



## การพัฒนากระบวนการผลิตยาหยอดตาซีรัมสำหรับผู้ป่วยโรคผิวเยื่อตา Development of Autologous Serum Eyes Drops Preparing Processes for Patients with Ocular Surface Disease

ณิชชา ไพรัตน์<sup>1,\*</sup>, วิมลวรรณ ตั้งปกาศิต จูวัฒน์สำราญ<sup>2</sup>, ปราโมทย์ ศรีวานิชรักษ์<sup>3</sup>,  
กฤษฎา ศิริสภากรณ์<sup>4</sup>

<sup>1</sup>งานธนาคารเลือด ฝ่ายสหเวชศาสตร์ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ปทุมธานี 12120

<sup>2</sup>หน่วยจักษุวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี 12120

<sup>3</sup>ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี 12120

<sup>4</sup>งานห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ ฝ่ายสหเวชศาสตร์ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ปทุมธานี 12120

Nichcha Paratana<sup>1,\*</sup>, Wimolwan Tangpagasit Juwatanasumran<sup>2</sup>,  
Pramote Sriwanitchrak<sup>3</sup>, Kridsada Sirisabhabhorn<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bloodbank Department, Allied Health Sciences, Thammasat University Hospital, Pathum Thani 12120

<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Thammasat University, Pathum Thani 12120

<sup>3</sup>Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University,  
Pathum Thani 12120

<sup>4</sup>Medical Technology Laboratory, Thammasat University Hospital, Pathum Thani 12120

Received 1 May 2023; Received in revised 8 September 2023; Accepted 18 October 2023

### บทคัดย่อ

ขั้นตอนที่สำคัญในกระบวนการผลิตยาหยอดตาซีรัมจากน้ำเหลือง (Autologous Blood Serum Eye Drops; ASED) คือ ขั้นตอนที่ต้องนำเลือดที่เจาะเก็บตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน (Incubation process) 2 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปปั่นแยกน้ำเหลือง (Centrifugation process) ด้วยความเร็ว 4,200 rpm เป็นเวลา 15 นาที งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลัก 2 ข้อ คือ (1) เพื่อลดระยะเวลาในกระบวนการผลิตยาหยอดตาซีรัม (ASED) สำหรับผู้ป่วยโรคผิวเยื่อตา และ (2) เพื่อศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติของค่า pH และค่า Osmolality ของ ASED ในกระบวนการผลิตตามแบบมาตรฐานเดิม และกระบวนการผลิตใหม่ที่พัฒนาขึ้น โดยงานวิจัยนี้เป็นการวิจัยแบบ Quasi-experimental study (manipulation and control only, without randomization) ในการวิเคราะห์ข้อมูล ใช้สถิติในการวิเคราะห์ความน่าเชื่อถือ ANOVA ร่วมกับใช้สถิติ Kruskal-Wallis Test ในการเปรียบเทียบค่า pH และ Osmolality และใช้กราฟ Bland-Altman Plot เพื่อแสดงความสอดคล้องของค่า pH และ Osmolality

\*ผู้รับผิดชอบบทความ: dr.nichcha.p@gmail.com

doi: 10.14456/tstj.2023.70

จากกระบวนการที่พัฒนาขึ้นใหม่ที่ลดเวลาการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเหลือ 30 นาที และลดเวลาการปั่นแยกน้ำเหลืองเหลือ 5 นาที ผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง ASED พบว่า ค่า pH และ ค่า Osmolality เปรียบเทียบกับกระบวนการผลิตเดิมที่ใช้วิธีมาตรฐานนั้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า pH อยู่ในช่วง 7.5-7.7 และ ค่า Osmolality อยู่ในช่วง 289-296 mmol/L จึงสามารถสรุปได้ว่ากระบวนการผลิตที่พัฒนาขึ้นใหม่นั้นสามารถนำไปใช้ในการผลิต ASED ที่มีมาตรฐานไม่ต่างจากเดิมและสามารถนำไปใช้งานได้จริง ลดระยะเวลาการรอคอยจากเดิม 4 ชม. เหลือเพียง 1.30 ชม. ส่งผลให้ผู้ป่วยสามารถนำผลิตภัณฑ์ ASED กลับไปใช้ที่บ้านได้รวดเร็วขึ้น

**คำสำคัญ:** กระบวนการผลิตยาหยอดตาซีรัม; ASED; การตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน; การปั่นแยกน้ำเหลือง; pH; Osmolality

### Abstract

The formal processes for producing autologous blood serum eye drops (ASED) include a 2-hour incubation time and a 15-minute centrifugal time. Therefore, the main objectives of this Quasi-experimental study (manipulation and control only, without randomization) are (1) to reduce the processing time of the standard procedures of preparing the autologous serum eye drops, and (2) to compare the biochemical properties (pH and osmolality) of ASED from the developed processes with those of the standard one. After establishing the developed processes with a 0.5-hour incubation time and a 5-minute centrifugal time and observing the experimental data, the ANOVA statistic method, Kruskal-Wallis Test, and Bland-Altman Plot, were used to analyze the data.

The experimental results show that the pH and osmolality values of ASED from the developed processes and those of the standard procedure are similar, and the insignificant differences are acceptable. The pH and osmolality are 7.5-7.7 and 289-296 mmol/L, respectively, which are in the standard range. Therefore, it can be concluded that the developed processes can be implemented, resulting in a reduction of waiting time from 4 hours to 1.5 hours and allowing patients to receive autologous serum eye drops faster than the previous procedures.

**Keywords:** Autologous serum eye drop; ASED; Incubation process; Centrifugation process; pH; Osmolality

## 1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ยาหยอดตาซีรัมที่ผลิตได้จากน้ำเหลืองของผู้ป่วย (ASED) เพื่อใช้รักษาโรคผิวเยื่อตาที่มีอาการตาแห้งนั้น มีการศึกษาพบว่า คุณสมบัติของ ASED ที่ถูกผลิตได้นั้น มีคุณสมบัติทางชีวเคมีที่มีความใกล้เคียงกับน้ำตาธรรมชาติ [1] และมีองค์ประกอบตามธรรมชาติหลายชนิดที่มีฤทธิ์ปกป้องผิวเยื่อตาและรักษาการขาดน้ำจากการอักเสบที่ผิวเยื่อตา ได้แก่ โพรตีน สารอาหารที่เป็นปัจจัยในการเจริญเติบโตของเซลล์ (Growth factor) วิตามินเอ [2,3] และสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของไซโตไคน์ที่เหนี่ยวนำส่งผลให้เกิดกระบวนการอักเสบซึ่งพบตามธรรมชาติในน้ำตา [4] โดยการศึกษาทางคลินิกพบว่าประสิทธิภาพของยาหยอดตาที่ได้จากการเตรียมจากน้ำเหลืองของผู้ป่วยเองนั้นสามารถลดการอักเสบที่ผิวเยื่อตาของผู้ป่วยตาแห้งได้เป็นอย่างดี รวมถึงโรคตาแห้งชนิดรุนแรง (Severe dry eyes) ที่ใช้ยาชนิดอื่นแล้วไม่ได้ผล ในปัจจุบันมีการศึกษาทางคลินิกประเมินประสิทธิภาพในการรักษาและความปลอดภัยของการใช้ ASED ของผู้ป่วยในการรักษาโรคระยะยาว [5]

โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ มีการบริการเตรียมผลิตภัณฑ์ ASED ตามคำสั่งจักษุแพทย์ โดยการเจาะเก็บโลหิตอย่างมีมาตรฐานปราศจากเชื้อ จากนั้นผู้ป่วยต้องรอการผลิต ASED เป็นระยะเวลาประมาณ 4 ชั่วโมง ซึ่งทำให้ผู้ป่วยต้องเสียเวลารอนาน จากปัญหาดังกล่าว ผู้วิจัยได้นำแนวคิด Lean มาประยุกต์ใช้ เพื่อลดเวลาการผลิต โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติของ ASED ส่งผลให้ผู้ป่วยได้นำกลับไปใช้เร็วขึ้น

## 2. ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

โรคผิวเยื่อตา (ocular surface disease; OSD) เป็นกลุ่มโรคหนึ่งที่มีผลต่อเนื้อเยื่อในส่วนผิวหน้าของลูกตา ซึ่งพบบ่อยในทางคลินิกและถือเป็นหนึ่งในปัญหาที่นำผู้ป่วยมาพบแพทย์มากที่สุด สาเหตุโดยรวมของโรคนี้เกิดจากภาวะใดๆ ก็ตามที่มีผลต่อความเสถียรและ

การทำงานของน้ำตา ภาวะตาแห้ง เปลือกตาอักเสบ กระจกตาอักเสบ การทำงานของต่อมไขมันที่เปลือกตาผิดปกติ รวมถึงสารกันเสียที่อยู่ในยาหยอดตาที่ใช้เพื่อการรักษา ผู้ป่วยมักมาด้วยอาการไม่สบายตา คันตา ตาแห้งตาแดง แสบร้อนที่ตา รู้สึกเหมือนมีสิ่งแปลกปลอมในตา การมองเห็นแย่ง การอ่านหนังสือหรือทำงานในระยะใกล้ลำบาก

การรักษาที่เหมาะสมได้แก่ Systemic choline agonists, Systemic anti-inflammatory agents, หยอด mucolytic, Autologous serum Platelet Rich Plasma, ใช้เลนส์สัมผัส, แก้ไขเปลือกตาที่ผิดปกติ, อุดท่อน้ำตาแบบถาวร โดยที่มีการประเมินติดตามผล กล่าวคือ ประเมินการรักษาและปรับตามความจำเป็น ตรวจสอบสภาพผิวตา และสร้างความมั่นใจให้กับผู้ป่วย ซึ่งระยะเวลาการติดตามขึ้นกับความรุนแรงของโรค การรักษาและการตอบสนองของผู้ป่วย ประกอบด้วย การให้ความรู้แก่ผู้ป่วยเป็นปัจจัยสำคัญต่อความสำเร็จของการรักษา รวมถึงแจ้งผู้ป่วยโรคตาแห้งให้พึงระวังการผ่าตัดแก้ไขสายตาระยะยาวโดยเฉพาะ LASIK จะส่งผลให้เกิดภาวะตาแห้ง [7]

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาประสิทธิภาพของ ASED ในกลุ่มผู้ป่วยตาแห้งชนิดรุนแรงโดยใช้อัตราส่วนร้อยละ 20 พบว่ามีประสิทธิภาพมากกว่าน้ำตาเทียมที่จำหน่ายทั่วไป [8] คล้ายคลึงกับการศึกษาประสิทธิภาพของ ASED เพื่อรักษา Sjogren syndrome ที่มีอาการตาแห้งพบว่า ในระยะยาวมีประสิทธิภาพดีและเป็นการรักษาที่ปลอดภัยเป็นอย่างมาก [9] ยังมีการศึกษาในกลุ่มโรคตาแห้งโดยใช้ข้อมูลย้อนหลัง 5 ปี ก่อนและหลังการใช้ ASED พบว่ามีประสิทธิภาพในการรักษากลุ่มผู้ป่วยตาแห้งได้เป็นอย่างดี แต่มีข้อควรระวังคือ การปนเปื้อนของขวดบรรจุอาจมีความเสี่ยงในการติดเชื้อ [10]

### 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สำหรับวรรณกรรมที่มุ่งเน้นในงานวิจัยนี้พบว่า การเพิ่มขึ้นของค่า Tear Osmolality เป็นสาเหตุหนึ่ง ที่ส่งผลต่อการทำลายและการอักเสบในกลุ่มผู้ป่วย โดยมี

การทดสอบหาค่า Osmolality ในพิสัยที่กำหนด การรักษาโรคผิวเยื่อตา อาการตาแห้งมีความมุ่งหมายทางคลินิกคือ การผลิต ASED ที่มีความเข้มข้นน้อยกว่าสารละลายภายในเซลล์ หรือการเกิด Hypotonic artificial tear [11] สรุปได้ว่าการหยอดตาแบบ Hypotonic และ Isotonic เปรียบเทียบกันแล้วดีกว่ามากในการรักษาเกี่ยวกับผู้ป่วยกลุ่มอาการตาแห้งมีอาการดีขึ้น [12] และการศึกษาการหยอดตาโดยใช้ Sodium hyaluronate ที่มีความแตกต่างของค่า Osmolality ในการรักษาอาการตาแห้งในผู้ป่วยโรคเกอโรซินโดรม พบว่า เมื่อหยอดตาด้วย Sodium hyaluronate มีสภาพเป็น Hypotonic จะมีผลที่ติดต่อ corneoconjunctival epithelium สภาวะ isotonic [13] (Figure 2.1 and 2.2)

สำหรับการเตรียม ASED ที่มีมาตรฐานสำหรับการรักษาโรคผิวเยื่อตาและอาการตาแห้งนั้น มีขั้นตอนหลักๆ คือ 1. การตกตะกอนของเลือด (Incubation process) และ 2. การปั่นแยกส่วนประกอบโลหิต (Centrifugation process)

ในขั้นตอนการตกตะกอนของเลือดนั้นมีการศึกษาระยะเวลาในการตกตะกอนอยู่หลายงานวิจัยโดยศึกษาในช่วงเวลาดังแต่ 30 นาที 90 นาที ถึง 72 ชั่วโมง [14-17] ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ายิ่งใช้เวลาในการ

ตกตะกอนนานขึ้น เช่น 48 ชั่วโมง ที่ 4 องศาเซลเซียส ก็ยิ่งทำให้ค่าสารที่ช่วยเร่งการเพิ่มจำนวนเซลล์เยื่อผิวจำพวก Epidermal growth factor (EGF), Fibroblast growth factor (FGF) และ Fibronectin มีค่าเพิ่มมากขึ้น แต่สำหรับ Sriwidodo S., 2020 ไม่ได้ให้ความสำคัญกับการตกตะกอนของเลือด กล่าวคือ ได้นำเลือดมาปั่นแยกส่วนเพื่อทำ ASED โดยทันที ทั้งนี้พบว่างานวิจัยหลายงานใช้เวลาในการตกตะกอน 2 ชั่วโมง [18-19] ซึ่งเป็นเวลาที่ใช้ในกระบวนการผลิต ASED ของโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ฯ ในปัจจุบัน

สำหรับขั้นตอนการปั่นแยกส่วนประกอบโลหิต จะทำการแยกน้ำเหลืองและเม็ดเลือดแดงที่แข็งตัวรวมถึงเกล็ดเลือดออกจากกันโดยปราศจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) [20] ระยะเวลาในการปั่นนั้นขึ้นอยู่กับแรง g ในการปั่น มีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการปั่นกับแรง g ในการปั่นอยู่หลายกรณี เช่น ปั่นด้วยแรง 500 g เป็นเวลา 5 นาที [21] ปั่นด้วยแรง 2,200 g เป็นเวลา 10 นาที [17] และ ปั่นด้วยแรง 3,100 g เป็นเวลา 10 นาที [14] เป็นต้น แต่ระยะเวลาที่นิยมใช้ในการปั่นแยกคือ 15 นาที ที่ 3,000 g ซึ่งทำให้เกิดการแยกส่วนของน้ำเหลืองและเม็ดเลือดแดงดีที่สุด กระบวนการผลิต ASED ของงานธนาคารเลือดโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ฯ ในปัจจุบันใช้ระยะเวลาการ

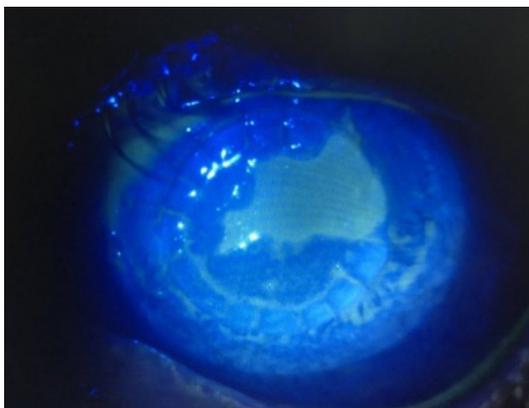


Figure 2.1 Persistent epithelial defect (PED)

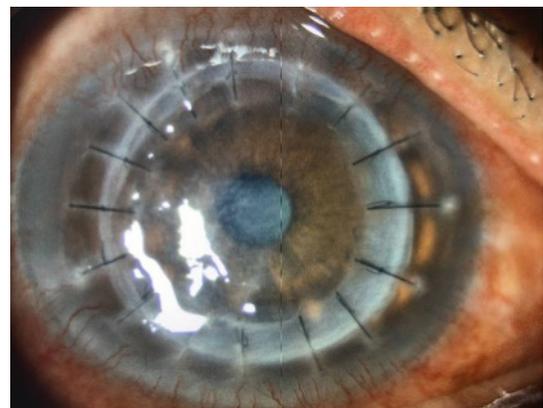


Figure 2.2 Corneal ulcer after using ASED

ปั่น 15 นาที ที่ 3,200 g ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Guilherme G. [22] และ Geerling G. [18]

นอกจากนี้ยังมีการศึกษา ASED ที่ได้มาตรฐาน พบว่ามีการวัดค่าต่างๆ ทางชีวเคมี โดยนำน้ำตาซีรัมกับ น้ำตาทำการวัดค่าที่จำเป็นต่อมาตรฐานที่ยอมรับได้ [18, 23] (Table 1) โดยค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของน้ำตา ซีรัมนั้นจะต้องใกล้เคียงกับน้ำตาธรรมชาติที่มีค่าอยู่ใน ช่วง 7.4±0.3 เพื่อเกิดความสบายตาและไม่ให้เกิดการ ระคายเคืองตาเมื่อหยอดใส่ตา [29, 38] ดังนั้นการตรวจสอบคุณภาพทางชีวเคมีที่เป็นมาตรฐานสำคัญจึงมุ่งเน้น การตรวจสอบ ค่า pH และค่า Osmolality ในผลิตภัณฑ์ ASED ซึ่งต้องมีความเป็น Hypotonic มีช่วงค่าตาม มาตรฐานตามตาราง ถึงแม้ว่าสารทางชีวเคมียังคงมีหลาย ชนิดแต่ทั้ง 2 Parameters นี้ถือเป็นสิ่งสำคัญลำดับแรก

**Table 1** Standard values of pH and osmolality in tear and serum

Parameters	Tear	Serum
pH	7.4±0.3	7.4
Osmolality (mmol/L)	298±10	296

ทั้งนี้ Geerling G. [18] ยังได้พัฒนากระบวนการผลิต ASED ไว้เป็นแบบอย่างที่ใช้กันมาอย่างต่อเนื่อง จนถึงปัจจุบัน (Figure 2.3)

จากการทบทวนวรรณกรรมเพิ่มเติมยังพบว่า นอกจากวิธีมาตรฐานในกระบวนการผลิต ASED แล้ว Bennie H. [24] และ Sabahattin S. [25] ได้เตรียม ผลิตภัณฑ์ โดยหลังจากเจาะเลือดแล้วได้ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง นำไปปั่นแยกที่ 3,000 g เป็นเวลา 10 นาที โดยสามารถ ลดระยะเวลาลดลงจากวิธีมาตรฐาน ในขณะที่งานวิจัย ของ Joanna V.H. [26] มีกระบวนการที่ต่างออกไปคือ ตั้งทิ้งไว้เพียง 30 นาที นำไปปั่นแยก 2,900 g เป็นเวลา 9 นาที ยิ่งไปกว่านั้นยังมีงานวิจัยของ Munira H. [27] ที่ทำการศึกษามลพิษของการใช้ผลิตภัณฑ์ ASED ใน

ระยะยาวโดยการเตรียมผลิตภัณฑ์ ซึ่งตั้งทิ้งไว้เพียง 15 นาทีและนำไปปั่นแยกที่ 14,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที พบว่ามีประสิทธิภาพสูงในการรักษาด้วยเช่นกัน

นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาของ Tananuvat N. [28] เตรียมโดยนำไปปั่นทันทีที่ 4,200 rpm เป็นเวลา 15 นาที ไม่มีการตั้งทิ้งไว้ให้เลือดตกตะกอน แล้วแยกน้ำ เหลืองเจือจางร้อยละ 20 ให้ผู้ป่วยนำกลับไปใช้ 6 ครั้ง ต่อวันโดยไม่ได้ใส่สารกันเสียพบว่า อาการไม่มีสารหล่อ ลื่นในตามีอาการดีขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sriwidodo S. [29] ที่เตรียมโดยปั่นทันทีที่ 4,060 g เป็น เวลา 10 นาที และ Matsumoto Y. [30] ที่ทำการเตรียม โดยปั่นทันทีที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที

อย่างไรก็ตาม ยังมีการศึกษาของ Tsubuta K. [21] เตรียมโดยปั่นแยกน้ำเหลืองทันทีที่ 1,500 rpm เป็น เวลา 5 นาทีเพื่อประเมินผลในการรักษาผู้ป่วยโรคตาแห้ง โดยใช้การเจือจางร้อยละ 20 ในน้ำเกลือ และใช้เป็นเวลา 4 สัปดาห์ในผู้ป่วยโรคผิวเยื่อตาเปรียบเทียบกับก่อนและหลัง การรักษาพบว่าสอดคล้องกับการศึกษาของ Goto E. [31] ซึ่งเตรียมโดยปั่นที่ 1,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที เจือจางร้อยละ 20 สามารถรักษาโรค Superior limbic keratoconjunctivitis ได้เป็นอย่างดี เช่นเดียวกับการ วิจัยของ Del C. [32] ที่ได้ศึกษาผลของผลิตภัณฑ์ ASED ในการรักษาแผลบริเวณกระจกตาโดยที่การเตรียมปั่น แยกทันทีที่ 1,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที พบว่ารักษา ในกลุ่มคนไข้ที่มีการสึกกร่อนของกระจกตาได้มี ประสิทธิภาพดีและปลอดภัย ลดการกลับมาเป็นซ้ำได้ ด้วย

ในขณะที่หลายงานวิจัยจะไม่คำนึงถึงขั้นตอนใน การตั้งทิ้งไว้ Incubating process แต่ก็ยังพบว่าวิธี มาตรฐานเดิมยังมีงานวิจัยที่มีขั้นตอนในการเตรียม ผลิตภัณฑ์ ASED โดยตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมงของ Mirjana A. [33] แล้วปั่นแยกที่ 5,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที คล้ายคลึงกับงานของ Amir A. [34], I-Hsin Ma [35] และ Liu L. [36] ซึ่งตั้งทิ้งไว้เช่นกันแต่แตกต่างกันที่นำ ไปปั่นแยกที่ 3,000 g เป็นเวลา 15 นาที โดยผลการศึกษา

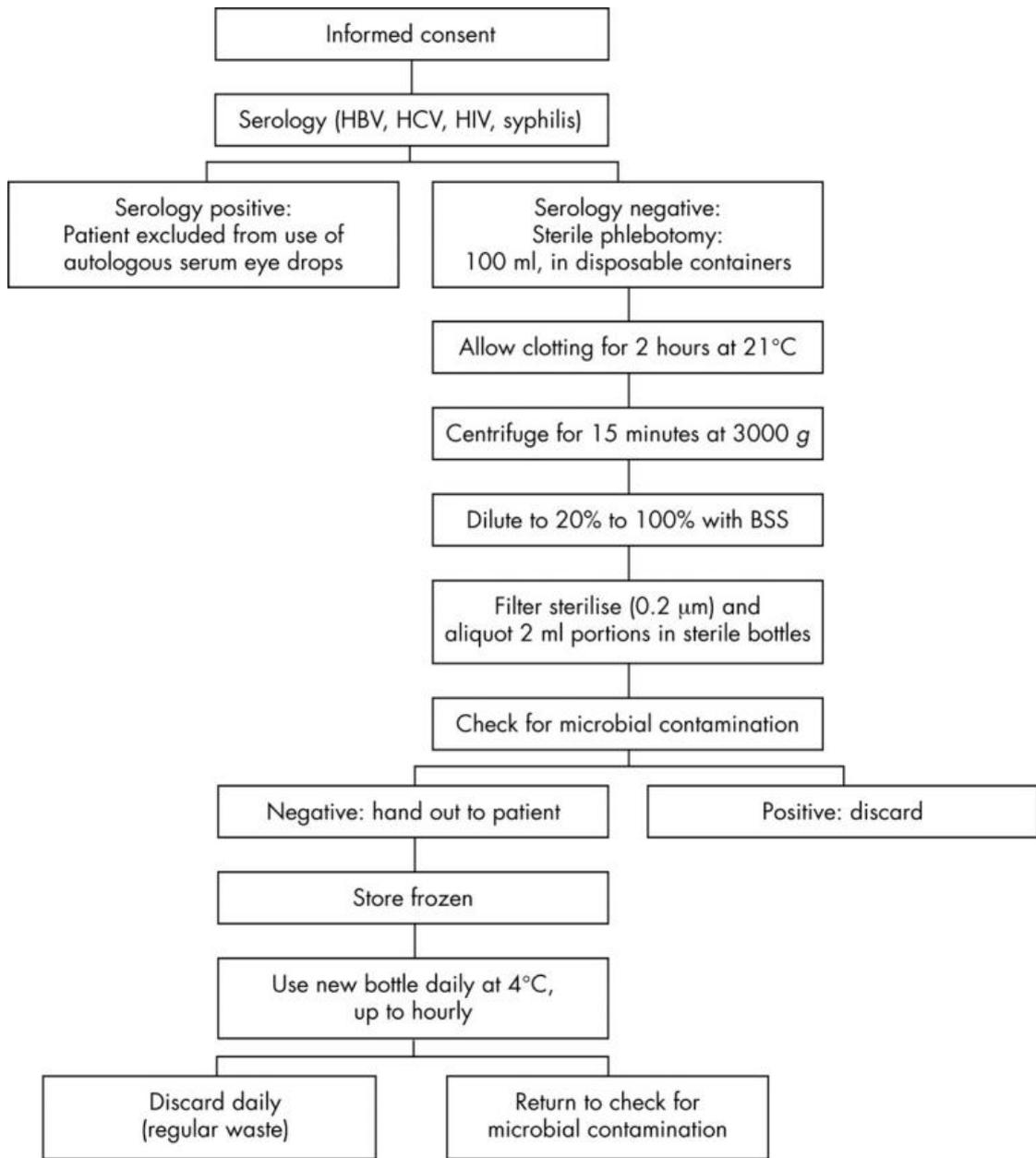


Figure 2.3 Autologous serum eye drops (ASED) production processes

พบว่า การตั้งทิ้งไว้เป็นเวลาหนึ่งส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับความเข้มข้นของ Epitheliotropic factors ในน้ำเหลืองแต่ยังไม่มีการศึกษาวิจัยว่ามากนักเพียงใด

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องจากเหตุผลข้างต้นส่งผลให้งานวิจัยนี้สามารถปรับลดระยะเวลาการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนซึ่งพบว่ายังมีความจำเป็นอยู่จากงานวิจัยที่กล่าวมาแล้วส่วนใหญ่และสามารถปรับลดระยะเวลาในการปั่นแยกลงได้แต่ยังคงต้องมีรอบการปั่นที่สูงให้ได้ปริมาณน้ำเหลืองมาก

### 3. วิธีการดำเนินงานวิจัย

จากกรอบแนวคิดตาม (Figure 3.1) หลังจากผู้ป่วยเข้าพบแพทย์และนำคำสั่งการทำผลิตภัณฑ์ ASED มาเข้ารับบริการเจาะเก็บโลหิตที่งานธนาคารเลือด ผู้วิจัยจะทำการอธิบายรายละเอียดของงานวิจัย ขอความยินยอมจากอาสาสมัครในการเก็บตัวอย่างเลือดเพิ่มอีก 20 มิลลิลิตร ในการทำวิจัย โดยการเจาะครั้งเดียวกับการเจาะเพื่อเตรียมผลิตภัณฑ์ ASED ปกติ ตัวอย่างเลือดที่ได้เจาะเก็บมาเพิ่ม จะถูกแบ่งเป็น 6 หลอด ซึ่งในแต่ละ

หลอดจะถูกแยกไปทดสอบในแต่ละ Protocol ในการวิจัยนี้ได้แบ่งการทดสอบเป็น 3 Protocols คือ

ใน Protocol ที่ 1 นำตัวอย่างที่เจาะเก็บได้ไปวางตั้งไว้ให้ตกตะกอน (Incubation time) 2 ชั่วโมง ใน Biosafety Cabinet แต่จะทำการปรับลดเวลาในการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจาก 2 ชั่วโมง เป็น 1 ชั่วโมง และ 30 นาที แล้วแบ่งตัวอย่างวิจัยโดยทำให้เป็นสัดส่วนการเจือจางร้อยละ 20 ซึ่งเป็นกระบวนการทำผลิตภัณฑ์จริงที่นำไปใช้กับผู้ป่วย หลังจากตั้งทิ้งไว้ ครบเวลาจะนำตัวอย่างไปทำการปั่นที่เป็นมาตรฐานปัจจุบัน (15 นาที) เพื่อวัดค่ามาตรฐาน 2 Parameters ได้แก่ ค่า pH และ Osmolality ทำการบันทึกผล และต้องทำซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง (Duplicate measurement) และทำการบันทึกผล ในตัวอย่างที่จำนวน 30 ตัวอย่าง [37]

Protocol ที่ 2 ผู้วิจัยจะนำตัวอย่างที่เจาะเก็บได้ไปวางตั้งไว้ให้ตกตะกอน (Incubation time) 2 ชั่วโมง ใน Biosafety Cabinet และทำการปรับลดเวลาที่ใช้ใน Centrifugation process จากกระบวนการผลิต ASED ที่ใช้ในปัจจุบัน จาก 15 นาทีเป็น 10 นาที จากนั้นนำ

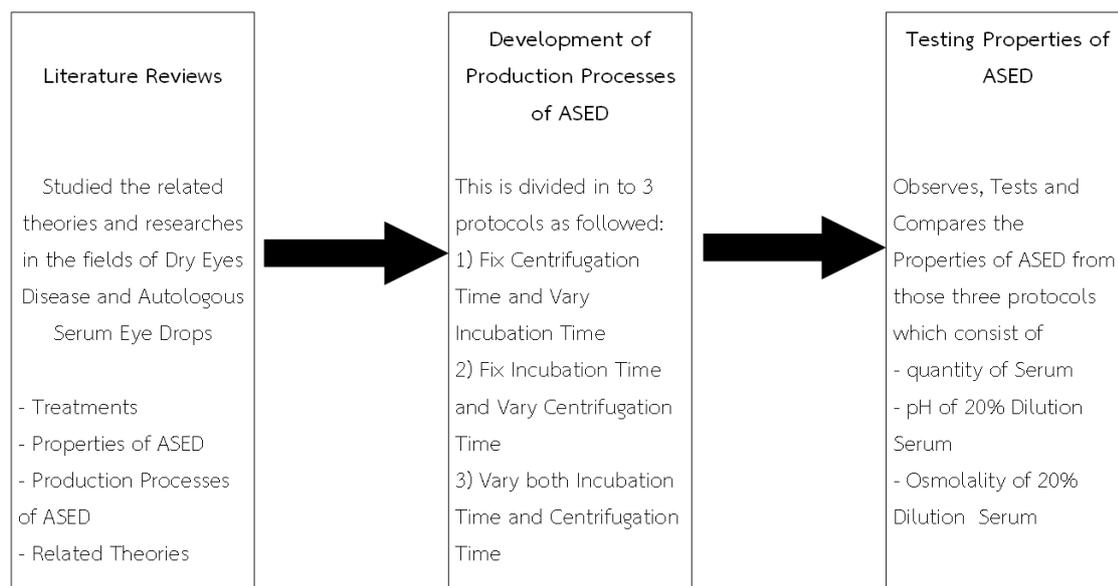


Figure 3.1 Conceptual framework

ตัวอย่างวิจัยไปวัดค่ามาตรฐาน 2 Parameters ได้แก่ ค่า pH และ Osmolality ทำการบันทึกผล ในตัวอย่างจำนวน 30 ตัวอย่าง และต้องทำซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง (Duplicate measurement) และทำการบันทึกผล

Protocol ที่ 3 จากผลการทดสอบของทั้ง Protocol ที่ 1 และ 2 ผู้วิจัยจะทำการดัดแปลงและปรับปรุงวิธีการโดยปรับลดเวลาที่ใช้ใน Incubation process และ Centrifugation process พร้อมกัน จากกระบวนการผลิต ASED ที่ใช้ในปัจจุบัน โดยลดเวลาใน Incubation Process เป็น 30 นาที พร้อมกับลดเวลาใน Centrifugation Process เป็น 5 นาที จากนั้นนำตัวอย่างวิจัยไปวัดค่ามาตรฐาน 2 Parameters ได้แก่ ค่า pH และ Osmolality ทำการบันทึกผล และต้องทำซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง (Duplicate measurement) และทำการบันทึกผล โดยจะทำการเปรียบเทียบคุณสมบัติของค่า pH และ Osmolality ของ ASED ระหว่างตัวอย่างที่ได้จากกระบวนการผลิตตามมาตรฐานกับตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมตามวิธีการใหม่ โดยใช้ตัวอย่างที่เท่ากันกระบวนการละ 60 ตัวอย่าง (เพิ่มการเก็บตัวอย่างจากข้อเสนอโครงการเดิม จำนวน 60 ตัวอย่าง ซึ่งจะทำการแยกตัวอย่างน้ำเหลืองใส่หลอดทดลอง 2 มิลลิลิตร เท่านั้น สำหรับกระบวนการผลิตแบบมาตรฐานเพื่อนำไปใช้ตรวจวิเคราะห์ค่าตาม Parameter เพื่อนำข้อมูลไปเปรียบเทียบกับกระบวนการผลิตวิธีใหม่)

จากนั้นผู้วิจัยจะทำการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติ โดยใน Protocol ที่ 1 และ 2 ใช้สถิติในการวิเคราะห์ที่

มีความน่าเชื่อถือ ANOVA และใช้สถิติ Kruskal-Wallis Test ในการเปรียบเทียบค่า pH และ Osmolality ระหว่างช่วงเวลาที่ต่างกัน และใช้กราฟ Bland-Altman Plot เพื่อแสดงความสอดคล้องของค่า pH และ Osmolality ส่วน Protocol ที่ 3 ทำการทดสอบความแปรปรวนทางเดียว ANOVA ซึ่งจะเป็นการเปรียบเทียบคุณสมบัติของค่า pH และ Osmolality ของ ASED ระหว่างตัวอย่างที่ได้จากกระบวนการผลิตตามมาตรฐาน และตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมตามวิธีการใหม่ แล้วจึงนำมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตยาหยอดตาซีรัมด้วยน้ำเหลืองว่าควรลดเวลาในกระบวนการไหน เป็นระยะเวลาเท่าไร แล้วสามารถลดเวลาที่ใช้ในการผลิตทั้งกระบวนการเป็นเวลาเท่าไร เมื่อได้ผลการประยุกต์ใช้ใน Protocol ที่ได้ปรับปรุงแล้วจะต้องทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ยาหยอดตาซีรัมที่เป็นมาตรฐานเท่าเทียมกัน

#### 4. ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

หลังจากผู้วิจัยได้ดำเนินการเก็บข้อมูลตาม Protocol ที่ 1 2 และ 3 แล้ว ผู้วิจัยได้ใช้สถิติในการวิเคราะห์ความน่าเชื่อถือ ANOVA และใช้สถิติ Kruskal-Wallis Test ในการเปรียบเทียบค่า pH และ Osmolality ระหว่างช่วงเวลาที่ต่างกัน และใช้กราฟ Bland-Altman Plot เพื่อแสดงความสอดคล้องของค่า pH และ Osmolality ซึ่งผลการวิเคราะห์ (Figure 4.1)

Protocol ที่ 1 (P1) เป็นเปรียบเทียบผลของระยะเวลาในการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน (Incubating

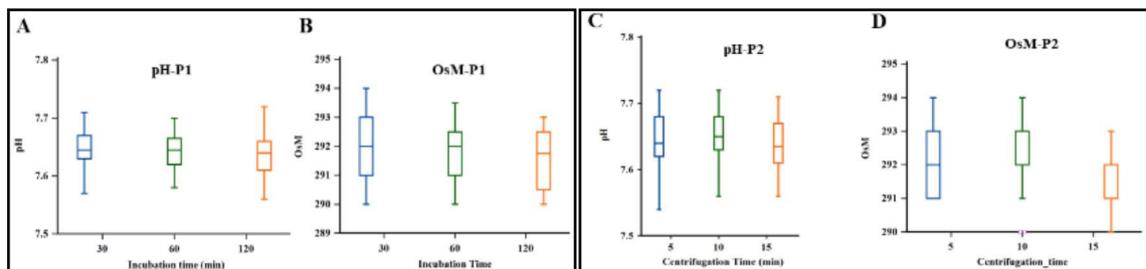


Figure 4.1 The variation of pH and osmolality of (a) Protocol 1 (P1) and (b) Protocol 2 (P2)

time) ที่ 30 นาที 60 นาที และ 120 นาที ต่อค่า pH (Figure 4.1A) และ ค่า Osmolality (Figure 4.1B) จากนั้นปั่นแยกด้วยความเร็ว 4,200 rpm 15 นาที จากข้อมูลทุกช่วงเวลาที่มีการแจกแจงแบบปกติ จึงใช้สถิติ ANOVA ในการเปรียบเทียบค่า pH ระหว่างช่วงเวลาที่ทำการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.928$ ) แต่สำหรับข้อมูลของค่า Osmolality จากระยะเวลาต่างกัน พบว่ามีการแจกแจงไม่ปกติ จึงต้องใช้สถิติ Kruskal-Wallis Test ในการเปรียบเทียบเพิ่มเติม ผลการทดสอบทางสถิติพบว่า ระยะเวลาการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ไม่มีผลต่อค่า Osmolality ( $p=0.376$ ) เช่นกัน

เพื่อทดสอบความสอดคล้องระหว่างค่า pH ในแต่ละช่วงเวลาของการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนพบว่า มีความสอดคล้องกันโดยพบว่าค่าอยู่ในช่วง  $\pm 1.96$  S.D. (Figure 4.2A, 4.2C, 4.2E) และจากการวิเคราะห์ด้วย Mountain plot พบว่าระยะเวลาการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ที่ 60 นาที และ 30 นาทีให้ค่า pH ไม่แตกต่างจากการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ที่ 120 นาที (เวลามาตรฐาน) (Figure 4.2G) เช่นเดียวกับ ความสอดคล้องระหว่างค่า Osmolality ในแต่ละช่วงเวลาของการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน พบว่า มีความสอดคล้องกันโดยพบว่าค่าอยู่ในช่วง  $\pm 1.96$  S.D. (Figure 4.2B, 4.2D, 4.2F) และจากการวิเคราะห์ด้วย Mountain plot พบว่าระยะเวลาการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ที่ 60 นาที และ 30 นาทีให้ค่า Osmolality ไม่แตกต่างจากการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ที่ 120 นาที (Figure 4.2H)

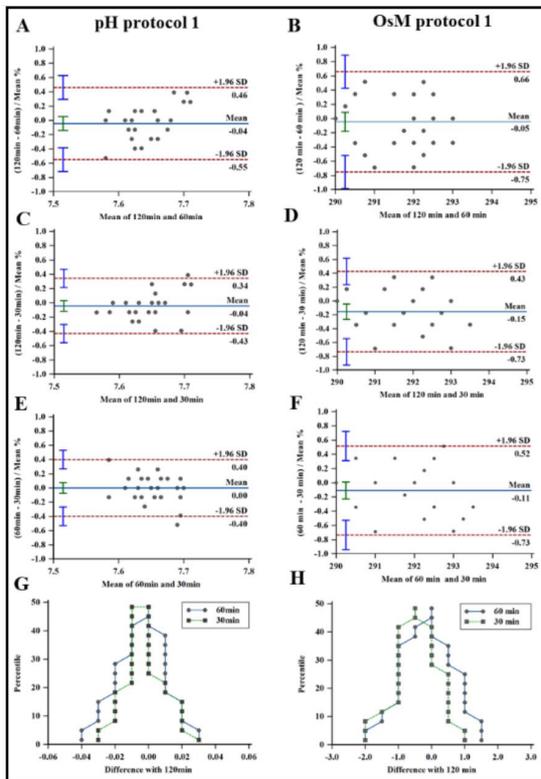
ใน Protocol ที่ 1 เป็นการทดลองปรับเปลี่ยนระยะเวลาในการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน (Incubating time) ที่ 30 นาที 60 นาที และ 120 นาที ตามลำดับ จากนั้นปั่นแยกด้วยความเร็ว 4,200 rpm 15 นาที พบว่า จากการใช้สถิติ ANOVA และ สถิติ Kruskal-Wallis Test ในการวิเคราะห์ข้อมูลแสดงให้เห็นว่าในทุกช่วงเวลา ข้อมูลค่า pH ( $p=0.928$ ) และ ค่า Osmolality ( $p=0.376$ ) นั้น มีการแจกแจงแบบปกติและไม่มีความ

แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ค่า pH และ ค่า Osmolality มีค่าอยู่ในช่วง 7.55-7.75 และ 290-294 mmol/L ( $\pm 1.96$  S.D.) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับเกณฑ์มาตรฐาน ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะลดเวลา Incubating time ลงจาก 120 นาทีเป็น 30 นาที

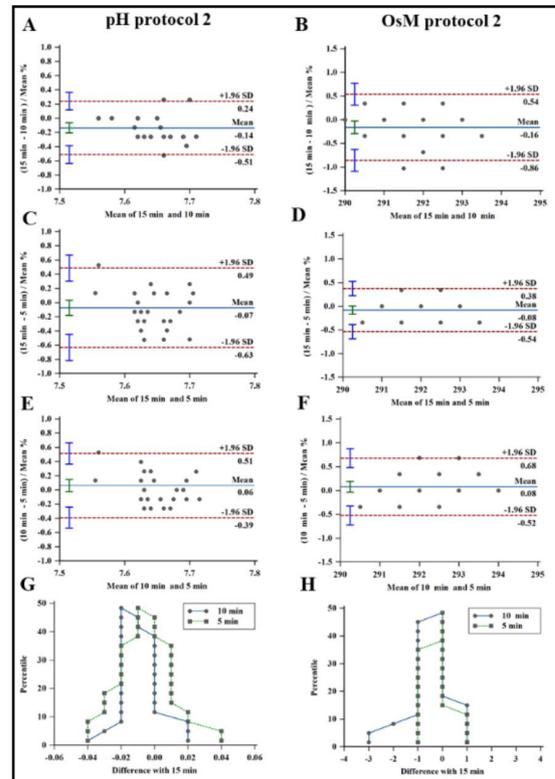
Protocol ที่ 2 (P2) เป็นการเปรียบเทียบผลของระยะเวลาในการปั่นแยกตัวอย่างที่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที ต่อค่า pH (Figure 4.1C) และ ค่า Osmolality (Figure 4.1D) โดยจากนั้นปั่นแยกด้วยความเร็ว 4,200 rpm จากข้อมูลทุกช่วงเวลาที่มีการแจกแจงแบบปกติ จึงใช้สถิติ Kruskal-Wallis Test ในการเปรียบเทียบค่า pH ระหว่างระยะเวลาในการปั่นแยก พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.494$ ) เช่นเดียวกันในการเปรียบเทียบกับระยะเวลาในการปั่นแยกพบว่าไม่มีผลต่อค่า Osmolality ( $p=0.180$ )

จากทดสอบความสอดคล้องระหว่างค่า pH ในแต่ละช่วงเวลาของการปั่นพบว่า มีความสอดคล้องกันโดยพบว่าค่าอยู่ในช่วง  $\pm 1.96$  S.D. (Figure 4.3A, 4.3C, 4.3E) และจากการวิเคราะห์ด้วย Mountain plot พบว่าระยะเวลาการปั่นที่ 5 นาที และ 10 นาทีให้ค่า pH ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการปั่นที่ 15 นาที (Figure 4.3G) เช่นเดียวกับ ความสอดคล้องระหว่างค่า Osmolality ในแต่ละช่วงเวลาของการปั่นพบว่า มีความสอดคล้องกันโดยพบว่าค่าอยู่ในช่วง  $\pm 1.96$  S.D. (Figure 4.3B, 4.3D, 4.3F) และจากการวิเคราะห์ด้วย Mountain plot พบว่าระยะเวลาการปั่นที่ 5 นาที และ 10 นาทีให้ค่า Osmolality ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการปั่นที่ 15 นาที (Figure 4.3H)

ใน Protocol ที่ 2 หลังจากการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 120 นาทีแล้ว ผู้วิจัยได้ทำการปรับเปลี่ยนระยะเวลาในการปั่นแยกตัวอย่างด้วยความเร็ว 4,200 rpm ที่ระยะเวลา 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที ตามลำดับ พบว่า จากการใช้สถิติ ANOVA และสถิติ Kruskal-Wallis Test ในการวิเคราะห์ข้อมูลแสดงให้เห็นว่าในทุกช่วงเวลาข้อมูลค่า pH ( $p=0.494$ ) และค่า



**Figure 4.2** The Bland-Altman plot of protocol 1 (P1) for the accordance of pH in different incubating times (4.2A, 4.2C and 4.2E) and those of osmolality (4.2B, 4.2D and 4.2F) 4.2G and 4.2H are the mountain plot of pH and osmolality, respectively



**Figure 4.3** The Bland-Altman plot of protocol 2 (P2) for the accordance of pH in different centrifugal times (4.3A, 4.3C and 4.3E) and those of osmolality (4.3B, 4.3D and 4.3F) 4.3G and 4.3H are the mountain plot of pH and osmolality, respectively

**Table 4.1** The minimum, maximum, mean and SD of osmolarity and pH in protocol 1

Incubating times	N	Osmolarity				pH			
		Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD
120 min	30	290.00	293.00	291.583	1.042	7.56	7.72	7.641	0.044
60 min	30	290.00	293.50	291.716	1.096	7.58	7.70	7.641	0.032
30 min	30	290.00	294.00	292.033	1.066	7.57	7.71	7.645	0.038

**Table 4.2** The minimum, maximum, mean and SD of osmolarity and pH in protocol 2

Centrifugation times	N	Osmolarity				pH			
		Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD
5 min	30	290.00	293.00	291.80	0.924	7.54	7.72	7.64	0.049
10 min	30	290.00	294.00	292.26	1.080	7.56	7.72	7.64	0.043
15 min	30	291.00	294.00	292.03	0.808	7.56	7.71	7.63	0.041

**Table 4.3** The arithmetic mean, lower and upper limit of osmolarity and pH for plot differences in protocol 1 as %

Plot differences as % between	Osmolarity			pH		
	Arithmetic mean (95% CI)	Lower limit (95% CI)	Upper limit (95% CI)	Arithmetic mean (95% CI)	Lower limit (95% CI)	Upper limit (95% CI)
120 min and 60 min	-0.045% (-0.180 to 0.088)	-0.751% (-0.983 to -0.519)	0.660% (0.427 to 0.892)	-0.044% (-0.140 to 0.0519)	-0.550% (-0.716 to -0.383)	0.461% (0.294 to 0.627)
120 min and 30 min	-0.154% (-0.264 to -0.043)	-0.734% (-0.926 to -0.543)	0.426% (0.235 to 0.617)	-0.044% (-0.117 to 0.029)	-0.431% (-0.559 to -0.3040)	0.343% (0.215 to 0.471)
60 min and 30 min	-0.1085% (-0.227 to 0.010)	-0.7347% (-0.940 to -0.528)	0.5176% (0.311 to 0.723)	0.0003% (-0.075 to 0.076)	-0.398% (-0.529 to -0.266)	0.398% (0.267 to 0.529)

**Table 4.4** The arithmetic mean, lower and upper limit of osmolality and pH for plot differences in protocol 2 as %

Plot differences as % between	Osmolality			pH		
	Arithmetic mean (95% CI)	Lower limit (95% CI)	Upper limit (95% CI)	Arithmetic mean (95% CI)	Lower limit (95% CI)	Upper limit (95% CI)
15 min and 10 min	-0.159% (-0.292 to -0.0263)	-0.859% (-1.0893 to -0.628)	0.539% (0.309 to 0.770)	-0.135% (-0.206 to -0.063)	-0.511% (-0.635 to -0.387)	0.241% (0.117 to 0.365)
15 min and 5 min	-0.080% (-0.166 to 0.006)	-0.536% (-0.686 to -0.385)	0.376% (0.2258 to 0.526)	-0.0735% (-0.180 to 0.032)	-0.632% (-0.816 to -0.448)	0.485% (0.301 to 0.66)
10 min and 5 min	0.079% (-0.035 to 0.194)	-0.522% (-0.720 to -0.324)	0.681% (0.483 to 0.880)	0.061% (-0.024 to 0.147)	-0.390% (-0.539 to -0.241)	0.513% (0.364 to 0.662)

Osmolality ( $p=0.180$ ) นั้น มีการแจกแจงแบบไม่ปกติ ไม่มีความแตกต่าง เช่นเดียวกับการทดลองใน Protocol ที่ 1 นอกจากนี้ค่า pH และ ค่า Osmolality มีค่าอยู่ในช่วง 7.5-7.7 และ 290-296 mmol/L ( $\pm 1.96$  S.D.) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับเกณฑ์มาตรฐาน ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะลดเวลา Centrifugal time ลงจาก 15 นาที เป็น 5 นาที

จาก Protocol ที่ 1 และ Protocol ที่ 2 จึงนำมาสู่ Protocol ที่ 3 คือ พัฒนาการกระบวนการผลิต ASED โดยลดระยะเวลา Incubating time เหลือ 30 นาที และ Centrifugal time เหลือ 5 นาที นำผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจากกระบวนการที่พัฒนาขึ้นมาทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับกระบวนการผลิตเดิมที่ใช้วิธีมาตรฐานอีกครั้ง (ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน 120 นาที และปั่นแยก 15 นาที จากการทดสอบพบว่า ค่า pH ระหว่าง P3 และ วิธีมาตรฐานมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

( $p=0.000$ , independent T-test) แต่ค่า pH ดังกล่าวอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับได้ ส่วนค่า Osmolality พบว่าไม่มีความแตกต่างเมื่อใช้วิธี P3 เปรียบเทียบกับ วิธีมาตรฐาน ( $p=0.113$ , Kruskal-Wallis Test) โดยที่ค่า pH อยู่ในช่วง 7.6-7.75 และ ค่า Osmolality อยู่ในช่วง 289-296 mmol/L (Figure 4.4)

ผลจากการวิเคราะห์ค่า pH และค่า Osmolality ที่ได้จากกระบวนการผลิตใหม่นี้นอกจากยังมีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานแล้ว ยังมีค่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ Guilherme G. [22] ที่ได้ทำการวิจัยโดยใช้ Incubating time 0-2 วัน และ Centrifugal time 5-20 นาที ซึ่งเป็นกระบวนการคล้ายงานวิจัยของ Geerling G. [18], Tananuvat N. [28] และ Sriwidodo S. [29] งานวิจัยทั้งหมดนั้นมีค่า pH และค่า Osmolality ที่อยู่ใน serum อยู่ที่ 7.4-7.7 และ 288-300 mmol/L ตามลำดับ

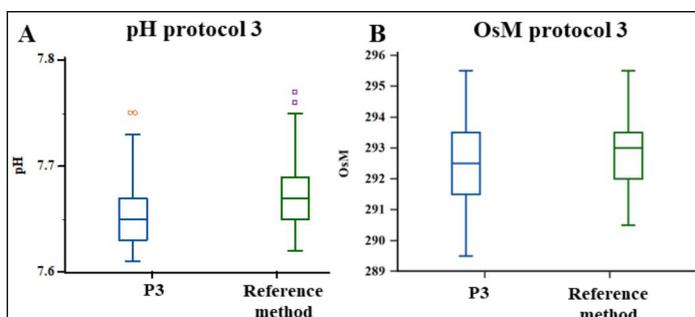


Figure 4.4 Comparison of pH and osmolality between protocol 3 (P3) and reference method

Table 4.5 The minimum, maximum, mean and SD of osmolality and pH in Protocol 1

	N	Minimum	Maximum	Mean	SD
pH-P3	60	7.61	7.75	7.65	0.034
pH-Ref	60	7.62	7.77	7.67	0.034
OsM-P3	60	289.50	295.50	292.41	1.359
OsM-Ref	60	290.50	295.50	292.78	1.143

### 5. สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ ASED โดยใช้สัดส่วนการเจือจางร้อยละ 20 ตามคำสั่งจักษุแพทย์ เพื่อนำไปใช้กับผู้ป่วยโรคผิวหนังเหือดตากุ่มตัวอย่างจำนวน 120 คนนั้น สามารถสรุปผลได้ดังนี้

ตามวัตถุประสงค์ข้อที่ (1) เพื่อลดเวลาในการผลิตยาหยอดตาซีรัม พบว่า สามารถลดระยะเวลาในกระบวนการ Incubating process จากวิธีมาตรฐานที่ต้องตั้งหลอดเลือดทิ้งไว้ให้ตกตะกอน 120 นาที เป็นการตั้งทิ้งไว้ 30 นาที (ลดระยะเวลาได้ถึง 90 นาที) และสามารถลดเวลาในกระบวนการปั่นแยก Centrifugal process จากวิธีมาตรฐานที่ต้องปั่นแยกที่ 4 องศาเซลเซียสด้วยความเร็ว 4,200 rpm เป็นระยะเวลา 15 นาที เป็นการปั่นแยกด้วยเวลา 5 นาที (ลดระยะเวลาปั่นได้ 10 นาที) โดยที่ค่า pH และ ค่า Osmolality ของ

ตัวอย่างหลังจากที่ลดเวลาทั้ง 2 processes แล้วมีผลของค่า pH และ ค่า Osmolality ยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานเดิมดังที่ได้แสดงผลการวิเคราะห์ไว้ข้างต้น (ค่า pH อยู่ในช่วง 7.6-7.75 และ ค่า Osmolality อยู่ในช่วง 289-296 mmol/L) ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างกระบวนการมาตรฐานเดิมกับกระบวนการที่พัฒนาขึ้นใหม่ตามวัตถุประสงค์ข้อที่ (2)

ในการเปรียบเทียบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ ASED เพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่า pH และ ค่า Osmolality สรุปได้ว่ากระบวนการผลิตที่พัฒนาขึ้นใหม่นั้นสามารถนำไปใช้ในการผลิตยาหยอดตาซีรัมที่มีมาตรฐานไม่ต่างจากเดิมได้จริง ส่งผลให้ผู้ป่วยได้ผลิตภัณฑ์ ASED ได้อย่างรวดเร็ว ลดระยะเวลาการรอคอยจากเดิม 4 ชม. เหลือเพียง 1.30 ชม. ทำให้ผู้ป่วยสามารถนำผลิตภัณฑ์ ASED กลับไปใช้ที่บ้านได้รวดเร็วขึ้น

## 6. ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยครั้งต่อไป

ในการวิจัยครั้งต่อไป ควรมีการศึกษาผลกระทบพารามิเตอร์ที่สำคัญอื่นๆ ที่มีอยู่ใน ASED จากการศึกษาระยะเวลากระบวนการ Incubating time และ Centrifugal time เช่น ค่า Proteins, ค่า Epidermal Growth Factor (EGF), ค่า Platelet Derived Growth Factor (PDGF), Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) และ Vitamins เป็นต้น

## 7. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติที่สนับสนุนทุนวิจัยครั้งนี้ รหัสโครงการ 1/2565.1 และโครงการวิจัยนี้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคนโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ รหัสโครงการ 013/2564

## 8. References

- [1] Lemp MA., 2004, Management of dry eye disease, Am J Manage Care;14 Suppl 3:S88-101
- [2] Foulks GN., 2008, Pharmacological management of dry eye in the elderly patient, Drugs Aging; 25:105-18
- [3] Dogru M., Tsubota K., 2011, Pharmacotherapy of dry eye, Expert Opin Pharmacother, 12:325-34
- [4] Gicquel JJ., Bremond-Gignac D., 2013, Emerging treatments for dry eye: Some like it hot while others may prefer a good stimulation, Br J Ophthalmol., 97:53-40
- [5] Sandra L., Valencia Castillo, Esther Saez Martin, Luis J. Garcia Frade and F. Javier G., 2021, Autologous serum eye drops improve tear production, both lachrymal flow and stability tests and conjunctival impression cytology with transfer in dry eye disease, Blood Transfus, 19:45-53
- [6] Wimolwan T. J., 2558, Dry Eyes Disease Text Book, Mor Chow Ban Publisher, ISBN978-616-374-9369 (in Thai)
- [7] Pinnita Tanthuvanit, 2020, Dry Eye Syndrome (Management Recommendations), American Academy of Ophthalmology
- [8] Celebi AR,Ulusoy C, & Mirza GE., 2014, The efficacy of autologous serum eye drops for severe dry syndrome: a randomized double-blind crossover study, Graefes Arch clin Exp OpHthalmol., 252(4):619-626.
- [9] Liu Y, Hirayama M, & Cui X., 2015, Effectiveness of autologous serum eye drops combined with punctual plugs for the treatment of Sjogren syndrome-related dry eye, Cornea., 34(10):1214-1220.
- [10] Lee GA, & Chen SX., 2008, Autologous serum in the management of recalcitrant dry eye syndrome, Clin Exp OpHthalmol., 36(2):119-122.
- [11] Shi-yin Pan et al., 2011, Tear Osmolality molarity and dry eye, Chinese Journal of Ophthalmology, 47(05): 475-477.
- [12] Papa V. et al., 2001, Comparison of hypotonic and isotonic solutions containing sodium hyaluronate on the symptomatic treatment of dry eye patients, OpHthalmologica, 215(2):124-7
- [13] Aragona P., G Di Stefano, F Ferreri, R Spinella and A Stilo, 2002, Sodium hyaluronate eye drops of different osmolarity for the treatment of dry eye in Sjogren's syndrome patient, Br J Ophthalmol, 86(8), 879-884

- [14] Sandro L.V.C., Esther S.M., Luis J.G.F., and Javier G.M., 2021, Autologous serum eye drops improve tear production, both lachrymal flow and stability tests and conjunctival impression cytology with transfer in dry eye disease, *Blood Transfus.*, 19:45-53
- [15] Jay C.B., Jan S., Rachael H.B., and Sandra M.B., 2009, Time- and Temperature-Dependent Stability of Growth Factor Peptides in Human Autologous Serum Eye Drops, *Cornea.*, vol 28
- [16] Noble B, Loh R, MacLenna S, Pesudovs K, and Quereshi S., 2004, Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomized crossover trial for ocular surface disease, *Br J Ophthalmol.*, 88:647-652
- [17] Poon AC, Geerling G, Dart JK, Fraenkel GE, & Daniels JT., 2001, Autologous serum eyedrops of dry eyes and epithelial defects: clinical and invitro toxicity studies, *Br J Ophthalmol.*, 85:118-1197
- [18] Geerling Gerd, and Dirk Hartwig., 2004, Autologous Surum Eyedrops for Ocular Surface Disorders, *Cornea and External Eye Disease*, Vol1
- [19] Hye R.L., Yun J.H., Soie C, Sang M.H., and Kyou S.H., 2014, Proposal of standardized guidelines for the production and quality control of autologous serum eye drops in Korea: based on a nationwide survey, *Trasfusion*, 54:1864-1870
- [20] Dugrillon A, Lauber S, Nguyen X, and Klueter H., 2002, Platelets applied to wounds and in tissue regeneration: induction of proliferation apoptosis by platelet membranes, *Kluwer Academic/Plenum, Amsterdam*, 70-71
- [21] Tsubota K, Goto E, Shimmura S, and Shimazaki J., 1999, Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application, *Ophthalmology.*, 106:1984-1989
- [22] Guilherme GQ, Mauro C, and Ashley B., 2008, Autologous serum for ocular surface diseases, *Arq Bras Oftalmol.*, 71:47-54
- [23] Victor J.D., Ching L.T., Jarard S., and Thierry B., 2018, Reflections on Dry Eye Syndrome Treatment: Therapeutic Role of Blood Products, *Frontiers in Medicine*, 18
- [24] Bennie H. Jeng and William J.Cupps., 2009, Autologous Serum 50% Eyedrops in the Treatment of Persistent Corneal Epithelial Defects, *Cornea*, Vol 28:1104-1108
- [25] Sabahattin Sul, Safak K, Goksu A., Pelin O., and Erhan O., 2018, Application of autologous serum eye drops after pterygium surgery: a prospective study, *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 256:1939-1943
- [26] Joanna V.H., Maria E. and Madeleine Z., 2016, The use of autologous serum for the treatment of ocular surface disease at Swedish tertiary referral center, *Int. Medical Case Reports Journal*, Vol 9, 47-54
- [27] Munira H., Roni M.S., Alan A., 2014, Long-term Use of Autologous Serum 50% Eye Drops for the Treatment of Dry Eye Disease, *Cornea*, Vol 33

- [28] Tananuvat N, Daniell M, Sullivan LJ, Yi Q, McKelvie P, & McCarty DJ., 2001, Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients, *Cornea*, 20(8): 802-6.
- [29] Sriwidodo S, Insan S.K.S., Iman P.M., Toto S. Ulvi Z, and Kakhar U., 2020, Stabilization of eye drops containing autologous serum and recombinant human epidermal growth factor for dry eye syndrome, *Journal of Advance Pharmaceutical Tech.*, 11(4): 184-188
- [30] Matsumoto Y., Dogru M., 2004, Autologous Serum Application in the Treatment of Neurotrophic Keratopathy, *The American Academy of Ophthalmology*
- [31] Goto E., Shimmura S. and Tsubota K., 2001, Treatment of Superior Limbic keratoconjunctivitis by Application of Autologous Serum, *Cornea*, Vol 20, 807-810
- [32] Del C., 2002, Treatment of Recurrent Corneal Erosions Using Autologous Serum, *Cornea*, Vol 21, 781-3
- [33] Mirjana A., Marko P., Dragan V. and Katarian J., 2013, Autologous Serum Eye Drops for Post-Chemical Injuries and Corneal Epithelial Defects, *OA Maced J Med Sci.*, 1(1), 45-49
- [34] Amir A. and Christopher J., 2015, Autologous Serum Eye Drops for the Treatment of Ocular Surface Disease, *Eye & Contact Lens*, Vol 41
- [35] I-Hsin M., Lily W.C., Wen-Hui T., and Wei-Li C., 2017, Serum components and clinical efficacies of autologous serum eye drops in dry eye patients with active and inactive Sjogren syndrome, *Taiwan J Ophthalmol*, 7:213-220
- [36] Lui L., Hartwig D., Harloff S., Herminghaus P., Geerling G., 2005, An optimized protocol for the production of autologous serum eyedrops, *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.*, Jul;243(7); 706-14
- [37] Westland JC., 2010, Lower bounds on sample size in structural equation modeling, *Electronic Commerce Research and Applications*, 476-487
- [38] Anitua E., Muruzabal F., and Riestra A., 2015, Autologous serum and plasma rich in growth factors in ophthalmology: Preclinical and clinical studies, *Acta Ophthalmol*, 93:605-14