

绝经后干眼症妇女泪液与血清雌激素质量浓度的分析

卞 茹 鲁建华 张文芳

The analysis of estradiol content in tear and serum of postmenopausal women

Bian Ru, Lu Jianhua, Zhang Wenfang. Department of Ophthalmology, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract Objective That decline of estradiol in serum of postmenopausal women can result in dry eye has been accepted at present. However, the change of estradiol in tear of postmenopausal women has been not reported ever. This study was to discuss the relationship between dry eye syndrome and estradiol in tears and serum of postmenopausal women. **Methods** Total 62 eyes of 62 women were collected in this trial. The aim of this trial was informed orally and the informed consent was obtained from all the subjects. The 32 right eyes were from menopausal women for more one year and 30 right eyes were from premenopause women. The dry eye was diagnosed based on the abnormalities of tear break-up time (BUT), Schirmer I test, corneal fluorescence and subjective symptom of patients. The periphery blood specimen was collected from all the subjects, and tear specimen was obtained and quantified using filter paper. Estradiol contents in tears and serum were determined by chemiluminescence method. The bulbar conjunctiva was obtained by impression cytology, and the microstructure of conjunctiva was observed under the scanning electron microscopy. **Results** In comparison to the premenopause group, the content of estradiol in tears and serum in menopause group was significantly reduced (73.50 ± 24.47 vs 17.43 ± 10.92) ($U = -6.396, P = 0.001$). In the premenopause group, the estradiol content between tear and serum showed the positive correlation ($r = 0.838, P = 0.001$). However, no statistical correlation was found in estradiol content between tears and serum in menopause group ($r = 0.127, P = 0.487$). The microstructure changes were seen in the dry eyes of postmenopausal women, and decrease of goblet cell and loosen of intercellular junction were found under the electron microscope. **Conclusion** The content of estradiol in tears in menopause group is significantly lower than that in the premenopause group. Estradiol content in tears and serum of the postmenopausal women shows insignificant correlation. This result indicates that the topical substitute therapy with estradiol is possible in dry eye.

Key words dry eye syndrome; postmenopausal; tears; estradiol

摘要 目的 测定绝经后干眼症妇女泪液与血清中雌二醇的质量浓度,探讨与干眼症发病的关系。**方法** 取绝经后干眼症 32 例,正常对照 30 例,均检测右眼。用化学发光法测定绝经后干眼症患者泪液和血清中的雌二醇的质量浓度,所得数据用非参数检验的 Mann-Whitney 检验和 Spearman 秩相关分析。采用印迹细胞学法取得被测定者的球结膜上皮细胞,用扫描电镜观察眼表的超微结构变化。**结果** 绝经后干眼症组泪液和血清的雌二醇质量浓度较正常对照组差异均有统计学意义($P = 0.001$)。正常对照组泪液与血清中的雌二醇质量浓度呈正相关。绝经后干眼症组泪液与血清中的雌二醇质量浓度无明显相关。绝经后干眼症患者眼表出现明显的病理变化。**结论** 绝经后干眼症患者泪液中雌二醇质量浓度较正常对照组明显降低。血清和泪液中的雌二醇质量浓度在绝经前存在正相关性,而绝经后二者无相关性。

关键词 干眼症; 绝经; 泪液; 雌二醇

分类号 R 777 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)11-1031-04

干眼症是眼科常见病,多见于绝经期后女性^[1]。绝经期后女性体内性激素水平的异常可能是导致此类干眼的重要因素。目前对性激素水平变化导致干眼的

机制已经进行了大量研究,但性激素水平异常导致干眼的研究均是基于血清中性激素变化而言的,缺乏局部泪液中性激素水平变化的相关研究,至今国内外尚未见报道。本研究分别对绝经后干眼症患者和未绝经且眼表正常者泪液中雌二醇质量浓度进行检测,观察

局部雌激素水平变化对眼表组织的影响,探讨泪液中雌激素水平变化与干眼症发病的关系,并为绝经后干眼症患者的局部雌激素替代疗法提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 一般资料 绝经后干眼症组患者均来自兰州大学第二医院眼科门诊病例,其中干眼症组 32 例(32 眼);年龄 45 ~ 75 岁,平均(58.45 ± 7.78)岁;正常对照组来自本科医护人员和部分在校研究生 30 例(30 眼);年龄 27 ~ 34 岁,平均(27.40 ± 6.60)岁。2 组均取右眼进行试验。受检者均被事先告知试验目的,获得理解和同意。

1.1.2 绝经后干眼症组 纳入标准:绝经 1 年以上,血清雌激素水平下降,促性腺激素水平升高;无性激素替代治疗史;无雌激素依赖性疾病史,如乳腺癌、子宫内膜癌、宫颈癌、较大子宫肌瘤等^[2];有干眼症状且干眼相关检查阳性,未发现其他明显的眼表疾病,如翼状胬肉等。排除标准:近 3 个月内眼部有活动性病变者;3 个月内佩戴角膜接触镜者;6 个月内施行内眼或外眼手术者;长期使用视频终端者;长期点用含防腐剂滴眼液、糖皮质激素或抗青光眼滴眼液者;糖尿病患者。干眼诊断标准:泪膜破裂时间(break-up time, BUT) < 10 s, Schirmer I 试验(Schirmer I test, S I) < 10 mm 或一项强阳性(BUT ≤ 5 s 或 S I ≤ 5 mm)^[3],角膜荧光素染色(fluorescence, FL) (+) 及患者有眼部干涩、红、痒、刺痛、异物感等症状。

1.1.3 正常对照组 诊断标准:ST > 20 mm, BUT > 10 s, FL(-), 无眼部刺激症状,裂隙灯下检查眼表无异常发现^[4]。

1.1.4 主要试剂及仪器 中速定量分析滤纸(孔径为 0.22 μm, 杭州特种纸业有限公司);醋酸纤维素滤膜(德国 Sartorius 公司);IMMULITE1000 雌二醇试剂盒、Estradiol 样本稀释液、IMMULITE 全自动化学发光免疫分析仪(美国德普公司);6380LV 扫描电子显微镜(日本 JSM 公司)。

1.2 方法

1.2.1 血清及泪液雌二醇质量浓度的测定 取静脉血 2 mL, 化学发光法测定血清雌二醇。根据金树林等^[5]的报道计算出厚度为 0.1 mm、面积 11 mm × 5 mm 定量分析滤纸片相当于吸附 10 μL 泪液。将滤纸片置于右眼结膜囊内,轻闭双眼,待滤纸片完全湿透后取出,连续浸透 4 张滤纸,合计为 40 μL 泪液。置于无菌试管中密封,置液氮中冻存待检。测定前从液氮中取

出试管,常温解冻,向管中加入 240 μL 雌二醇样本稀释液,混匀器震荡 15 min,使滤纸上的泪液完全洗脱。液体总量为 280 μL,全自动化学发光免疫分析仪采用固相竞争法、化学发光酶免疫检测样本中雌二醇的质量浓度。

1.2.2 扫描电镜观察 1% 丁卡因滴眼液表面麻醉 3 min,滤纸吸去结膜囊泪液,嘱被检者尽量向鼻侧注视,将孔径为 0.22 μm 的醋酸纤维素滤膜剪成 5 mm × 5 mm × 7 mm 的直角梯形,直角边面向角膜缘,将滤膜粗糙面贴于颞侧距角膜缘外 1 mm 处的球结膜上,圆头玻棒轻轻加压,3 ~ 5 s 后小心从尖端剥离^[6],印迹细胞学方法获得球结膜上皮细胞,立即用 PBS 液冲洗,置于 2.5% 戊二醛中前固定,漂洗,1% 四氧化锇后固定,梯度乙醇脱水,临界点干燥,喷金,扫描电镜观察^[7]。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 10.0 统计学软件进行统计学处理。实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。绝经后干眼症组和正常对照组间泪液和血清中雌二醇质量浓度的比较采用 Mann-Whitney 检验。泪液中和血清中雌二醇质量浓度的相关关系的检验采用 Spearman 秩相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组泪液雌二醇质量浓度

绝经后干眼症组泪液雌二醇质量浓度较正常对照组降低,差异有统计学意义($P < 0.05$) (表 1)。

表 1 正常对照组和绝经后干眼症组泪液雌二醇的质量浓度($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

Table 1 The estradiol contents in tears of premenopausal group and menopause group($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

Group	n	Estradiol	
		Tear	Serum
Premenopause	30	73.50 ± 24.47	232.90 ± 118.32
Menopause	32	17.43 ± 10.92	68.62 ± 21.57
U		-6.396	15.000
P		0.001	0.000

(Mann-Whitney test)

2.2 2 组血清和泪液中雌二醇质量浓度的关系

正常对照组血清雌二醇与泪液雌二醇呈正相关($r_s = 0.838, P = 0.001$),认为泪液中雌二醇可随着血清中雌二醇质量浓度的波动而波动(图 1)。绝经后干眼症组血清雌二醇与泪液雌二醇无相关关系($r_s = 0.127, P = 0.487$),认为泪液中雌二醇不会随血清中雌二醇质量浓度的波动而发生相应波动(图 2)。

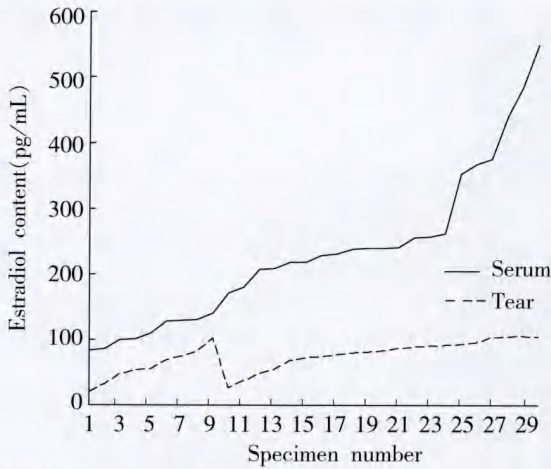


图 1 正常对照组血清和泪液中雌二醇质量浓度的关系
Fig. 1 The relationship of the estradiol contents between tear and serum in premenopause group ($r=0.838, P=0.001$)

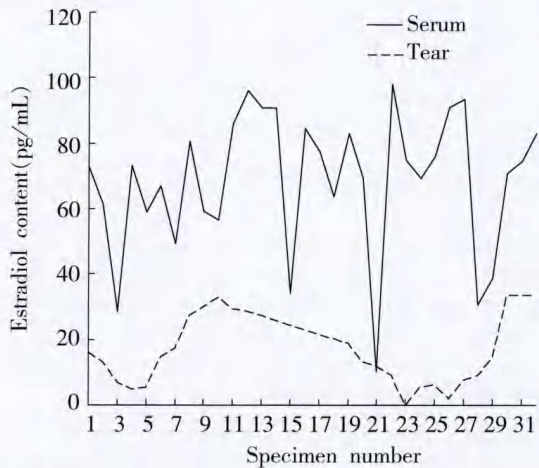


图 2 绝经后干眼症组血清和泪液中雌二醇质量浓度的关系
Fig. 2 The relationship of the estradiol contents between tear and serum in postmenopause group ($r=0.127, P=0.487$)

2.3 扫描电镜观察结果

正常对照组结膜上皮细胞小而圆,形态规则(图 3),上皮细胞间连接紧密,连接小体密集,表面微绒毛丰富,微绒毛粗而长,分泌功能旺盛,表面黏液颗粒丰富(图 4)。杯状细胞分散位于上皮细胞间,其顶端开口于球结膜上皮细胞面,分泌黏液旺盛,以其顶端为支点黏液形成片状,并以黏液丝彼此连接(图 3)。绝经组杯状细胞不易见或阙如(图 5),结膜上皮细胞体积大而扁平,形态不规则,呈多角形,细胞间连接疏松,部分上皮细胞脱落(图 5),连接小体减少,表面微绒毛减少,微绒毛短小,分泌功能差,散在黏液颗粒(图 6)。

3 讨论

干眼是指任何原因引起的泪液质或量及动力学的

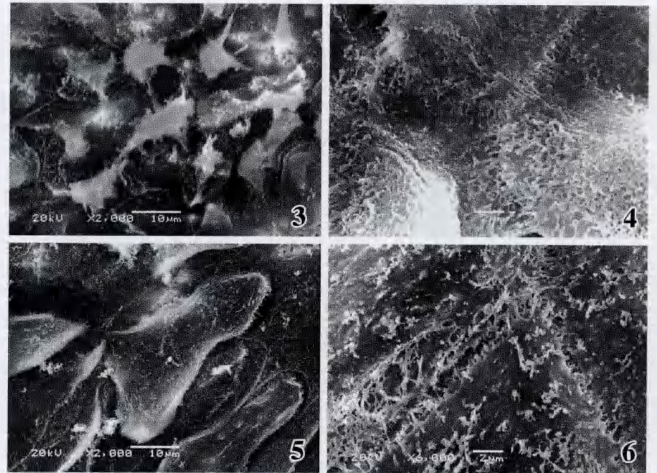


图 3 正常对照组球结膜上皮细胞及杯状细胞 图 4 正常对照组球结膜上皮细胞表面微结构 图 5 绝经后干眼症组球结膜上皮细胞 图 6 绝经后干眼症组球结膜上皮细胞表面微结构

Fig. 3 In unmenopausal group, the conjunctival epithelial cells present small, round, regular shape and closely arrangement. The scatter goblet cells among the conjunctival epithelium cells open directly toward the conjunctival surface, and mucous secretion is vigorous Fig. 4 In unmenopausal group, the conjunctival epithelial cells have many microvillus, slender apophysis and intercellular connection. Many mucous granules are seen on the surface Fig. 5 In menopausal group, the conjunctival epithelial cells are big with the flat and irregular shape. The intercellular connection become loose. Goblet cell is rare Fig. 6 In menopausal group, the microvillus on conjunctival epithelial cells reduce and shorten and show losing intercellular junction. A few mucous granules are seen on the surface of cells

异常,导致泪膜不稳定和(或)眼表面的异常,并伴有眼部不适症状的一类疾病。近年来多项调查结果均显示随着年龄的增长,干眼的发病率呈明显的上升趋势,其中女性更明显^[1]。目前对干眼症的治疗多为频繁点用人工泪液或保存患者本身的泪液,只能暂时改善症状,长期效果不理想。

干眼症的发病机制十分复杂,近年来研究表明基于免疫的炎症反应是各种类型干眼症发病的共同机制,而性激素水平的异常可能是导致此炎症反应发生的重要因素。眼部是性激素作用的靶器官,泪腺、睑板腺、角膜上皮、球结膜和穹隆部结膜发现有雄激素受体^[8]。而雌激素受体存在于结膜、角膜和睑板腺中已得到证实^[9]。雄激素对泪膜作用机制研究已十分充分,并部分得到公认^[10]。雌激素具有调节淋巴细胞生长、分化、增生、抗原表达、细胞因子生成及抗体生成和细胞凋亡的作用^[11],并可通过减少雄激素的利用而间接起作用^[12]。但雌激素与泪膜相互作用的机制仍不十分清楚。

迄今为止关于性激素与泪膜关系的临床及实验研究均是基于血液中的循环性激素水平变化而言的,缺

乏局部泪液中性激素水平变化的依据。20 世纪 70 年代已确立的泪液成分有蛋白质、酶、脂质、代谢产物、电解质等,其中上皮生长因子、转化生长因子-β 和碱性成纤维细胞生长因子较为重要,雄激素、雌性激素均可由泪腺产生,泪腺均存在其受体。

本研究采用化学发光法提高了对泪液中极为微量雌激素的检出率和准确率。绝经后干眼症组有 1 例泪液雌二醇测定值为 0,考虑可能实际值即为 0,或实际值低于检测下限以致无法检出所致。

泪腺作为循环中雌激素作用的靶器官可受到血液中雌激素的影响,同时它又是泪液中雌激素的来源。绝经前卵巢功能正常,血清雌激素稳定于高水平,泪腺组织功能亦正常,其产生局部雌激素的功能稳定,故泪液中雌激素稳定于较高水平。而绝经后卵巢功能衰竭,血清雌二醇水平普遍降低,绝经时间越长,卵巢衰竭程度愈明显,血清雌二醇质量浓度越低。由于观察对象的绝经时间不一,卵巢衰竭程度不同,其产生雌二醇的功能受到影响,故血清雌二醇质量浓度变化无规律。绝经后由于泪腺组织的免疫炎症反应,故泪液中雌二醇质量浓度更低。这与一些临床报道随着绝经时间延长,干眼症状越明显是一致的^[13]。

鉴于绝经期后女性干眼症发病率的提高,许多人接受全身激素替代疗法(hormone replacement therapy, HRT)^[14]。HRT 不仅可改善绝经后干眼症状,而且能降低眼压、延缓白内障的形成和发展,并可减少年龄相关性黄斑变性的发生。Schaumberg 等^[15]的结论则与之相反,他们观察到随着 HRT 应用时间的延长和剂量的增加,干眼症的发生率和严重程度均提高。

本研究认为,绝经后泪液雌激素不会随循环血液中雌激素的波动而波动,故认为可尝试增加局部泪液中雌激素的质量浓度来治疗绝经后干眼,其效果在理论上应该优于 HRT。Sator 等^[16]指出只有局部应用雌激素才能有效地治疗干眼症,全身用药由于血-眼屏障的作用而影响了疗效,这种观点与本研究结果是一

致的。这为局部雌激素替代疗法治疗绝经后干眼提供了理论依据。

参考文献

- 1 Moss SE, Klein R, Klein BE. Incidence of dry eye in an older population [J]. Arch Ophthalmol, 2004, 122(3): 369 - 373
- 2 肖秀林. 激素替代疗法在更年期妇女干眼症的应用[J]. 中国实用眼科杂志, 2006, 24(3): 329 - 330
- 3 张梅. 干眼症诊断[J]. 中国实用眼科杂志, 2000, 18(11): 664 - 668
- 4 罗丽辉, 刘祖国, 林建贤. 干眼患者结膜上皮细胞的凋亡与炎症[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志, 2004, 4(2): 75 - 77
- 5 金树林, 李林, 张莉, 等. 放射状角膜切开手术前后血清、泪液 h-EGF 的改变[J]. 中国实用眼科杂志, 1995, 13(4): 209 - 210
- 6 Calonge M, Diebold Y, Sáez V, et al. Impression cytology of the ocular surface[J]. Exp Eye Res, 2004, 78(3): 457 - 472
- 7 李丹, 刘兵, 林建军, 等. 丝裂霉素 C 辅助青光眼镜过手术的电镜观察[J]. 眼科研究, 2003, 21(4): 374 - 376
- 8 Krenzer KL, Dana MR, Ullman MD, et al. Effect of androgen deficiency on the human meibomian gland and ocular surface[J]. Clin Endocrinol Metab, 2000, 85(12): 4874 - 4882
- 9 Fuchsjäger-Mayrl G, Nepp J, Schneeberger C, et al. Identification of estrogen and progesterone receptor mRNA expression in the conjunctiva of premenopausal women [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002, 43(9): 2841 - 2844
- 10 譙雁彬. 性激素与干眼症[J]. 中国实用眼科杂志, 2003, 21(10): 727 - 730
- 11 McMurray RW. Estrogen, prolactin and autoimmunity: Actions and interactions[J]. Int Immunopharm, 2001, 1(6): 995 - 1008
- 12 张荣富, 丁杰峰, 屠凤娟. 绝经期女性的四种激素检测分析[J]. 放射免疫学杂志, 2003, 16(4): 232 - 233
- 13 张梅, 陈家祺, 刘祖国. 干眼症的眼表改变及发病机制的研究进展[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志, 2002, 2(4): 252 - 255
- 14 Pelit A, Bagis T, Kayaselcuk F, et al. Tear function tests and conjunctival impression cytology before and after hormone replacement therapy in postmenopausal women [J]. Eur J Ophthalmol, 2003, 13(4): 337 - 342
- 15 Schaumberg DA, Buring JE, Sullivan MR, et al. Hormone replacement therapy and dry eye syndrome [J]. JAMA, 2001, 286(17): 2114 - 2119
- 16 Sator MO, Joura EA, Golaszewski T, et al. Treatment of menopausal keratoconjunctivitis sicca with topical oestradiol [J]. Br J Obstet Gynaecol, 1998, 105(1): 100 - 102

(收稿:2009-01-20 修回:2009-08-18)

(本文编辑:尹卫靖)

读者·作者·编者

本刊对统计学符号的要求

统计学符号参照 GB3358-82《统计学名词及符号》的有关规定书写,例如:(1)样本的算术平均数用英文小写 \bar{x} 表示,不用 X 及 Mean 或 M(中位数仍用 M);(2)标准差用英文小写 s,不用 SD;(3)标准误用英文小写 $s\bar{x}$,不用 SE 及 SEM;(4)t 检验用英文小写 t;(5)F 检验用英文大写 F;(6)卡方检验用希腊文小写 χ^2 ;(7)相关系数用英文小写 r;(8)自由度用希腊文小写 ν (纽);(9)样本数用英文小写 n;(10)概率用英文大写 P(P 值前应给出统计量值,如 t 值, χ^2 值, q 值等)。以上符号均用斜体。

(本刊编辑部)