

# 非单剂量自体血清滴眼治疗重度干眼的自身对照研究

何宏, 廖爱萍, 郭颖卓, 杨军, 丁辉, 钟兴武

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 30772389)

作者单位: (510060) 中国广东省广州市, 中山大学中山眼科中心

作者简介: 何宏, 女, 博士, 住院医师, 研究方向: 角膜病。

通讯作者: 钟兴武, 男, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 角膜病。zhongxwu@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2012-03-23 修回日期: 2012-06-09

## Self-control study of autologous serum with Thiomersal in the management of recalcitrant dry eye syndrome in Outpatient Department

Hong He, Ai-Ping Liao, Ying-Zhuo Guo, Jun Yang, Hui Ding, Xing-Wu Zhong

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 30772389)

Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China

Correspondence to: Xing-Wu Zhong. Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China. zhongxwu@mail.sysu.edu.cn

Received: 2012-03-23 Accepted: 2012-06-09

### Abstract

• AIM: To evaluate the efficacy and safety of autologous serum (AS) eye drops with 0.01g/L Thiomersal in the treatment of recalcitrant dry eye syndrome.

• METHODS: Twenty-six eyes of 13 patients with recalcitrant dry eye syndrome were enrolled in this self-control study, and treated with 2 months of AS 20% with 0.01g/L Thiomersal followed by 2 months of AS 50% with 0.01g/L Thiomersal. Tear membrane lever (TML), tear film break-up time (BUT), corneal fluorescein staining (FL), Schirmer I test with topical anaesthesia (S I t), corneal sensitivity test and subjective symptom scoring were performed at entry, 2, 4, 8, 12 and 16 weeks. Statistical analysis was carried out using Wilcoxon's signed rank test.

• RESULTS: Both TML and subjective symptom scoring showed significant improvement after 2 weeks of treatment ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); after 4 weeks of treatment, BUT and FL were significant improvement ( $P < 0.05$ ); S I t and corneal sensitivity were significant increased after 8 weeks of treatment ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). No significant complications were reported in this study.

• CONCLUSION: AS eye drops 20% with 0.01g/L Thiomersal are effective and safe in treating refractory dry eye syndrome, and should be available as an alternative management option in developing countries.

• KEYWORDS: autologous serum; dry eye syndrome; efficacy

Citation: He H, Liao AP, Guo YZ, et al. Self-control study of autologous serum with Thiomersal in the management of recalcitrant dry eye syndrome in Outpatient Department. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(8):1478-1480

### 摘要

目的: 评估含 0.01g/L 硫柳汞非单剂量自体血清 (Autologous serum, AS) 滴眼治疗重度干眼的有效性和安全性。

方法: 接受至少 12wk 传统干眼治疗无效的重度干眼患者 13 例 26 眼, 采用自身对照方法, 用 20% 含 0.01g/L 硫柳汞非单剂量的 AS 滴眼 8wk 后, 再用 50% 相同制剂 AS 滴眼 8wk。滴眼后 2, 4, 8, 12, 16wk 分别比较基础泪河高度、泪膜破裂时间、角膜荧光染色、基础泪液分泌试验、角膜知觉、自觉症状评分。

结果: 滴眼后 2wk, 基础泪河高度、患者自觉症状与用药前比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ ); 滴眼后 4wk, 泪膜破裂时间、角膜荧光素染色与用药前比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 滴眼后 8wk, 基础泪液分泌、角膜知觉与用药前比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ )。滴眼观察期间未发现明显并发症。

结论: 含 0.01g/L 硫柳汞非单剂量 AS 滴眼能安全有效地缓解重度干眼患者的症状和体征。

关键词: 自体血清滴眼液; 干眼症; 有效性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2012.08.14

引用: 何宏, 廖爱萍, 郭颖卓, 等. 非单剂量自体血清滴眼治疗重度干眼的自身对照研究. 国际眼科杂志 2012;12(8):1478-1480

### 0 引言

自体血清滴眼液 (Autologous serum, AS) 凭借对眼表润滑和营养的双重作用, 及天然、不易致敏的特性成为治疗严重干眼等眼表疾病的手段。但其临床应用也因难于保存且易被微生物污染而大大受限。在我国, 更是因此缺乏门诊应用的研究报道。基于自体血清在干眼治疗中的独特优势和巨大潜力, 我们采用自身前后对照的方法, 观察了对传统干眼治疗无效的重度干眼患者 13 例 26 眼应用 20% 和 50% 含 0.01g/L 硫柳汞非单剂量自体血清的效果。

### 1 对象和方法

1.1 对象 研究对象选自 2010-03/2011-04 在中山大学附属中山眼科中心就诊的门诊患者。接受至少 12wk 传统干眼治疗无效的重度干眼患者 13 例 26 眼, 女 10 例, 男 3 例。年龄 26~66 (平均 45.3±11.1) 岁。13 例中 3 例 6 眼为 Sjögren 综合征, 10 例 20 眼为非 Sjögren 综合征。干眼诊断参照日本标准: 同时具有以下 3 项阳性: (1) 慢性症状 (一项以上阳性): 视疲劳、分泌物、异物感、眼睑沉重感、干涩、不适疼痛、流泪视物模糊、痒、畏光、眼红; (2) 活体染色: 虎红染色评分  $\geq 3$  或荧光染色  $\geq 1$ ; (3) 泪液功能

表1 患者基本情况

患者	性别	年龄(岁)	诊断	治疗史
1	女	58	非 SS 干眼,青光眼双眼	A,5g/L 噻吗心安滴眼液
2	女	39	非 SS 干眼	A,0.2g/L 氟米龙滴眼液
3	男	66	非 SS 干眼	A
4	男	49	非 SS 干眼	A
5	女	54	非 SS 干眼	A
6	女	49	非 SS 干眼	A,0.2g/L 氟米龙滴眼液
7	女	47	非 SS 干眼	A
8	女	51	非 SS 干眼	A,非甾体类抗炎滴眼液
9	女	26	非 SS 干眼	A
10	女	35	SS	A,非甾体类抗炎滴眼液,0.2g/L 氟米龙滴眼液
11	男	44	非 SS 干眼	A,双眼暂时性上下泪小点栓塞术
12	女	38	非 SS 干眼	A
13	女	32	SS	A,非甾体类抗炎滴眼液,0.2g/L 氟米龙滴眼液,1g/L 环孢霉素 A 滴眼液

注:“SS”表示 Sjögren 综合征;“A”表示人工泪液+抗生素滴眼液+细胞生长因子制剂。

表2 干眼患者自体血清治疗前后症状体征变化

	基础泪河高度(mm)	泪膜破裂时间(s)	角膜荧光染色评分	基础泪液分泌试验(mm)	角膜知觉测试(mm)	主觉症状评分
治疗前	0.16±0.09	2.96±2.67	3.08±1.92	3.58±2.26	5.25±0.99	13.54±4.96
治疗后 2wk	0.18±0.09 <sup>b</sup>	3.12±2.18	2.77±1.75	4.92±4.95	5.27±1.07	9.31±4.70 <sup>a</sup>
<i>P</i>	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05
治疗后 4wk	0.21±0.09 <sup>b</sup>	5.08±3.43 <sup>b</sup>	2.12±1.90 <sup>b</sup>	4.92±3.61	5.59±0.61	8.28±4.53 <sup>a</sup>
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05	>0.05	<0.05
治疗后 8wk	0.20±0.09 <sup>b</sup>	6.77±3.62 <sup>b</sup>	1.77±1.90 <sup>a</sup>	7.64±5.10 <sup>b</sup>	5.73±0.43 <sup>a</sup>	7.70±4.87 <sup>b</sup>
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01	<0.05	<0.01
治疗后 12wk	0.19±0.09 <sup>b</sup>	6.64±3.67 <sup>b</sup>	1.64±1.84 <sup>a</sup>	6.77±3.98 <sup>b</sup>	5.14±1.72	6.80±4.05 <sup>b</sup>
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01	>0.05	<0.01
治疗后 16wk	0.19±0.08 <sup>b</sup>	5.73±3.59 <sup>a</sup>	2.05±1.86 <sup>a</sup>	6.95±3.77 <sup>b</sup>	5.32±1.74	6.15±3.27 <sup>a</sup>
<i>P</i>	<0.01	<0.05	<0.05	<0.01	>0.05	<0.05

<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>b</sup>*P*<0.01 vs 治疗前。

试验: BUT ≤ 5s, 表面 S I t ≤ 5mm; 棉丝试验 ≤ 10mm 或泪液稀释试验 ≤ x4。

## 1.2 方法

**1.2.1 试验方法** 接受至少 12wk 传统干眼治疗无效的重度干眼患者 13 例 26 眼。记录患者受试前眼部疾病既往史、治疗史, 全身相关疾病史及用药史。用 20% 含 0.01g/L 硫柳汞非单剂量的 AS 滴眼 8wk 后, 再用 50% 相同制剂 AS 滴眼 8wk。每日 6~8 次, 每次 1 滴。治疗前和用药后 2, 4, 8, 12, 16wk 分别检查视力、眼压、基础泪河高度 (tear membrane lever, TML)、泪膜破裂时间 (break-up time, BUT)、角膜荧光染色 (fluorescein staining, FL)、基础泪液分泌试验 (Schirmir I test, S I t)、角膜知觉, 并通过主觉问卷调查进行主觉症状评分。所有客观检查由同一操作者运用相同设备完成。

**1.2.1.1 角膜荧光染色** 参考 Miyata 等<sup>[1]</sup> 提出的分级方式, 按角膜着色面积和密度综合评定, 依 A(0~3) D(0~3) 表示角膜荧光染色具体分级。其中 A(area) 代表面积。角膜被等分成 3 份, 无着色为 A0; ≤ 1/3 区域着色: A1; 1/3 < 着色面积 ≤ 2/3: A2; < 2/3 角膜面积着色: A3。D(density) 表示着色点密度。无着色点为 D0, 散在少数点状着色为 D1, 中量点状着色记为 D2, 密集点状着色及点状损伤融合成片记为 D3。总分 0~9 分。

**1.2.1.2 主觉症状评分** 采用主觉问卷调查 (OSDI, OCULAR SURFACE DISEASE INDEX), 由患者本人据实填写并签名。研究者按 OSDI 所示计分法统计主觉症状评分<sup>[2]</sup>。

**1.2.2 血清制备和保存** 所有自体血清制品由中山眼科中心药剂科统一制备。以下处理在无菌条件下完成: 高压灭菌真空采血器自患者肘前静脉抽取全血 (20% 血清制备抽取 20mL, 50% 血清制备抽取 40mL), 标记患者个人资料 (姓名、性别、年龄), 室温静置 2h, 3000g/min 离心 15min。无菌注射器抽取离心后上清液, 分别注入消毒滴眼液瓶 (20% 血清制备: 2mL/支; 50% 血清制备: 5mL/支), 平衡盐溶液按比例 (1/4 或 1/1) 稀释血清, 终体积 10mL, 每瓶按 1/100000 加入硫柳汞, 配置完毕封口, 标记患者姓名、性别、年龄、制备日期。嘱患者冰盒运输 AS, 避光直立放置。开启前 -20℃ 保存, 开启后 4℃ 保存。每瓶眼水开启后 1wk 必须抛弃。未开启眼水保存时限 3mo。

统计学分析: 应用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理, Wilcoxon 秩和检验分析比较自体血清前使用前后各时间点检查结果, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

诊治前患者基本情况见表 1。受试者使用 AS 前, 使用 AS 后 2, 4, 8, 12, 16wk 症状体征改变如表 2 所示。与基

础时间点相比,自用药后 2wk 开始各时间点患者主观症状显著改善 ( $P < 0.05$ ); TML 显著提高 ( $P < 0.01$ )。用药后 4wk, BUT, FL 显著改善 ( $P < 0.01$ )。用药后 8wk, S I T 显著增加 ( $P < 0.01$ )。角膜知觉在用药后 8wk 明显改善 ( $P < 0.05$ )。用药观察的 16wk, 未发现 1 例并发症及副反应。

### 3 讨论

**3.1 AS 治疗干眼的作用原理和应用现状** 1984 年首次发表了 AS 应用于干眼治疗的报道。此后,一系列随机对照临床试验及体外实验多角度确证了 AS 在干眼治疗中的独特效果。基于 AS 的良好应用前景潜力,包括美国、英国、韩国在内全世界多个国家都已将 AS 成功应用于各类严重眼表疾病的门诊治疗,并进一步对其门诊治疗的安全性有效性进行了广泛而系统的探讨研究。大多数国外报道认为:对于最大限度地应用传统治疗方法仍不敏感的中重度干眼患者,无菌单剂量无防腐剂的 AS 能安全有效地改善包括主观症状、BUT、FL, 印记细胞学检查等在内的各类干眼症状体征以及实验室检查结果<sup>[3-6]</sup>。

人们普遍认为 AS 在干眼治疗中取得的巨大成功最主要归因于以下几方面:(1) AS 与正常泪液有着极其相似的成分。这些成分在促进眼表上皮细胞的增殖,分化,成熟上起到重要作用。其中某些成分的含量甚至高于泪液。(2) 拥有与正常泪液更相似的 PH 值,渗透压以及生化特性<sup>[7]</sup>。

虽然单剂量无防腐剂 AS 已经被发达国家成功应用于重症干眼患者的门诊治疗,但在一些经济卫生条件欠发达地区应用却需面对两个问题:(1) 无菌单剂量无防腐剂 AS 常规采用 0.4mL/支装的独立包装。这种制作一方面大大提高了成本,给患者造成了较大经济负担。另一方面,对医院制药部硬件设施提出了更高要求,难以在我国各级别医院中普及。(2) 该剂型运输贮存条件严苛,对于大量身处农村的患者,无疑显著加大了微生物污染的危险。

**3.2 非单剂量 AS** 基于对 AS 门诊使用的有效性、安全性和经济性的综合考量,本研究第一次使用了含 0.01g/L 硫柳汞非单剂量 AS 治疗门诊部重度干眼患者。

**3.2.1 非单剂量 AS 制备参数** 尽管 AS 对于干眼的疗效已得到公认,但各类研究中 AS 的制备参数(主要包括血液静置时间、温度、离心时间、转速、稀释液的选择等)却千差万别。为了寻找一个合适的参数, Liu 等<sup>[8]</sup>通过体外细胞试验,对比了多个参数组合制备的不同 AS 对体外细胞增殖分化迁移的影响差异。结果认为凝集时间  $\geq 120\text{min}$ , 离心参数  $3000\text{g} \times 15\text{min}$ , BSS 稀释血清,最利于角膜上皮细胞增殖分化迁移。此次实验我们参考了 Liu 的参数标准。

**3.2.2 非单剂量 AS 浓度选择** 需反复采血,患者医从性顺应性较差是 AS 应用面临的另一个不可忽视的问题。虽然有研究者认为血清疗效和浓度成正比<sup>[5,9]</sup>,但低浓度 AS 却可相对减少采血量,提高医从性顺应性。故找寻一个最佳血清浓度尤其重要。本研究中我们也试图探讨 20% 和 50% AS 的疗效差异。研究的前 8wk 和后 8wk 顺次使用了 20% 和 50% 两种不同浓度的 AS。从结果可以看到:20% AS 连续使用 8wk 后,所有受测指标均较受试前显著提高。随后滴用 50% AS 共 8wk,各项指标总体上呈现疗效回落的趋势。我们认为:20% 含 0.01g/L 硫柳汞非单剂量 AS 较 50% 相同制剂 AS 可能更好。这种浓度优势

可能与以下因素有关:(1) 与高浓度伴随的高采血量和高黏度可导致较低的医疗顺应性和患者使用的眼部不适感;(2) 20% AS 的各种有效成分在浓度和比例上可能更有利于眼表损伤愈合。

**3.2.3 非单剂量 AS 疗效和安全性观察** 为了客观而较全面的评价非单剂量 AS 的疗效,本实验所选择临床评价指标包括干眼常规检查和角膜知觉试验。通过 16wk 的观察, TML, BUT, FL, S I T 均显著改善。角膜知觉试验主要反映三叉神经眼支终末支情况。角膜的感觉神经对于营养角膜,维持角膜上皮的完整性,刺激泪液分泌,调节瞬目反射具有非常重要的作用。严重的干眼患者因为长期慢性眼表炎症易导致角膜感觉神经末端数量和功能异常。因此,干眼症患者在角膜知觉测试中常表现出对机械刺激的知觉减退和化学刺激感受阈值降低<sup>[10,11]</sup>。本结果显示,连续应用 20% AS 8wk,角膜知觉显著提高,而改用 50% AS 8wk 后,该指标与用药前比较差异无统计学意义。此结果提示 20% AS 可能具有直接或间接减轻角膜三叉神经眼支的损害和促进已损害神经功能恢复的作用。但其具体机制有待进一步研究。另外,硫柳汞作为常规添加防腐剂而广泛用于局部眼部制剂,主要副作用是眼部过敏症状。基于此点,筛选试验对象的过程我们严格排除了有眼部过敏病史及眼部过敏症状者。试验观察的 4mo 中,未发现 1 例不良反应。

总之,我们认为 20% 含 0.01g/L 硫柳汞的非单剂量 AS 能安全有效地缓解对传统治疗不敏感的干眼症状和体征。为在经济欠发达国家和地区治疗中重度干眼提供了可能的更理想的治疗手段。

### 参考文献

- Miyata K, Amano S, Sawa M, et al. A novel grading method for superficial punctate keratopathy magnitude and its correlation with corneal epithelial permeability. *Arch Ophthalmol* 2003;121(11):1537-1539
- Ozcara F, Aydin S, Helvacı MR. Ocular surface disease index for the diagnosis of dry eye syndrome. *Ocul Immunol Inflamm* 2007;15(5):389-393
- Watson SL, Daniels JT, Geerling G, et al. Clinical trials of therapeutic ocular surface medium for moderate to severe dry eye. *Cornea* 2010;29(11):1241-1246
- Yoon KC, Heo H, Im SK, et al. Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2007;144(1):86-92
- Noble BA, Loh RS, MacLennan S, et al. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol* 2004;88(5):647-652
- Lee GA, Chen SX. Autologous serum in the management of recalcitrant dry eye syndrome. *Clin Exper Ophthalmol* 2008;36(2):119-122
- Shimmura S, Ueno R, Matsumoto Y, et al. Albumin as a tear supplement in the treatment of severe dry eye. *Br J Ophthalmol* 2003;87(10):1279-1283
- Liu L, Hartwiq D, Harloff S, et al. An optimised protocol for the production of autologous serum eyedrops. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243(7):706-714
- Jeng BH, Dupps WJ. Autologous serum 50% eyedrops in the treatment of persistent corneal epithelial defects. *Cornea* 2009;28(10):1104-1108
- Situ P, Simpson TL, Fonn D, et al. Conjunctival and corneal pneumatic sensitivity is associated with signs and symptoms of ocular dryness. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(7):2971-2976
- Bourcier T, Acosta MC, Borderie V, et al. Decreased corneal sensitivity in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(7):2341-2345