

干眼患者泪液结晶图和脂质层异常的关系研究

姚 涛, 崔 琦, 何 伟

引用: 姚涛, 崔琦, 何伟. 干眼患者泪液结晶图和脂质层异常的关系研究. 国际眼科杂志 2020;20(7):1279-1282

作者单位: (110034) 中国辽宁省沈阳市, 沈阳何氏眼科医院
作者简介: 姚涛, 毕业于大连医科大学, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 眼表及角膜疾病、屈光性白内障手术。

通讯作者: 何伟, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 眼屈光、白内障、眼底病. hsykhw@sina.com

收稿日期: 2019-12-05 修回日期: 2020-06-04

摘要

目的: 评估干眼患者泪液结晶图外层透明带的临床意义, 探索评估泪液脂质层的新方法。

方法: 随机选取 2018-05/2019-07 于在我院就诊的干眼患者 47 例 47 眼(均取右眼数据进行分析), 所有入组患者均行眼表疾病指数(OSDI)问卷评分, 采用 DR-1 泪膜干涉成像仪行脂质层分级检测, 眼表综合分析仪行非侵入式泪膜破裂时间(NIBUT)和泪河高度检查, 采集泪液行泪液结晶试验, 拍摄泪液结晶图全貌, 使用 Digimizer 软件测量结晶图, 计算结晶图外层透明带的面积占比, 并分析其与 OSDI 评分、脂质层分级、泪河高度、NIBUT 的相关性。

结果: 本研究纳入患者泪液结晶图透明带面积占比与 OSDI 评分呈负相关($r = -0.764, P < 0.05$), 与 DR-1 成像仪脂质层分级呈负相关($r = -0.838, < 0.05$), 与 NIBUT 呈正相关($r = 0.575, P < 0.05$), 与泪河高度无明显相关($r = -0.237, P = 0.112$)。

结论: 检测泪液结晶图外层透明带可有效评估泪液脂质层情况, 透明带面积占比越大, 脂质层越厚。该检测方法具有结果可量化、重复性较好、设备要求低等优点。

关键词: 干眼; 泪膜脂质层; 泪液结晶试验; 眼表疾病指数; 泪河高度

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.7.36

Study on the relationship between tear ferning image and the abnormality of tear lipid layer in dry eye patients

Tao Yao, Qi Cui, Wei He

He Eye Hospital, Shenyang 110034, Liaoning Province, China

Correspondence to: Wei He. He Eye Hospital, Shenyang 110034, Liaoning Province, China. hsykhw@sina.com

Received: 2019-12-05 Accepted: 2020-06-04

Abstract

• **AIM:** To evaluate the clinical significance of outer zona pellucid in tear ferning image in dry eye patients and explore a new method for evaluation tear lipid layer.

• **METHODS:** Forty - seven patients were randomly selected from the outpatient department of ophthalmology, He Eye hospital, Shenyang from May 2018 to July 2019. The right eye was selected as the study object. All patients were investigated by the ocular surface disease index (OSDI) questionnaire and performed lipid layer classification by DR-1 tear interferometry, NIBUT and tear meniscus height examination by OCULUS Keratograph. Then tears were collected and tear ferning tests was performed. The whole tear crystallization images were observed and photographed by microscopy, then measured by Digimizer software and the area ratios of outer transparent belt were calculated. Pearson correlation analysis were performed between area ratios of outer transparent belt and OSDI scores, lipid layer levels, tear meniscus height values, NIBUT values.

• **RESULTS:** The area ratios of outer transparent belt were negatively correlated with OSDI scores ($r = -0.764, P < 0.05$), negatively correlated with lipid layer levels ($r = -0.838, P < 0.05$), positively correlated with NIBUT values ($r = 0.575, P < 0.05$) and the correlation between tear meniscus height values was not significantly ($r = -0.237, P = 0.112$).

• **CONCLUSION:** The outer transparent belt in tear crystallization image can be used to evaluate the lipid layer of tear film; the larger area ratios of outer transparent belt, the thicker the lipid layer. This method has the advantages of quantified results, good repeatability, low requirement on equipment, and is worth popularizing.

• **KEYWORDS:** dry eye; lipid layer of the tear film; tear ferning test; ocular surface disease index; tear meniscus height

Citation: Yao T, Cui Q, He W. Study on the relationship between tear ferning image and the abnormality of tear lipid layer in dry eye patients. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020;20(7):1279-1282

0 引言

干眼作为一类常见的眼表疾病, 目前全球发病率约为 5.5%~35.7%, 多项研究表明, 在 45 岁或 45 岁以上的成年人中, 多达 20% 的人被认为患有干眼症。我国干眼发病率与其他亚洲国家相似, 较欧美高, 发病率约 21%~30%^[1]。轻中度干眼已成为影响我国人口工作效率与生活质量最常见的眼表疾病, 而重度干眼会导致视力障碍, 甚至失明。2017 年亚洲干眼共识提出全新的干眼诊疗理念, 即泪膜定向诊断和治疗^[2], 建议进行泪膜分层评估, 针对性进行治疗。对泪膜脂质层的评估, 传统多依赖于采用干涉光原理的大型设备, 如 DR-1 泪膜干涉成像仪、LipiView 和 Oculus 眼表综合分析仪等, 临床应用受限。经

典的泪液结晶试验是通过图像中央部分羊齿状物形成的程度判断泪液黏蛋白成分的异常。近年国外已有研究证实,人类泪液结晶图片中外层透明带为脂质成分^[3]。本研究评估了干眼患者泪液结晶图透明带的临床意义,探索一种评估泪液脂质层的新方法,现报告如下。

1 对象和方法

1.1 对象 随机筛选 2018-05/2019-07 于我院门诊就诊的干眼患者 47 例 47 眼(均取右眼数据进行分析),其中男 12 例,女 35 例,年龄 25~74(平均 45.71±14.32)岁。参照中华医学会眼科学分会角膜病学组发布的《干眼临床诊疗专家共识(2013 年)》干眼诊断标准^[1],进行检查和评估:(1)有干燥感、异物感、烧灼感、疲劳感、不适感、视力波动等主观症状之一者;(2) BUT≤5s 或 Schirmer I 试验结果(无表面麻醉)≤5mm/5min;(3) 5s<BUT≤10s 或 5mm/5min<Schirmer I 试验结果(无表面麻醉)≤10mm/5min,同时伴有角结膜荧光素染色阳性者。入选标准为同时满足以上(1)和(2),或同时满足(1)和(3)。排除眼表急性感染和近 3mo 有眼部外伤手术史的患者。本研究通过我院伦理委员会审查,所有患者均签署了知情同意书。

1.2 方法 所有患者均行眼表疾病指数(OSDI)问卷评分、脂质层分级检测、非侵入式泪膜破裂时间(NIBUT)和泪河高度检查,应用改良法行泪液采集并行泪液结晶试验,显微镜下获取结晶图像全貌,计算外层透明带面积占比,之后与上述干眼相关指标进行相关性分析。

1.2.1 主观症状评估 采用国际通用的眼表疾病指数量表(OSDI 问卷)评估主观症状,包括近 1wk 内畏光、异物感、眼痛、视力波动等 12 项指标评分,OSDI 值=所有回答问题的总分×25/回答的问题数。评定标准:正常≤12 分;12 分<轻度干眼≤22 分;22 分<中度干眼≤32 分;32<重度干眼≤100 分^[4]。

1.2.2 泪膜脂质层评估 采用 DR-1 泪膜干涉成像仪评估受试者泪膜脂质层,由同一检查者完成检测。分级标准:I 级,灰白色无图像;II 级,灰白色,但有轻微条纹改变;III 级,出现红色、黄色光谱;IV 级,出现杂乱的紫色、蓝色光谱;V 级,泪膜层消失,角膜上皮暴露,不产生干涉图像。

1.2.3 泪河高度 采用眼表综合分析仪对受试者的泪河图像进行拍摄,并用系统内自置的测量工具对瞳孔中央正下方即 6:00 位的泪河高度进行测量。每位受试者经同一位眼科医生检查 3 次,取平均值为最终测量结果。

1.2.4 非侵入式泪膜破裂时间 采用眼表综合分析仪中的 Tear Film Scan 软件通过角膜前表面曲率变化而识别泪膜厚度的改变,从而计算出 NIBUT。

1.2.5 泪液结晶试验和结晶图获取分析 受试者取坐位,无表面麻醉,用灭菌玻璃毛细管(0.2mm 内径)在裂隙灯下于受试者右眼近泪阜处的泪河吸取约 1μL 泪液(长度约 8mm),利用硅胶吹头将泪液排出滴于干净的载玻片上,在室温下(18℃~25℃)干燥 10min。使用显微镜(物镜=5×,目镜=10×)观察并拍摄干燥后的泪液结晶图全貌。将图片导入电脑,使用 Digimizer 软件对结晶图外层透明带和整个结晶图分别进行手动圈选(图 1),测量出透明带面积和结晶图总面积,经计算得出透明带在结晶图总面积中的面积占比。

统计学分析:采用 SPSS 24.0 统计学软件进行统计学



图 1 Digimizer 软件测量示例。

分析。计量资料均服从正态分布,采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)描述,采用 Pearson 积差相关分析法分析泪液结晶图的外层透明带面积占比与 OSDI 评分、DR-1 脂质层测试分级、泪河高度、NIBUT 的相关性。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

所有患者均顺利完成检查。在泪液采集过程中患者无不适主诉,无刺激性泪液分泌,均一次顺利完成泪液采集并获得泪液结晶图。从获取的典型泪液结晶图中可见,合并严重睑板腺功能障碍(MGD)的重度干眼患者泪液结晶图中的外层透明带窄且分布不均匀(图 2A);轻度干眼患者结晶图的外层透明带相对宽且分布均匀(图 2B)。本组患者 OSDI 评分为 36.38±14.14 分,其中轻度干眼 5 眼,中度干眼 34 眼,重度干眼 8 眼;泪膜脂质层分级为 2.70±0.86 级;泪河高度为 0.16±0.05mm;NIBUT 为 7.93±5.59s;泪液结晶图外层透明带面积占比为 0.18%±0.05%。Pearson 积差相关分析结果显示,本组患者 OSDI 评分与泪液结晶图的外层透明带面积占比呈负相关($r=-0.764, P<0.05$,图 3A),表明 OSDI 得分越高(即干眼症状越重),泪液结晶图外层透明带面积占比越小;泪膜脂质层分级与泪液结晶图外层透明带面积占比呈负相关($r=-0.838, P<0.05$,图 3B),表明泪膜脂质层检测结果等级越高(即泪膜脂质层越薄),泪液结晶图外层透明带面积占比越小;泪河高度与泪液结晶图外层透明带面积占比无显著相关性($r=-0.237, P=0.112$,图 3C);NIBUT 值与泪液结晶图外层透明带面积占比呈正相关($r=0.575, P<0.05$,图 3D),表明泪膜破裂时间越长(即泪膜越稳定),泪液结晶图外层透明带面积占比有增大的趋势。

3 讨论

干眼是由于泪液的量或质或流体动力学异常引起的泪膜不稳定和(或)眼表损害,从而导致眼的不适症状及视功能障碍的一类疾病。此病的发生是综合性因素作用的结果,然而真正的机制尚不完全清楚。现在普遍认为干眼的发生涉及到一个复杂的功能机构—眼表泪液分泌反射系统,包括眼表(角膜上皮、结膜上皮、泪膜)和泪分泌腺(泪腺、副泪腺、结膜杯状细胞、睑板腺等外分泌腺)以及连接它们的神经网络。其中任何一个环节出现问题均可引起泪膜完整性和功能的破坏,导致干眼的发生^[5]。目前我国按照泪液的组成成分与维持泪膜稳定性的因素将干眼分为水液缺乏型、蒸发过强型、黏蛋白缺乏型、泪液动力学异常型与混合型五种类型^[1]。国外有学者提出了全

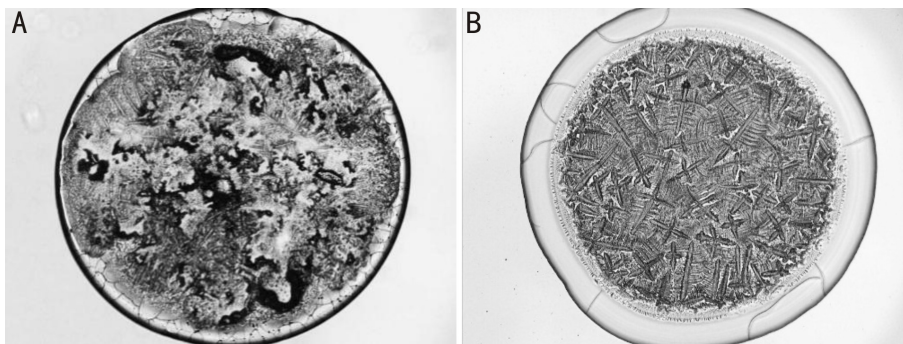


图2 典型的泪液结晶图 A:重度干眼患者;B:轻度干眼患者。

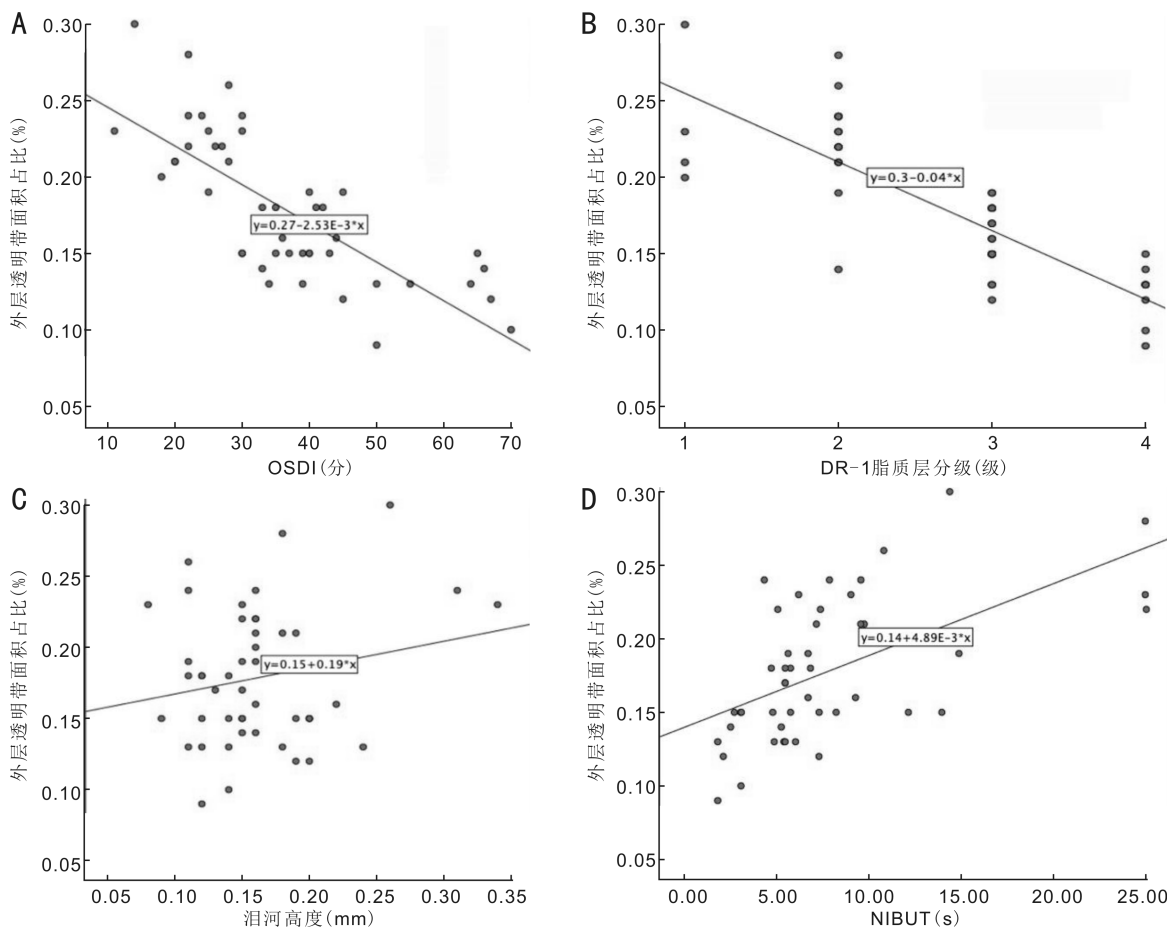


图3 Pearson 积差相关分析结果 A:OSDI 评分与泪液结晶图的外层透明带面积占比的相关性;B:泪膜脂质层分级与泪液结晶图的外层透明带面积占比的相关性;C:泪河高度与泪液结晶图的外层透明带面积占比的相关性;D:NIBUT 与泪液结晶图的外层透明带面积占比的相关性。

新的干眼诊疗理念,即泪膜定向诊断和治疗(Tear film oriented diagnosis and therapy,TFOD and TFOT),建议进行泪膜的分层评估,针对性地进行治疗^[6]。这个诊疗思路也被广泛肯定,并被写入了2017年的亚洲干眼共识^[2]。

脂质层位于泪膜的最表层,厚度约 $0.1\mu\text{m}$ 。泪膜脂质层主要由位于上下眼睑的睑板腺分泌的睑脂形成,分为非极性脂质和极性脂质,非极性脂质(如胆固醇酯、甘油三酯)位于泪液最表面,构成脂质主要厚度;极性脂质(如磷脂、脂肪酸)临近水-黏蛋白层,可形成离子键和氢键,同时结合水层和非极性脂质层,为均匀分散排布的薄层结构^[7-8]。较厚的非极性脂质层主要起减少水分蒸发的作用,而脂质层的完整性则依赖于极性脂质,二者缺一不可。脂质层的生理作用主要有以下几方面:(1)在瞬目过程中对眼睑运动起到润滑的作用;(2)阻止水液蒸发的屏障作

用;(3)阻止微生物和有机物(如花粉)进入眼表^[8]。脂质层的异常在干眼发病中起到重要作用。蒸发过强型干眼主要由于泪膜脂质层的质或量的异常而引起,如脂质层游离脂肪酸增加,内源性蜡脂及胆固醇合成增多,磷脂水平下降等。近年来,随着生活环境和生活习惯的改变,如智能手机普及、电子化办公人群增加、不良的阅读习惯、空调环境、长期熬夜等,也导致脂质层异常干眼所占的比例越来越大。对泪膜脂质层的评估,现在临床上多依赖于采用干涉光原理的大型设备,如DR-1泪膜干涉成像仪、LipiView眼表面干涉仪和Oculus眼表综合分析仪等^[9-10],它们都具有非侵入性,获取结果快速等特点,但价格相对昂贵、服务价格高是这类设备的缺点。

泪液结晶试验是在获取患者泪液后,将泪液样本滴于干净的载玻片上,常温下自然干燥,干燥过程中因为水分

的蒸发,泪液中的蛋白(主要为黏蛋白)与盐离子相互作用,形成特殊的“羊齿状结晶”,又称泪液蕨类试验(tear ferning, TFT)。泪液中黏蛋白成分是决定泪液羊齿状结晶的重要因素。传统的泪液结晶试验是通过图像中央部分羊齿状物形成的程度,进而判断泪液黏蛋白成分的异常,辅助诊断干眼^[11-12]。近年有研究者对泪液结晶图进行了更为深入的研究,发现所有结晶图的外层均带有透明的带状部分。Traipe等^[3]使用尼罗蓝A及油红O,与新鲜泪液进行1:10比例混合,然后将1 μ L混合液体滴于干净的载玻片上干燥,每个泪液标本最外层的透明带均能被染色,认为该部分为脂质。本研究在前期预实验中也使用脂质特异性染色的苏丹Ⅲ染液,对正常人的泪液样本进行染色后发现,外层的确可被苏丹Ⅲ染液染色,进一步证实了该部分为脂质层。这在理论上可解释为当泪液滴于载玻片后,因为比重的原因,脂质成分漂浮于泪滴表层,随着水分蒸发,蛋白和无机盐成分析出形成结晶时,表层的脂质层被印在结晶斑的最外层,形成独特的透明带,并带有油脂样反光。上述泪液结晶图外层透明带为脂质成分的发现,在之前的报道中从未被提及其临床意义。理论上,泪滴中的脂质成分越多,结晶图外层透明带会越宽,意味着可以通过结晶图外层透明带的宽度判断泪液脂质层的厚度。本研究为了使泪液结晶试验标准化,并使得获取的泪液结晶图具有较好一致性和可比性,采取相对固定量(1 μ L)的泪液滴于载玻片上,形成的泪液结晶图大小和形态一致性较好。另外,为进一步排除不同样本泪滴图大小和形态的差异在透明带宽度结果过程中测量造成影响,我们采用透明带面积占比值(透明带部分面积占整个结晶图的总面积的百分比)进行最终的统计分析。

本研究结果发现,透明带面积占比与DR-1泪膜干涉成像仪检测分级具有强相关性,提示泪液结晶图的外层透明带越宽,泪膜脂质层越厚,这与本文研究者之前的设想相一致。进一步分析发现,透明带面积占比与干眼症状评分(OSDI评分)及其他干眼检查结果(DR-1泪膜干涉成像仪检测分级、泪膜破裂时间)均具有相关性,提示对泪液结晶图透明带的评估具有一定的临床意义,即透明带越宽,干眼症状越轻、泪膜稳定性越好。这与之前其他学者报道的泪膜脂质层厚度相关研究结果相一致^[13-14]。我们发现,透明带面积占比与泪河高度的相关性无统计学意义,考虑泪河高度在一定程度上反映泪液的分泌量,是评价水液缺乏型干眼的重要指征,透明带的宽度与泪膜中水液含量不相关。此外,从典型干眼患者泪液结晶图全貌可以看到,合并严重MGD的干眼患者图像外层透明带除了变窄,还存在分布不均的特点,考虑可能是由于这类患者泪膜脂质层中极性脂质成分异常,脂质层不能形成稳定均一的结构。而通过结晶图透明带的均一性是否可以用来

判断泪膜极性脂质的异常尚不明确,有待进一步研究。

本研究提供了一种通过泪液结晶图评估泪液脂质层的新方法,并评价了其临床意义。该方法具有结果可量化、重复性较好、设备要求低等优点。本研究中对结晶图片的评估是应用医学测量软件进行的手工测量,相对费时,但由于结晶图分层清晰,开发出自动化的专有软件并不困难。此方法为诊断干眼以及评估其严重程度提供了一种新的思路,对干眼的诊断及治疗效果评价也会起到一定作用,可作为干眼的辅助检查手段。然而,受现有设备的限制,本研究仅采用了DR-1泪膜干涉成像仪进行脂质层评估,该设备获取的泪膜脂质层分级具有一定的主观性,需要根据操作经验和熟悉程度联合判断,容易造成一些误差,这是本研究的不足之处。如果可能,将进一步扩大样本量,增加与采用LipiView眼表面干涉仪获取脂质层厚度的客观指标进行对比,结果可信度更高。

参考文献

- 1 中华医学会眼科学分会角膜病学组.干眼临床诊疗专家共识(2013年). 中华眼科杂志 2013; 49(1): 73-75
- 2 Jones L, Downie LE, Korb D, et al. TFOS DEWS II management and therapy report. *Ocul Surf* 2017; 15(3): 575-628
- 3 Traipe F, Traipe L, Salinas-Toro D, et al. Zone I of Tear Microdesiccates Is a Lipid-Containing Structure. *Cornea* 2017; 36(2): 229-235
- 4 Ozcura F, Aydin S, Helvacı MR. Ocular surface disease index for the diagnosis of dry eye syndrome. *Ocul Immunol Inflamm* 2007; 15(5): 389-393
- 5 Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, et al. The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea* 1998; 17(6): 584-589
- 6 Yokoi N, Georgiev GA. Tear film-oriented diagnosis and Tear film oriented therapy for dry eye based on tear film dynamics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59(14): DES13-DES22
- 7 沈婷, 张琳. 泪膜脂质成分及其与干眼症的关系. 医学综述 2011; 17(4): 556-559
- 8 McCulley JP, Shine WE. The lipid layer: the outer surface of the ocular surface tear film. *Biosc Rep* 2001; 21(4): 407-418
- 9 孙铁, 石文卿, 邵毅. 干眼成像技术的研究进展. 国际眼科杂志 2019; 19(6): 937-940
- 10 殷鸿波, 田颜, 邓应平. 三种客观评价泪膜的方法探讨. 国际眼科杂志 2017; 17(5): 894-896
- 11 Kogbe O, Liotet S, Tiffany JM. Factors responsible for tear ferning. *Cornea* 1991; 10(5): 433-444
- 12 张兴儒, 李青松, 项敏泓, 等. 结膜松弛症泪液黏蛋白及球结膜杯状细胞的研究. 国际眼科杂志 2009; 9(5): 895-899
- 13 王小兵, 杜向红, 梁庆丰. 干眼患者症状与泪膜脂质层厚度的相关性. 眼科 2017; 26(2): 90-94
- 14 Blackie CA, Solomon JD, Scaffidi RC, et al. The relationship between dry eye symptoms and lipid layer thickness. *Cornea* 2009; 28(7): 789-794