaşı filminde viskoz görünüm, artmış debris, filamentöz keratit, punktat epitelyopati saptandı.

Schirmer 1 testi hasta grubunda en düşük 0, en yüksek 35 mm ortalama 8.7±6.68 mm, kontrol grubunda en düşük 8 mm, en yüksek 35 mm, ortalama

(%61.2), kontrol grubunda 2 gözde (%4) 10 mm'nin altında sonuç elde edildi.

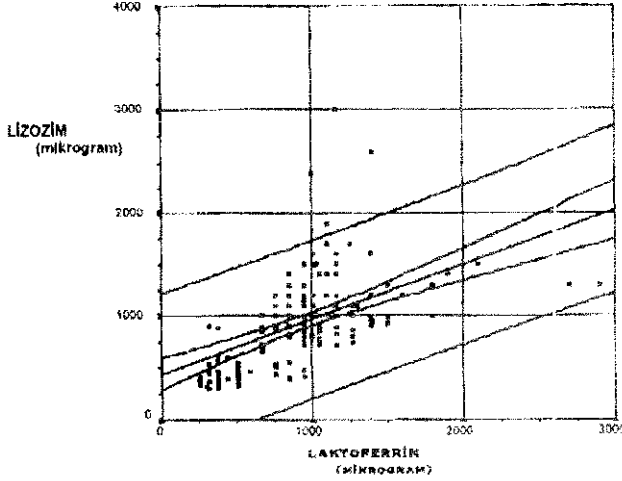
GPZ, hasta grubunda en düşük 0, en yüksek 18 sn, ortalama 5.98±3.94 sn, kontrol grubunda en düşük 6 sn, en yüksek 20 sn, ortalama 15.7±2.8 sn bulundu. Hasta grubunda 127 gözde (%84.6), kontrol grubunda 3 gözde (%6) 10 sn'nin altında GPZ bulundu.

Rose Bengal boyama skoru, hasta grubunda en düşük 0, en yüksek 11, ortalama 4.88±2.31, kontrol grubunda en düşük 0, en yüksek 4, ortalama 1.62±0.62 bulundu. Hasta grubunda 104 gözde (%69.3), kontrol grubunda 1 gözde (%2) RB pozitifitesi mevcuttu.

Laktoferrin düzeyi hasta grubunda en düşük 0, en yüksek 2.9, ortalama 0.906±0.49 mg/ml, kontrol grubunda en düşük 1.16, en yüksek 2.9, ortalama

Tablo 1. Klinik ve laboratuvar testlerin hasta ve kontrol gruplarında ortalama değerleri

Test	Kontrol Grubu ($\bar{x} \pm \text{sx}$)	Hasta Grubu ($\bar{x} \pm \text{sx}$)
Schirmer (mm/5 dk)	25,28±7.44	8.74±6.68
GPZ (sn)	15.78±2.85	5.98±3.94
Rose Bengal skoru	1.62±0.62	4.88±2.31
Lizozim (mg/ml)	2.29±0.74	0.90±0.48
Laktoferrin (mg/ml)	1.80±0.45	0.90±0.49

**Şekil 1.** Gözyaşı laktoferrin ve lizozim -konsantrasyonları arasındaki regresyon eğrisi

1.80±0.45 mg/ml bulundu. Laktoferrin düzeyi hasta grubunda 109 gözde (%76.6), kontrol grubunda 4 gözde (%8) pozitif.

Lizozim, hasta grubunda en düşük 0, en yüksek 3.0, ortalama 0.96±0.48 mg/ml, kontrol grupta en düşük 0.95, en yüksek 4.0 mg/ml, ortalama 2.29±0.74 mg/ml bulundu. Hasta grubunda 102 gözde (%73), kontrol grubunda 4 gözde (%8) lizozim düşüklüğü saptandı (Tablo 1).

Hasta grubunda lizozim ve laktoferrin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon mevcuttu ($r=0.53$) (Şekil 1).

Gözyaşı testleri tek tek değerlendirildiğinde GPZ %84.6 sensitivite ile en duyarlı test olarak bulundu. Bunu %76.6 ile laktoferrin ve %73 ile lizozim testleri izledi. Sensitivite açısından bu testler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Schirmer 1 testi %61 ile duyarlılığı en düşük test olarak tespit edildi. Bunu %69.3 ile Rose Bengal testi takip etti. Bu iki test ile diğer testler arasındaki fark anlamlıydı ($p<0.001$).

Rose Bengal %98 ile spesifiyesi en yüksek test olarak tespit edildi. Ancak bu 5 test arasında spesifite-leri yönünden fark bulunmadı ($p>0.05$). Sensitivitesi en

yüksek olan GPZ ile Lizozim ve Laktoferrin kombine edildiğinde GPZ+Liz %93.6, GPZ+Lak %92,3 olarak bulundu. Bu iki kombinasyonun sensitivite açısından tek başına Laktoferrin, Lizozim ve GPZ'den daha duyarlı olduğu görüldü ($p<0.05$). Bu iki kombinasyona Schirmer 1 ve Rose Bengal eklendiğinde, GPZ+Lak+RB %98 ve GPZ+Liz+RB'öe sensitivite %97, GPZ+Lak+Sch %97, GPZ+liz+Sch de %96 olarak bulundu. Ancak üçlü kombinasyonlar ikili kombinasyondan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı değildi ($p>0.05$).

GPZ+RB, GPZ+lizozim, GPZ+Laktoferrin %100 ile en spesifik kombinasyonlar olarak bulundu. Spesifite-leri açısından diğer kombinasyonlarla aralarında fark tesbit edilmedi,

Tartışma

Ciddi kuru göz olgularında tanının rutin testlerle kolaylıkla konulabilmesine karşılık hafif ve orta derece olgularda tanıda pek çok problem ortaya çıkmaktadır (1,11-13).

1986 Kopenhag kriterlerine göre Schirmer testi, GPZ, RB testlerinden ikisinin pozitif olması tanı konulmasında yeterli sayılmasına karşılık, şüpheli kuru göz

Tablo 2. Klinik ve laboratuvar testlerin tek tek, ikili ve üçlü kombinasyonlar olarak spesifite ve sensitivite oranları!

Gözyaşı testleri	Spesifite%	Sensitivite %
Schirmer 1	96	61.2
GPZ	96	84.6
Rose Bengal	98	69.3
Lizozim	92	73
Laktoferrin	92	76.8
GPZ+Sch	98	91.3
Sch+RB	96	80.6
Liz+Sch	98	85
Lak+Sch	98	88.3
GPZ+RB	100	92
GPZ+Liz	100	93.6
GPZ+Lak	100	92.3
Liz+RB	93	83.6
Lak+RB	98	87
üz+lakt	96	87.6
Lakt+Liz+RB	100	94
GPZ+Lakt+Liz	100	99
Lakt+Liz+Sch	100	94
GPZ+Lak+RB	100	38
Lakt+RB+Sch	100	93
GPZ+Lakt+Sch	100	97
GPZ+Liz+RB	100	97
Liz+RB+Sch	100	89
GPZ+Liz+Sch	100	96
GPZ+RB+Sch	100	96

KURU GÖZ OLGULARINDA GÖZYAŞI FONKSİYONUNUN KLİNİK VE LABORATUAR TESTLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ

olarak ele aldığımız olgularda tanı için diğer laboratuvar testlere gerek duyulmaktadır (6,8,10-11,14).

Gözyaşı bezinin otoimmün inflamatuvar reaksiyon sonucu dejenerasyonu ile bezin asiner ve tubüler fonksiyonlarının azalması, gözyaşı sıvı sekresyonu ve volümünde azalmayla beraber majör protein konsantrasyonunda da azalmaya neden olmaktadır (2,5,11,15-17).

Keratokonjunktivitis Sikka ile konnektif doku hastalıkları arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. Bu hastalıklar içinde Romatoid Artrit birinci sırada yer alır (8,10,18,19). Olgularımızın %75'inde kollajen doku hastalığı tespit edildi. Bu hastaların %60'ında Romatoid Artrit mevcuttu. Serimizdeki bu yüksek oran, hastalarımızın büyük bir kısmının Romatoloji polikliniğinden gelmiş olması nedeniyle KKS popülasyonundaki gerçek oranı yansıttığı iddia edilemez. Ancak kollajen doku hastalığı ve KKS arasındaki ilişkinin boyutunu göstermesi açısından önemlidir. Sjögren'in serisinde bu oran %62 olarak bildirilmiştir (20). Bu da kuru göz şüpheli hastalarda Romatolojik konsültasyonun erken tanıda büyük önemi olduğunu göstermektedir. Sonuçlarımız kuru göz olgularında tanıda hangi testlerin kullanılması gerektiği hakkında bazı ipuçları sunmaktadır.

Buna göre testleri tek tek ele aldığımızda GPZ en sensitif test olarak görülmektedir. Bunu lizozim ve laktoferrin testleri izlemektedir.

Kullanılan testin sensitivitesi kadar spesifitesi de önemlidir (13). Çalışmamızda Rose Bengal testi %98 ile en spesifik test olarak bulundu. Bu sonuç Gören'in 1988, Üstündağ'ın 1990 yılında elde ettikleri sonuçlara benzerlik göstermektedir (1,13). Gören (1) Rose Bengal ile Laktoferrin arasında spesifite açısından anlamlı fark olduğunu bildirirken, Üstündağ'ın (13) çalışmasında fark olmadığı bildirilmiştir. Çalışmamızda spesifite açısından testler arasında istatistiksel fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Üstündağ (13) yapmış olduğu çalışmada %82 sensitivite ile Laktoferrini en duyarlı test olarak bildirmiş ancak Laktoferrinle GPZ arasında anlamlı fark tespit etmemiştir. Gören (1) çalışmasında Rose Bengal ve Laktoferrini %89.7 ile en duyarlı test olarak tespit etmiş, GPZ'nı ise %71.8 ile anlamlı olarak düşük bulmuştur. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla oldukça benzerlik göstermektedir.

Üstündağ (13) Laktoferrin ile GPZ'nı kombine ettiğinde duyarlılığı %96 olarak saptamıştır. Çalışmamızda ise bu oran %92.3 olarak bulundu. Gören ve Üstündağ'ın çalışmalarında bu ikili kombinasyona Schirmer ve Rose Bengal ilave edildiğinde istatistiksel fark saptanmamıştır (1,13). Bizim çalışmamızda da GPZ+Lak, GPZ+Liz kombinasyonlarına Schirmer ve Rose Bengal ilavesinin katkısı olmadığı görülmüştür.

Schirmer 1 testi çalışmamızda en düşük sensitiviteyi vermiştir. Bu testin literatürde sık sık belirtildiği gibi normal varyasyon sınırları çok büyüktür (21). Schirmer test aynı kişiye, aynı ortam ve şartlarda yinelenen öl-

cümlerde çok yüksek varyasyon göstermektedir. Bu da testin güvenilirliğini düşürmektedir.

Schirmer 1 ve Rose Bengal sensitivitelerinin düşük olması yanında hemen sonuç vermeleri bu testlerin olumlu bir özelliğidir. Buna karşılık Laktoferrin testinin pahalı olması yanında sonuç için 72 saat beklenmesi dezavantaj olarak değerlendirilebilir.

Buna rağmen Laktoferrin ve Lizozim testleri KKS tanısında iyi birer parametredirler (7,13,22). Çalışmamızda laktoferrin ve lizozim konsantrasyonları arasında oldukça yüksek bir korelasyon saptanmıştır. Bu ilişki sürpriz değildir. Her iki protein de gözyaşı bezi orijindir ve bezin fonksiyonunu gösterirler (11,12,15,23). Laktoferrinin çoğunluğunun asiner hücre kaynaklı olduğu ve Sjögren'deki harabiyetin bu hücreleri erken dönemde etkilediği şeklindeki bilgilerden yola çıkarak laktoferrinin Sjögren sendromunda lizozime göre daha çok düşmesi gerektiği şeklindeki bir beklenti bizim çalışmamızda doğrulanmadı (7).

Lizozim testinde hastalardan gözyaşı alınmasındaki zorluklar, nazal irritasyonun hastayı oldukça rahatsız etmesi ve bazı laboratuvar imkanlara gerek olması, tercinaktoferrin yönünde yapılmasının daha doğru olacağını göstermektedir.

Kaynaklar

1. Gören MB, Seymour BS. Diagnostic test in patients with symptoms of keratokonjunktivitis sicca. Am J Ophthalmol 1988;106:570-4.
2. Lucca JA, Nunez JN, Farris LR. A comparison of diagnostic tests for keratoconjunktivitis sicca: Lactoplate, Schirmer, and tear Osmolarity. CLAOJ 1990; 6:109-12.
3. Pflugfelder SC, Huang JWA. Conjunctival Cytologic features of Primary Sjögren's Syndrome. Ophthalmology 1990; 97:985-91.
4. Usta YB. Kuru Göz. VI.Ulus. Oft. Kursu Bült. Ankara: Özetk Ofset, 1986:51-62.
5. Aksöz A, Çingil G, Kaynak S. Kuru göz olgularında klinik yaklaşım. TOD XX.Ulusal Kongresi Bülteni (1986). Bursa: Uludağ Üniv Basımevi, 1989:443-7.
6. Çiftçi F, Taşındı E, Örgü Y. Kuru göz teşhisinde parametreler. TOD XXIV.Ulusal Kongresi Bülteni (1990). Ankara: Yıldırım Ofset Basımevi, 1990:278-83.
7. Üstündağ C, Pazarlı H, Bahçecioğlu H. Sjögren sendromu ile birlikte olan ve olmayan keratokonjunktivitis sicca'lı olgularda gözyaşı laktoferrin konsantrasyonları. TOD XXIV. Ulusal Kongresi Bülteni. Ankara: Yıldırım Basımevi, 1990:282-3.
8. Ögüt MS, irkeç M, Bilgiç S. Sjögren Sendromunun klinik özelliklerinin değerlendirilmesi. T Oft Gaz 1988; 18:17-21.
9. Vvollheim FA. Henrik Sjögren and Sjögren syndrome. Scan J Rheumatol 1986; 61:11-6.
10. Acar MA, Kocaoğlu H, Ölmez Ü. Sjögren Sendromunda tanı kriterleri. T Oft Gaz 1992; 22:548-51,

11. Rivas L, Rodriques JJ, Alvarez MA. Correlation between impression cytology and tear function parameters in Sjogren's Syndrome. *Acta Ophthalmol* 1993; 71:353-9.
12. Macke IA, Seal DV. The questionably dry eye. *Br J Ophthalmol* 1981; 65:2-9.
13. Üstündağ C, Pazarlı H. Kuru gözlerde ve Sjogren Sendromunda gözyaşı fonksiyon testlerinin tanı değeri. *TOD XXV.Ulusal Kongresi Bülteni*, 1991:307-11.
14. Manthorpe R, Oxholm P, Prause JU. The Copenhagen criteria for Sjogren's syndrome. *Scand J Rheumatol* 1986; 61:19-21.
15. Boersma HGM, Van Bijsterueld OP. The lactopern test for the diagnosis of Keratoconjunctivitis Sicca in Clinical practice. *Ann Ophthalmol* 1987; 19:152-4.
16. Mackre IA, Seal DV. Diagnostic implications of tear protein profiles. *Br J Ophthalmol* 1984; 68:321-4.
17. Elçioğlu M, Urgancıoğlu M, Yüce S, Gezer A. Kuru göz olgularının konjonktiva sitolojisi ve gözyaşı fonksiyon testleri ile değerlendirilmesi. *TOD XXIII Ulusal Kongresi Bülteni* (1989). Adana: Çukurova Üniv Basımevi, 1989:242-4.
18. Rashe JJ, Jayson MV. Sjogren's Syndrome in systemic sclerosis. *Scan J Rheumatol* 1990; 19:57-65.
19. Vesura P, Maltarello Mc, Stecher F. Dry eye before and after therapy with hidroxypropyl methylcellulose. *Ophthalmologics* 1989; 198:152-62.
20. Sjogren H. Some problems concerning KCS and the Sicca syndrome. *Acta Ophthalmol* 1951; 29:33.
21. Shapiro A, Merin S. Schirmer test and break-up time of tear film in normal subjects. *Am J Ophthalmol* 1979; 88:752-6.
22. Sen DK, Sarin GS. Immunoassay of tearlysozyme in conjunctival diseases. *Br J Ophthalmol* 1982; 66:732-5.
23. Sen DK, Sarin GS. Immunoassay of human tear lysozyme. *Am J Ophthalmol* 1980; 90:715-8.