



Universidad de Valladolid



MEMORIA TRABAJO FIN DE GRADO (TFG)

**FENOTIPO DE GRAVEDAD DE LA
ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA
RECEPTOR (EICR) CRÓNICA OCULAR.
ESTUDIO RETROSPECTIVO**

Tipo de TFG: Series de casos retrospectivos

Estudiante: Sofía Corral Bellón

Tutora: Prof. Dra. Margarita Calonge Cano

Curso académico 2019-2020

ÍNDICE

1. RESUMEN
2. ABSTRACT
3. ABREVIATURAS
4. INTRODUCCIÓN
 - 4.1. Trasplante de precursores hematopoyéticos
 - 4.2. Enfermedad de injerto contra receptor
 - 4.3. Enfermedad de injerto contra receptor ocular
5. HIPÓTESIS
6. OBJETIVOS
7. MATERIAL Y MÉTODOS
8. RESULTADOS
9. DISCUSIÓN
10. CONCLUSIONES
11. BIBLIOGRAFÍA
12. ANEXOS

1. RESUMEN

Introducción: La enfermedad de injerto contra receptor (EICR) es la complicación más frecuente del trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH), siendo una de sus principales dianas la afectación ocular. Dicha lesión abarca distintos componentes oculares, especialmente las glándulas lagrimales, que se inflaman y fibrosan, llegando incluso a la atrofia. Esto se manifiesta en un cuadro conocido como enfermedad de ojo seco (EOS) o queratoconjuntivitis seca, una de las complicaciones de mayor impacto en la calidad de vida del paciente con EICR.

Objetivos: Este trabajo pretende buscar asociaciones factoriales a través de los datos demográficos y clínicos de los pacientes con EOS en el contexto de la EICR, tratados en el Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid. Con ello, se busca un perfil factorial, buscando un fenotipo clínico que pueda predecir la gravedad del cuadro sobre el que se podrán tomar decisiones y realizar tratamientos futuros.

Metodología: Estudio retrospectivo de una serie de casos. Variables cuantitativas y cualitativas valoradas mediante medidas centrales y de dispersión. Análisis inferencial: variables dependientes valoradas mediante *t* de Student y McNemar, y cualitativas mediante Chi cuadrado.

Resultados: Se recogieron 32 pacientes, 65,6% varones, con una edad media de 45,5 años y, sin enfermedad ocular previa. Las enfermedades de base principales fueron leucemia mieloide aguda y linfoma no Hodgkin. Se realizó TPH alogénico emparentado en el 40,6% de los casos. Todos desarrollaron una EOS que apareció como parte del EICR sistémico, 14,5 meses post TPH y cuyos síntomas predominantes fueron la sequedad (75%) y la fotofobia (65%). Se observó hiposecreción lagrimal (test de Schirmer disminuido con un valor medio de 3,7 mm) y disfunción de las glándulas de Meibomio (evidenciada en la exploración y por un tiempo de ruptura lagrimal anormal, de 3 seg de media), junto a fibrosis subconjuntival y alteración de la integridad conjuntival y corneal (queratitis epitelial). A lo largo del tiempo (2-3 meses, 5-7 meses y su última visita al IOBA, en una media de 47,6 meses después), más del 60% de los pacientes refirieron una mejoría global, mejorando significativamente la hiperemia conjuntival, la queratitis y disminuyendo los síntomas de sequedad y visión alterada.

Conclusión: Fenotípicamente, las características principales que pudieran indicar mayor severidad, resultaron ser el sexo varón, someterse a un TPH alogénico no emparentado y una mayor edad. Se observó además que las visitas al IOBA y la optimización de los tratamientos, supusieron un factor protector de la evolución desfavorable de la EOS asociada a EICR.

Palabras clave: *Disfunción de las glándulas de Meibomio, Enfermedad de injerto contra huésped, EICH, Enfermedad de injerto contra receptor, EICR, Enfermedad de ojo seco, EOS, Trasplante de precursores hematopoyéticos*

2. ABSTRACT

Introduction: Graft versus host disease (GVHD) is the most frequent complication of transplantation of hematopoietic precursors, with eye involvement being one of its main targets. This lesion covers different ocular components, especially the lacrimal glands, which become fibrous, reducing their secretory capacity, leading to atrophy. This manifests in a condition known as hyposecretory dry eye disease (DED) or keratoconjunctivitis sicca, one of the complications with the greatest impact on the quality of life of the patient with GVHD.

Objectives: This work pretends to look for factor associations through the collection of demographic and clinical data of patients with DES in the context of the GVHD treated in the Ocular Immunology Unit of the Institute of Applied Ophthalmobiology (IOBA) of the University of Valladolid. With this, it seeks to find a factorial profile, looking for a clinical phenotype that can predict the severity of the condition on which decisions and future treatments can be made.

Methodology: Retrospective study of a series of cases. Quantitative and qualitative variables valued by using central and dispersion measures, Inferential Analysis: Dependent variables valued by using Student's t and Mcnemar, and qualitative using Chi square.

Results: 32 patients, 65.6% male, with a mean age of 45.5 years and, for the most part, no family history of cancer or eye history of interest. Main underlying diseases were Acute myeloid leukemia and Non-Hodgkin lymphoma. It was treated in (40.6%) with related allogeneic TPH. All developed a DED that appeared simultaneously with the systemic GVHD (mean of 14.5 months post TPH) and whose predominant symptoms were dryness (75%) and photophobia (65%). Ocular dysfunction was shown by involvement of the aqueous lacrimal and lipid glands of Meibomio, together with subconjunctival fibrosis and alteration of conjunctival and corneal integrity. They show pathological values, in the evaluations of the Schirmer tests (mean score of 3.7mmm) and the BUT (3 seconds), fundamentally.

Throughout all the evolutionary consultations (2-3 months, 5-7 months and their last visit to the IOBA, an average of 47.6 months later), the patients reported an overall improvement in more than 60% of the cases. In addition, an improvement in conjunctival hyperemia, corneal integrity and a decrease in symptoms of dryness and altered vision were observed compared to the initial visit.

Conclusion: Phenotypically, the main characteristics that could indicate greater severity turned out to be male sex, undergoing unrelated allogeneic TPH and older age. It was also observed that the visits to the IOBA and the optimization of the treatments were a protective factor against the unfavorable evolution of the DED.

Key words: *Dry eye disease, DED, Graft versus host disease, GVHD, Meibomina gland dysfunction, Transplantation of hematopoietic precursors.*

3. ABREVIATURAS

- AV: Agudeza visual
- BUT: Tear break-up time (tiempo de rotura lacrimal)
- DE: Desviación estándar
- DGM: Disfunción de las glándulas de Meibomio
- EICR: Enfermedad de injerto contra receptor
- EOS: Enfermedad del ojo seco
- GVHD: Graft versus Host Disease (enfermedad de injerto contra receptor)
- IOBA: Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada
- mSIDEQ: Single item dry eye questionnaire (cuestionario modificado de puntaje de un solo elemento para el ojo seco)
- NRS: Numerical Rating Scale (escala de calificación numérica)
- OSDI: Ocular surface disease index (índice de enfermedad de la superficie ocular).
- PIO: Presión intraocular
- PRGF: Plasma rico en factores de crecimiento
- PRP: Plasma rico en plaquetas
- SCE: Sensación de cuerpo extraño
- SIL: Síndrome de insuficiencia limbar
- TPH: Trasplante de precursores hematopoyéticos
- WFPRS: Wong-Baker faces pain atting scale (escala de calificación de dolor de caras de Wong-Baker)

4. INTRODUCCIÓN

4.1. Trasplante de Precusores Hematopoyéticos (TPH)

El TPH consiste en la infusión de precusores hematopoyéticos a un paciente previamente acondicionado para recibir el injerto. Es, hoy en día, una de las técnicas fundamentales en el tratamiento desde enfermedades hematológicas (malignas o no, como inmunodeficiencias primarias), enfermedades autoinmunes, alteraciones endocrinas u otros tumores sólidos malignos.

Estos precusores hematopoyéticos pueden proceder, bien del propio paciente (trasplante autólogo), de su gemelo idéntico (isogénico) o de otro individuo de la misma especie (trasplante alogénico), siendo éste último el más habitual. A su vez, el trasplante alogénico puede ser emparentado (proviene de familiares genéticamente asociados al paciente) o no emparentado (donante anónimo y no relacionado con el paciente).

Dichas células pueden obtenerse de 3 fuentes y formas diferentes:¹

- Médula ósea: fue la primera fuente utilizada. Los precusores son obtenidos directamente de la médula ósea del donante, principalmente de su aspiración en la cresta iliaca. Es un proceso cruento, que está cayendo en desuso.
- Sangre periférica: se extraen mediante una leucaféresis de la sangre tras una previa estimulación de la producción y movilización con factor estimulante de colonias de granulocitos.
- Sangre de cordón umbilical: obtenida de cordones criopreservados. presentan menor reactividad inmunológica que la sangre periférica, pero la cantidad de precusores en ellos es muy limitada.

Como en el resto de trasplantes de órganos, para garantizar la supervivencia del injerto y prevenir el rechazo y la inmunogenicidad, es fundamental la compatibilidad HLA entre el donante y el receptor, siendo especialmente importante en el trasplante hematopoyético.²

4.2. Enfermedad de Injerto contra Receptor (EICR)

La enfermedad de injerto contra receptor es la complicación más frecuente y grave de un TPH, con una incidencia de entre el 25% al 70% a pesar de las terapias inmunosupresoras actuales.³ Es una enfermedad inflamatoria grave que tiene diferente evolución en función del tiempo en que se presenten los síntomas y sus manifestaciones, pudiendo distinguirse entre EICR aguda y crónica.⁴ Según los últimos criterios sobre el diagnóstico del EICR del “National Institute of Health” de los estados Unidos, elaborados en 2005 y modificados en 2014, la determinación de la EICR aguda o crónica se define mediante características clínicas, en lugar de la relación temporal con el trasplante como en el sistema clásico.

EICR aguda: presente entre un 30 y 40% de los paciente que recibieron un TPH emparentado, y en un 50% no emparentado.⁵ La categoría de EICR aguda incluye la EICR aguda clásica (eritema,

erupción maculopapular, náuseas, vómitos, anorexia, diarrea profusa, íleo o enfermedad hepática colestásica) que ocurre dentro de los 100 días posteriores al trasplante en un paciente que no cumple con los criterios para el diagnóstico de EICR crónica y persistente o recurrente (que ocurre más de 100 días después del trasplante).

EICR crónica: se pueden diferenciar las características clínicas en función de su capacidad de confirmación del diagnóstico:

- Signos y síntomas diagnósticos: se refieren a aquellas manifestaciones que establecen la presencia de EICR crónica sin necesidad de pruebas adicionales o evidencia de la participación de otros órganos. Ejemplos de ello son la poiquilodermia, bronquiolitis obliterante, cicatrización vaginal o aglutinación del clítoris, estenosis en el tercio superior a medio del esófago o cambios similares a líquen plano orales, entre otros.
- Distintivos de la EICR crónica: se refieren a aquellas manifestaciones que normalmente no se encuentran en la EICR aguda, pero requieren pruebas adicionales para establecer un diagnóstico de confirmación. Son criterios de éstos una biopsia característica (presencia de inflamación, participación de tanto la inmunidad celular como humoral y grados variables de fibrosis), pruebas de laboratorio u otras pruebas (por ejemplo, test de Schirmer), evaluación por un especialista (oftalmólogo, ginecólogo, etc) o imágenes radiográficas que muestran EICR crónica en el mismo u otro órgano.

Existe, además, una subcategoría conocida como “superposición u overlap” que se define por la presencia simultánea de características de EICR aguda en pacientes con EICR crónica. Es aún objeto de estudio y caracterización, y se ha asociado con una peor supervivencia.

4.3. EICR Ocular (EICRo)

Es la complicación post-TPH más frecuente, presente aproximadamente en un 60-90% a partir de los 6 meses.⁴ Puede presentarse tanto en la forma aguda como en la crónica, pero es más frecuente en ésta última y es a la que se referirá en esta memoria, salvo que se especifique lo contrario. Entre sus manifestaciones principales se encuentran las siguientes:^{6,7}

La afectación de las glándulas lagrimales es una de las principales manifestaciones de la enfermedad. Éstas se fibrosan y obstruyen, reduciendo su capacidad secretora o incluso llegando a la atrofia. Esto se traduce en la enfermedad de ojo seco (EOS) hiposecretora o queratoconjuntivitis seca, y es tal su presencia en la patología que se considera un criterio mayor de la EICR crónica, teniendo un gran impacto en la calidad de vida del paciente. Entre sus síntomas se encuentran sequedad, sensación de cuerpo extraño (SCE), quemazón, dolor, gran fotofobia y visión borrosa. Los siguientes signos, aunque en ocasiones se enumeran como si fueran independientes, en realidad, corresponden a signos del mismo proceso, EOS:

Lesión de las glándulas de Meibomio: su deficiencia, asociada a la de las glándulas lagrimales, provoca una alteración de la película lagrimal, que añade al EOS un componente evaporativo al alterar la capa lipídica de la película lagrimal.

Afectación de la conjuntiva: presenta tanto inflamación como destrucción de los acinos y conductos de las glándulas lagrimales conjuntivales (glándulas de Krause y Wolfring, encargadas de la secreción basal lagrimal), lo que contribuye a la producción lagrimal deficiente. Las células caliciformes también se encuentran afectadas, suponiendo una deficiencia de la capa mucosa de la película lagrimal. La sequedad de este epitelio se evidencia mediante una tinción punteada con colorantes vitales como la fluoresceína sódica o, mejor aún, con rosa de Bengala o verde lisamina y típicamente afecta a la conjuntiva interpalpebral, nasal y temporal. Otras manifestaciones son la presencia de cicatrices conjuntivales (secuela casi siempre de una EICR aguda) y la conjuntivitis hemorrágica y pseudomembranosa, manifestación típica de una EICR aguda.

Afectación de la córnea: constituye una afectación grave que puede comprometer la visión y es consecuencia directa de la EOS grave. Típicamente, existe una queratopatía epitelial punteada (que se tiñe positivamente con el colorante vital fluoresceína sódica). Cuando la queratopatía punteada se agrava, se pueden ver defectos epiteliales persistentes que, secundariamente se pueden infectar (úlceras corneales infecciosas). Otra complicación es la queratitis filamentosa, que aunque no supone la amenaza visual y estructural de la anterior forma, es sin embargo, muy dolorosa. Otras complicaciones como la queratopatía en banda son menos frecuentes. Una complicación que desgraciadamente continúa ocurriendo, es la perforación corneal, normalmente secundaria a una infección que ha progresado a necrosis estromal y que suele llevar a la pérdida no ya de la visión, sino de la córnea y del globo ocular por endoftalmitis.

Por último, una complicación más reconocida recientemente, es la deficiencia de células madre limbares, es decir, pérdida de la capacidad de las células madres limbares para mantener la integridad del epitelio corneal, lo cual desencadena un proceso de inestabilidad del epitelio que acabará, de no solucionarse, en opacidad corneal con pérdida de visión dolorosa. Aunque este proceso podría ocurrir independientemente de la EOS, en la práctica, todos los pacientes con este problema tienen, además, un EOS normalmente grave.

Para el diagnóstico y seguimiento de la EICR ocular existen un gran número de herramientas empleadas en el contexto de ensayos clínicos. Pero en la práctica oftalmológica habitual, las más utilizadas son las siguientes:^{6,8}

- Valoración de los síntomas: Para ello, existen multitud de cuestionarios, como por ejemplo:
 - Cuestionario OSDI (“ocular surface disease index”): consiste en la evaluación de los síntomas relacionados con el EOS durante la semana anterior a dicha evaluación, basada por 12 ítems calificados de 0 (ninguno de los tiempos) a 4 (todo el tiempo), obteniendo una puntuación de 0 a 100, considerándose asintomáticos una puntuación

menor de 13. Existen un gran número de otros cuestionarios para recoger los síntomas del EOS, siendo el OSDI uno de los más usados y validados en castellano.

- NRS: (Numerical Rating Scale): escala de calificación numérica de 10 puntos, en la que los pacientes deben calificar su dolor (si está presente) y su peor síntoma (que no sea dolor) en una escala de 0 a 10, siendo 0 "sin dolor / síntoma" y 10 "peor síntoma / dolor imaginable".
- WFPRS: (Wong-Baker Faces Pain Rating Scale) es un método estándar para medir la gravedad del dolor ocular. Se compone de 6 caras diferentes que expresan un nivel creciente de intensidad del dolor de izquierda a derecha (sin dolor), siendo cada cara convertida en una puntuación numérica (0 = sin dolor; 2 = incomodidad; 4 = dolor leve; 6 = dolor moderado; 8 = dolor intenso; 10 = dolor insoportable).
- Cuestionario mSIDEQ ("Modified Single-Item Score Dry Eye Questionnaire"): Cuestionario modificado de puntaje de un solo elemento para el ojo seco. Incluye los siguientes elementos: sequedad, sensación de cuerpo extraño, ardor, dolor, picazón, fotofobia y visión borrosa en una escala de 0 a 4 (0 = ausencia de síntomas; 1 = rara vez se siente; 2 = a veces se siente; 3 = siempre se siente pero no afecta las actividades diarias; 4 = siempre se siente pero afecta las actividades diarias) (rango 0- 28).
- Biomicroscopía con lámpara de hendidura: Consiste en un microscopio binocular dotado de una fuente de luz que permite ver en tres dimensiones y con gran amplificación las estructuras de los distintos componentes del globo ocular; un haz de luz lateral o hendidura, permite hacer cortes ópticos de manera que permite localizar en profundidad las lesiones dentro de las diferentes estructuras.
- Tiempo de ruptura lagrimal o "tear break up time" (T-BUT): mediante la instilación de fluoresceína en la superficie ocular, se visualiza en la lámpara de hendidura la película lagrimal y se mide el tiempo en segundos que ésta tarda en romperse desde el último parpadeo y por tanto, su estabilidad. Es útil para evaluar el EOS de tipo evaporativo.
- Tinción corneal con fluoresceína: valorar los defectos epiteliales de la córnea al teñir los espacios intercelulares; se visualiza con la lámpara de hendidura y el filtro de luz azul cobalto.
- Tinción conjuntival con verde de lisamina: Valora la integridad de la conjuntiva bulbar al teñir las zonas de la conjuntiva con células dañadas/muertas y precipitados de moco y se visualiza también con la lámpara de hendidura.
- Test de Schirmer con anestesia: Es una prueba con la que se valora cuantitativamente la producción lacrimal. Se realiza con una tira de papel de filtro colocada en el fondo del saco inferior palpebral; se puede hacer con o sin anestesia tópica, ésta última para evitar el lagrimeo reflejo a la irritación del papel; 5 minutos después, se determinará dicha producción mediante la longitud en mm de la parte humedecida de la tira por la lágrima.

Respecto al manejo terapéutico del EICRo, de forma simplificada se puede componer de:⁹

Sustitutos lagrimales: entre ellos se encuentran las lágrimas artificiales sin conservantes (pueden contener electrolitos, pero no la mezcla de proteínas, factores de crecimientos, etc presentes en la lágrima normal), lubricantes oculares en forma de geles o pomadas o los sustitutos biológicos, a base de suero autólogo y preparados similares derivados de la sangre del propio paciente.

Terapias antiinflamatorias: destacan los corticoides tópicos como terapia aguda y los siguientes como terapia más crónica: las tetraciclinas orales como la doxiciclina (función tanto antibiótica como antiinflamatoria y anti-angiogénica) y la ciclosporina tópica, el mayor avance en el tratamiento de la EICRo, de función antiinflamatoria, inmunomoduladora, antiapoptótica, y aumento de la producción lacrimal. Otros tratamientos usados con menos frecuencia son las técnicas de preservación lacrimal como la oclusión del sistema de drenaje o los secretagogos como los agonistas muscarínicos. Por último existen técnicas quirúrgicas para el EOS, como el trasplante de células madre o el trasplante de membrana amniótica.

5. HIPÓTESIS

A través del seguimiento de los datos epidemiológicos, antecedentes personales, factores demográficos, síntomas oculares y la evolución temporal de la EICRo, es posible encontrar variables de asociación que permitan obtener una serie de criterios con los que poder desarrollar una clasificación predictiva de una mayor o menor gravedad de esta enfermedad. Esto podría permitir prever complicaciones y prescribir tratamientos de forma más precoz.

6. OBJETIVOS

1. Recoger los datos demográficos y clínicos de los pacientes evaluados y tratados en la Unidad de Inmunología Ocular del Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid que presenten el diagnóstico de EICRo.
2. Proporcionar un perfil factorial de los pacientes que sufren EICRo.
3. Constituir un fenotipo que prediga una mayor o menor gravedad del EICRo sobre el que se podrán tomar decisiones respecto a tratamientos futuros.

7. METODOLOGIA

Este estudio ha sido aprobado por la Comisión de Investigación del IOBA y por el Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud Valladolid-Este (CEIC-VA-ESTE-HCUV).

Se trata de un estudio retrospectivo de una serie de casos referidos a la Unidad de Inmunología Ocular del IOBA con el diagnóstico de EICR debido a TPH alogénico y siempre en el contexto de una malignidad hematológica. El único criterio de inclusión es que el paciente tuviera un diagnóstico firme de EICRo realizado por un hematólogo experto. No se plantearon criterios de

exclusión, salvo que no existiera información suficiente en la historia clínica de al menos una visita.

La recogida de datos se realizó mediante la revisión de historias clínicas con el diagnóstico de EICRo y la recogida sistematizada de información en una base de datos creada para este propósito. Esta recogida se realizó por un único investigador (la autora de este TFG), bajo la supervisión de su tutora, siguiendo la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal vigente.

Se recogieron los siguientes datos:

1. Demográficos: raza, sexo, país y ciudad de origen, lugar de referencia y edad en cada evento de interés (inicio de la enfermedad general de base, a la realización del TPH, al inicio del EICR, a la primera consulta en el IOBA) y presencia de hábito fumador.
2. Historia familiar reseñable de procesos malignos.
3. Sobre la enfermedad de base responsable del TPH: diagnóstico de certeza, diagnósticos asociados y tratamientos.
4. Sobre el TPH: tipo, emparentado o no y tiempo entre el inicio de la enfermedad de base y la realización del TPH.
5. Relativos a la EICR crónico en general: tiempo entre TPH y la aparición de EICR, presencia de EICR agudo previo, número de órganos afectados y órgano que inició el EICR.
6. Sobre la afectación ocular en el contexto de la EICRo:
 - Historia ocular previa, incluido el tiempo entre el comienzo de los síntomas y su primera visita al IOBA
 - Agudeza visual (AV)
 - Síntomas recogidos con los cuestionarios OSDI, (Ocular Surface Disease index”), NRS (“numerical rating scale”), WFPRS (Wong-Baker Faces Pain Rating Scale) y mSIDEQ (Modified Single-Item Score Dry Eye Questionnaire).
 - Signos clínicos, recogidos en este orden: hiperemia conjuntival (rango 0-5), fibrosis subconjuntival, disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM), tiempo de rotura lagrimal (T-BUT) (patológico <7 segundos), integridad de la superficie ocular mediante tinción corneal con fluoresceína y conjuntival con verde de lisamina (ambos patológicos >1; rango:0-5)
 - Test de Schirmer con anestesia tópica (patológico \leq 5 mm)
 - Presión intraocular (PIO) (patológica > 21 mmHg)
 - Tratamientos realizados.

Los datos de seguimiento se recogieron en la primera visita y en un seguimiento, siempre que fue posible, en tres periodos: entre los 2-3 primeros meses posteriores, entre los 5-7 meses y en la última visita.

Análisis estadístico

El paquete estadístico utilizado para el análisis de datos ha sido el SPSS versión 18 para Windows y ha sido realizado por la autora de este trabajo.

Las variables cualitativas se expresaron como porcentajes y número de casos y las variables cuantitativas como media \pm desviación estándar (DE). La proximidad a la distribución normal de la muestra fue evaluada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Se utilizó el test de Chi cuadrado para analizar la relación entre las variables categóricas y politómicas, la *t* de Student para valorar la relación entre las variables independientes binarias y las variables dependientes cuantitativas y el test de McNemar se usó para las variables cualitativas apareadas. El test ANOVA se utilizó para asociación entre variables independientes politómicas y variables dependientes cuantitativas. Se ha empleado una regresión logística simple para valorar la asociación entre variables cuantitativas independientes y dependientes. Los resultados de las comparaciones se expresaron mediante los valores de P con su intervalo de confianza (IC) del 95% y se aceptó que había diferencias significativas cuando $P < 0,05$.

8. RESULTADOS

8.1. Estudio descriptivo

Se recogieron y evaluaron las historias clínicas de un total de **32 pacientes diagnosticados de EICRo**. Tenían una media de edad al diagnóstico de su enfermedad de base de 45,5 (10,4) (rango, 28-66) años. La proporción entre mujeres y hombres era cercana al 1:2, pues había un 34,4% de mujeres y un 65,6% de hombres, siendo sus edades medias de 45,3 años (10,9) (rango 28-66) en el caso de los hombres y 45,8 años (9,8) (rango 39-62) en las mujeres, sin diferencias significativas. En cuanto al hábito fumador, 20 casos (62,6%) no fumaron nunca, siendo los 12 casos restantes (37,4%) exfumadores.

En la mayoría de los casos (62,6%) no hubo **antecedentes personales** de interés añadidos a su proceso oncológico. De los que tenían alguno de interés, el más frecuente, 5 casos (15,6%), fue la infección por citomegalovirus. En dos casos (6,3%) existieron antecedentes de atopia, sepsis y herpes zóster. Una de las pacientes tenía síndrome de Sjögren (3,1%).

La mayoría de los pacientes (20, un 62,5%) no tenían **antecedentes oculares**. Del resto, 6 pacientes padecían previamente miopía (15,6%), 4 traumatismo ocular (12,5%), 2 casos úlcera corneal por herpes zóster (6,3%) y hubo un caso de rinoconjuntivitis (3,1%).

En 22 casos (68,8%) no presentaron **antecedentes familiares** oncológicos de interés, existiendo alguno en los 10 pacientes restantes (31,2%).

Respecto al **motivo de la realización del TPH**, la causa más frecuente fue la leucemia mieloide aguda con 11 casos (34,4%), siguiéndole el linfoma no Hodgkin en 7 casos (21,9%) y el síndrome mielodisplásico en 5 pacientes (15,6%). Siguieron con 2 casos cada uno (6,3%), la

leucemia linfocítica aguda, la leucemia mieloide crónica, el linfoma de Hodgkin y el mieloma múltiple; finalmente, hubo 1 caso (3,1%), de leucemia linfocítica crónica.

En cuanto al **tipo de TPH**, 13 pacientes (40,6%), fueron sometido a un trasplante alogénico emparentado, siendo alogénico no emparentado en 11 casos (34,4%). Fueron 6 casos (18,8%) los que se sometieron a un trasplante primero autólogo y después alogénico no emparentado, y dos casos (6,3%) se sometieron a un trasplante primero autólogo y luego alogénico emparentado.

La **edad media** a la que se hicieron el TPH fue de 48,3 años (10,4) (rango 29-66), siendo el tiempo medio entre el inicio de su enfermedad hematológica y el TPH de 35,2 meses (47,9) (rango 1-243).

Todos los pacientes recogidos, obviamente, habían desarrollado **EICR** tras el TPH, diagnosticado en una media de 14,5 meses (16,32) (rango 1-58) tras el TPH. La **edad media** de inicio de éste fue de 49,5 años (10,5) (rango 29-66). Solo 10 pacientes (43,8%) habían padecido previamente una EICR aguda.

La mayoría de ellos tenía otros **órganos afectados por EICR** además de los ojos, como tubo digestivo, hígado, piel, pulmón, mucosa oral, vagina, etc. La media de otros órganos afectados fue de 2,6 (1,0) (rango 1-4).

De los 32 pacientes EICRo, **todos tenían EOS**. En la mayoría de pacientes, 21 casos (75%), el componente ocular ya existió desde el inicio del EICR sistémico. En 5 casos (15,6%), el EOS en el contexto de EICRo ocurrió después del sistémico y sólo en un caso (3,1%), se documentó que había ocurrido antes. En 2 casos, no pudo obtenerse este dato.

El tiempo medio transcurrido desde la aparición de sus problemas hasta que realizaron su **primera consulta en el IOBA** fue de 32,1 (33,5) (rango 2-150) meses, teniendo una edad media en su primera visita de 51,8 (10,3) (rango 31-71) años.

Cuando el paciente es preguntado por el **ojo que considera más afectado**, 18 pacientes (56,3%) respondieron que el ojo derecho. Para 10 pacientes (37,5%) fue el izquierdo, siendo ambos por igual (6,3%) para dos de los pacientes. En 28 pacientes (87,5%) el ojo que subjetivamente consideraban más afectado coincidió con la valoración objetiva. Además, en 21 pacientes (65,6%) ese ojo subjetivamente peor era también el que tenía menor agudeza visual.

El **perfil sintomático** de los pacientes en su primera visita al IOBA se caracterizaba por: sequedad ocular en 24 pacientes (75%), fotofobia en 21 (65,6%), visión alterada en 17 (53,1%), sensación de cuerpo extraño (SCE) en 16 (50%), escozor en 11 (34,4%), dolor en 7 (21,9%) y picor en 3 pacientes (9,4%).

En la **exploración ocular**, se aplicaron una serie de escalas cualitativas, cuyos resultados fueron:

- DGM (figura 1). Siendo 3 puntos el valor de la disfunción más grave y 0 la ausencia de disfunción, el valor medio fue de 2,2 (1,1). En 17 pacientes (53,1%) se apreció una DGM

grave, en 8 casos (25,0%) este problema fue leve y no hubo afectación en tan solo 2 pacientes (6,3%).

- Fibrosis subconjuntival (figura 2). Sobre un máximo de 3 puntos para el estadio más grave y 0 sin fibrosis, la media fue de 1,6 (1,1). La fibrosis más grave se observó en 8 pacientes (25%), siendo moderada en 10 (31,3%), leve en 8 (25%) e inexistente en 6 casos (18,8%).

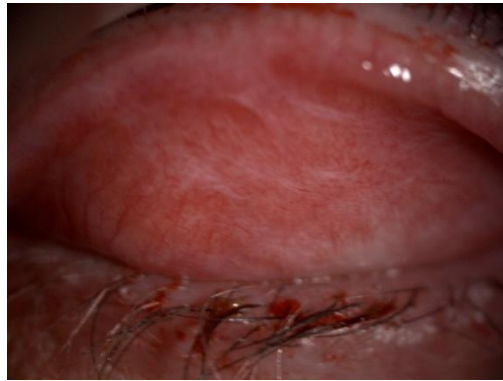


Figura 1. Disfunción de glándulas de Meibomio Figura 2. Fibrosis en conjuntiva tarsal superior

- Hiperemia conjuntival. Sobre un rango de 0 a 4 puntos, ascendente en gravedad, la media fue de 2,1 (0,8). La puntuación de 4 se presentó en 2 casos (6,3%), y la más frecuente fue de 2 puntos en 20 casos (62,6%). Sólo un paciente (3,1%) no tenía hiperemia conjuntival.
- Integridad conjuntival (tinción con verde lisamina). Siguiendo un rango descendente de mayor a menor intensidad (0–5), el valor medio fue de 1,8 (0,9). La puntuación más frecuente fue de 2 en 14 casos (43%) y en sólo 3 (9,5%), la conjuntiva estaba íntegra, mostrando ausencia de tinción con verde de lisamina.
- Integridad corneal (tinción con fluoresceína) (figura 5). Valorada de menos a más íntegra (0-5 puntos), el valor medio fue de 3,3 (1,6). En 8 pacientes (25%), se observó la máxima puntuación y otros 10 casos (31,3%) tenían 4 puntos. Otros 6 pacientes obtuvieron una puntuación de 3 puntos, 2 pacientes respectivamente obtuvieron puntuación de 2 y de 1 (6,3%) y solo en 3 casos (9,4%) había absoluta integridad corneal. Es decir, el 90,6% de los pacientes tenían queratitis epitelial punteada, siendo grave en más de la mitad de ellos, como se observa en la figura 3.
- Entre los hallazgos corneales diferentes del descrito más arriba destacaron: opacidad corneal (figura 4) en 4 pacientes (12,5%), cicatrices y adelgazamientos corneales en 4 pacientes (12,5%) y depósitos cálcicos y úlceras corneales en 1 caso cada alteración, respectivamente. No se encontró ningún hallazgo corneal diferente de la queratitis superficial en 23 pacientes (71,9%).
- Otros hallazgos fueron cataratas en 12 casos (37,5%), pigmento y ambliopía en 2 pacientes cada uno (6,3%) y metaplasia escamosa, pterigium y simblefaron en 1 caso cada uno.
- En el fondo de ojo, solo 5 pacientes (15,6%) tenían hallazgos patológicos.

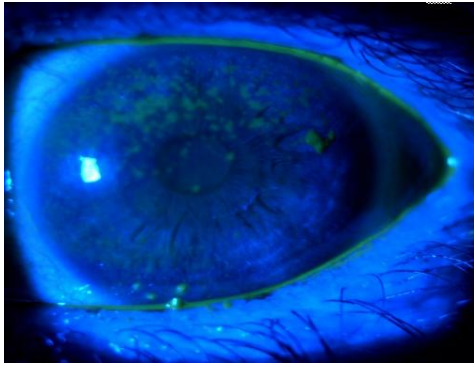


Figura 3. Queratitis epitelial (+3)

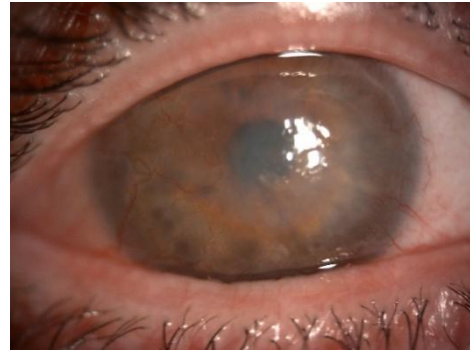


Figura 4. Opacidad y neovasos corneales por deficiencia de células madre limbares

Se aplicaron una serie de **escalas cuantitativas**, de cara a objetivar la funcionalidad ocular:

- AV (rango 0-1). El valor medio fue de 0,6 (0,5).
- T-BUT (patológico <7 segundos). El valor medio fue de 3 (2,5) (rango 1-10) segundos. La mayoría de los pacientes, 26 (81,2%) presentaron un valor patológico de la prueba y solo 1 presentó un valor normal (3,1%), siendo no explorable en 5 pacientes (15,6%).
- Test de Schirmer (patológico < 5mm). El valor medio fue 3,7 (3,0) (rango 0-12). De ellos, 22 pacientes (68,8%) presentaron un valor patológico del test, siendo normal en 9 pacientes (28,1%) y no explorable en 1 (3,1%).
- PIO (rango normal, 12-21 mmHg). El valor medio fue de 14,1 (3,7) (rango 2-21) mmHg y no fue anormal en ningún caso.

Respecto a los parámetros utilizados para evaluar la **calidad de vida y síntomas oculares**, los resultados fueron:

- Escala OSDI (rango, 1-100). Siendo la mayor intensidad posible de síntomas de 100, los pacientes tenían una media de 68,6 (19,6) (rango 29-94).
- Cuestionario NRS (rango, 0-10). El valor medio fue de 7,8 (2,4) (rango 3-10).
- Cuestionario WFPRS (rango, 1-6): el valor medio fue de 5,0 (1,0) (rango 3-6).
- Cuestionario SIDEQ (rango, 0-28), el valor medio fue 19,3 (4,4) (rango 13-28).

Como se ha comentado más arriba, **el diagnóstico definitivo de EOS se hizo en el IOBA en todos los pacientes**. En 25 pacientes (78,1%), el diagnóstico fue de EOS mixto (hiposecretor y evaporativo por DGM) y en el resto hiposecretor (21,9%).

Además, en 3 de ellos (9,4%) existía un **síndrome de insuficiencia limbar (SIL) o deficiencia de células madre limbares** (o corneales epiteliales) y habían acudido la IOBA para someterse a un trasplante de células madre (figura 4).

El tratamiento previo a la consulta en el IOBA que los pacientes tenían prescrito, consistió en lo siguiente: 29 pacientes (90,6%) usaban lubricantes oculares, 13 pacientes (40,6%) usaban corticoides tópicos y pomada nocturna, 10 pacientes (31,3%) usaban ciclosporina tópica y sólo 3

(9,4%) usaban antibióticos y antivíricos. Con respecto a los derivados hemáticos, 17 pacientes (53,1%) estaban siendo tratados con suero autólogo, 2 pacientes (6,3%) con plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) y un paciente (3,1%) con plasma rico en plaquetas (PRP). Por último, 6 pacientes (18,8%) estaban siendo tratados con infusiones intravenosas de células madre mesenquimales principalmente por su problema ocular.

Tras la primera consulta en el IOBA, los pacientes fueron sometidos a un nuevo régimen de tratamiento. Se prescribieron pomadas nocturnas y lágrimas artificiales o lubricantes en todos los pacientes, ciclos cortos de corticoides tópicos en 25 pacientes (78,1%), ciclosporina tópica en 23 (71,9%), antibióticos en 12 (37,5%), suero autólogo en 18 (56,3%), PRGF en 3 (9,4%) y PRP en 1 paciente (3,1%). Se hicieron dos trasplantes de células madre en dos casos y uno más, estaba a la espera.

8.2. Análisis inferencial

A la hora de valorar todas las posibles asociaciones de las variables de este estudio, será el número de casos (n) el parámetro más citado, dado que el reducido número de pacientes supone un factor limitante a la hora de encontrar significación estadística. Es por ello que a la hora de valorar las asociaciones, se valorarán también aquellas relaciones que por su tendencia hubieran podido tener una asociación significativa si el n hubiera sido mayor.

Empezando por la variable categórica "**sexo**", sólo ha sido posible encontrar una asociación significativa con la variable "otros órganos afectados". Así, las mujeres tenían una afectación mayor (3,14 vs 1,88; $p=0,009$) que los hombres. Además, hubo diferencias en relación con la valoración cualitativa del estado de sus ojos, siendo la puntuación de fibrosis subconjuntival significativamente mayor en hombres (2,52 vs 1,6; $p=0,014$) y en la DGM (2,53 vs 1,6; $p=0,033$).

Es necesario citar, aunque no exista significación estadística, el hecho de que las mujeres parecían tardar más del doble que los hombres en recurrir al TPH desde el inicio de su enfermedad (56,2 meses vs 25,2; $p=0,227$) y, sin embargo, parecieron más precoces en cuanto al tiempo que pasó entre sus problemas oculares y su primera visita al IOBA (24,5 meses vs 36,05 meses; $p=0,365$).

Con respecto a los **antecedentes familiares relacionados con procesos neoplásicos**, no existió ninguna asociación significativa ni tendencia a asociarse con ninguno de los parámetros, síntomas o escalas de valoración que se han tenido en cuenta en este estudio. Ese es también el caso de los **antecedentes de fumador** y el **motivo del TPH**.

Respecto al **tipo de TPH realizado (emparentado o no)**, aunque no sea estadísticamente significativo dado el reducido número de la muestra, se observó una diferencia en varios valores, destacando la edad a la realización del TPH (emparentado a los 51,2 años y no emparentado 45,8; $p=0,143$) y el tiempo entre dicho trasplante y el diagnóstico de EICR (emparentado 16,6

meses vs no emparentado 12,8, $p=0,532$). También se encontró una diferencia en la puntuación de OSDI (63,8 en el TPH emparentado vs 71,0 en no emparentado; $p=0,522$).

En cuanto a la relación de la existencia de una **EICR aguda previa**, se observó que en aquellos que la padecieron, la enfermedad de base se manifestó de forma más tardía (51,2 años en los que tenían EICR agudo previo vs 40,9 años en los que no; $p=0,004$). Por ello, también la edad del TPH es mayor en aquellos que tuvieron un EICR previo (53,7 años en los que tuvieron vs 44,1 años, $p=0,007$), así como de presentación del EICR sistémico (55,6 años en aquellos que tuvieron vs 44,8 años en los que no; $p=0,002$).

La edad de los pacientes no constituyó en general, una variable asociada a ninguno de los procesos salvo por la PIO, que se asoció significativamente a la edad en la que se produce el TPH ($p=0,026$) en una regresión lineal simple. También existía una tendencia a la asociación de dicho parámetro en relación con la edad de la enfermedad base ($p=0,067$).

Comparativa de estado de los pacientes a los 2-3 meses desde su primera visita al IOBA

Constituye un aspecto muy relevante del trabajo, dadas las importantes diferencias halladas en la evolución de los signos y síntomas. Hay que tener en cuenta que se pierde el seguimiento de 12 pacientes que no vuelven a acudir a la consulta del IOBA (son principalmente, los pacientes que son referidos por sus especialistas para otra opinión), por lo que los siguientes resultados expuestos se refieren a los 20 pacientes restantes que acudieron a las dos consultas. Dicha visita ocurrió en una media de 2,9 meses (4,6) (rango 0-21).

Las relaciones estadísticamente significativas entre el estado inicial y a los 2-3 meses, fueron:

- Relación entre el porcentaje de pacientes con el síntoma **sequedad** en la primera visita y a los 2-3 meses. En la primera, 14 pacientes (70%) tuvieron sequedad. A los 2-3 meses, 4 pacientes (20%) tenía sequedad, mejorando por tanto su estado en este síntoma ($p=0,006$).
- Relación con la sensación de **visión alterada**: 12 casos (60%) tenía la visión alterada en la primera consulta. A los 2-3 meses, este problema se había resuelto en la mitad de ellos, de forma que 6 pacientes (30% del total) aún conservaban mala visión ($p=0,07$).
- Relación entre el valor medio de la **hiperemia conjuntival**, que mejoró de 2,1 en la primera visita a 1,2 a los 2-3 meses ($p=0,006$).
- Relación entre el valor medio inicial de **integridad corneal**, que fue 3,5 vs 2,3, mejorando también significativamente ($p=0,012$).
- **De forma global**, 12 pacientes (60%) de los 20 que fueron a la segunda visita al IOBA se sintieron mejor que en la primera visita, 6 (30%) consideraron que estaban igual, y 2 pacientes (10%) sintieron que habían empeorado.

Por último, cabe resaltar los problemas relacionados con la **tolerabilidad del tratamiento**: Respecto a la ciclosporina, tuvieron problemas 4 pacientes (20%) y se hubo de retirar en 2 (10%).

Por otro lado, las medidas de higiene palpebral, corticoides y PRGF fueron rechazados tan solo por un paciente, respectivamente (5%).

Comparativa de estado de los pacientes a los 5-7 meses desde su primera visita en el IOBA

Los resultados expuestos en este apartado se refieren a los 18 pacientes que acudieron a las tres primeras consultas (por lo que se perdieron dos pacientes más con respecto a la anterior). La media de tiempo al que acudieron fue de 6,1 meses (5,9) (rango 1-25) y las relaciones estadísticamente significativas fueron las siguientes:

- La relación entre el porcentaje de pacientes con síntomas de **sequedad** en la primera visita y a los 5-7 meses fue de 14 casos (77,8%) vs 6 (33,3) ($p=0,021$), es decir, hubo una mejoría significativa.
- La relación entre el porcentaje de pacientes con la **visión alterada** fue de 11 casos (61,1%) en la primera consulta vs 5 casos (27,8%) a los 5-7 meses ($p=0,07$). Igual que en la primera visita, la diferencia, aunque no significativa, es suficiente para valorarla como tal.
- Relación entre el valor medio de la **hiperemia conjuntival**, que mejoró significativamente de 2,12 en la primera visita a 1,12 a los 5-7 meses ($p=0,017$).
- La relación entre el valor medio de la **integridad corneal**, también mostró una mejoría significativa, entre 3,4 en la primera visita y 2,11 a los 5-7 meses ($p=0,026$).
- De **forma global**, 13 pacientes (72,2%) de los 18 que fueron a la tercera visita al IOBA se sintieron mejor que en la primera visita y 5 (27,8%), consideraron que estaban igual. No hubo ningún paciente que considerase empeoramiento.

Por otro lado, se volvieron a encontrar problemas mínimos con la tolerabilidad de la ciclosporina, siendo retirada en 2 pacientes (11,1%) y bien tolerada en los 16 restantes (88,9%). Los corticoides por su parte fueron rechazados por excesivas molestias por un paciente (5,6%).

Comparativa de estado de los pacientes entre la primera y la última visita al IOBA

Los resultados expuestos en este apartado se refieren a los 16 pacientes que acudieron a las cuatro revisiones recogidas. La media de tiempo a la que los pacientes llegan a esta última visita es muy amplia, con una media de 47,2 meses (68,22) (rango 4-264) desde la primera visita.

Los resultados encontrados fueron los siguientes:

- La relación entre el porcentaje de pacientes con el **síntoma de SCE** en la primera visita y la última visita fue de 9 casos (56,2%) vs 12 (75,5%) ($p=0,06$).
- La relación entre el valor medio de la **hiperemia conjuntival** fue de 2,0 vs 1,3 entre la primera y la última consulta ($p=0,029$), es decir, hubo mejoría significativa.
- En cuanto a la **integridad corneal (queratitis epitelial)**, la relación entre el valor medio inicial y el final fue 3,3 vs 1,4 ($p=0,001$), mejorando pues también significativamente.
- La **agudeza visual** media fue de 0,6 vs 0,9 ($p=0,041$), mejorando significativamente.

- De forma **global**, 11 pacientes (68,8%) de los 16 que fueron a la última visita al IOBA se sintieron mejor que en la primera consulta y 5 (31,3%), consideraron que estaban igual. No hubo ningún paciente que considerase empeoramiento.

Respecto a los problemas con el tratamiento, la ciclosporina fue bien tolerada salvo en 2 pacientes que presentaron molestias (12,5%), y uno que la rechazó (6,3%). Un paciente presentó molestias con los corticoides (6,3%). La higiene palpebral y el PRGF fueron rechazados por un paciente, respectivamente (6,3%).

9. DISCUSIÓN

A pesar de que el número de casos del estudio dificulta la consecución del objetivo que da título al trabajo, se han podido encontrar asociaciones tan interesantes como las que tienen los elementos epidemiológicos sexo y edad con factores que evalúan la calidad del sistema ocular como el grado de fibrosis subconjuntival, DGM o la PIO, lo que podría posibilitar a nivel clínico, una priorización en el tratamiento de los pacientes con EOS.

Alguna otra asociación como la que ocurre entre aquellos pacientes que padecieron una EICR aguda previa y el tiempo que tardó en manifestarse la enfermedad de base, quizás no tenga tanta aplicación práctica en el manejo de los EOS, pero contribuye como una característica más en el perfil de estos pacientes.

Es también de interés la evolución global positiva de los pacientes a lo largo de su paso por el IOBA como respuesta a los tratamientos optimizados, una evolución que se mantiene en todas las visitas realizadas, a pesar de la disminución del número de pacientes en cada una de ellas.

Sin duda, el estudio tiene las limitaciones derivadas del número de pacientes de la muestra, como del largo periodo en el cual se han reflejado los datos (> 8 años) lo que hace que estos no sean homogéneos en su presentación, y por tanto, el número de valores perdidos se incrementa.

Sin embargo, a pesar de esto último, parece que puede aportar al clínico una serie de nuevos criterios de priorización del paciente a la hora de tomar las decisiones terapéuticas tales como un inicio precoz del tratamiento, o un seguimiento más estrecho.

10. CONCLUSIONES

1. El prototipo de paciente que se enfrenta a una EOS como complicación de un EICR sería un varón de 45 años sin antecedentes familiares oncológicos ni antecedentes oculares de interés. Dicho paciente padecería una leucemia mieloide aguda o un linfoma no Hodgkin, por el cual se somete a un TPH alogénico emparentado. Posteriormente, desarrolla una EOS en el contexto de un EICRo, que aparece al mismo tiempo que su EICR sistémico. Este cuadro le origina fundamentalmente sequedad y fotofobia, y una disfunción de la unidad funcional lagrimal fundamentalmente por afectación de las glándulas lagrimales acuosas y las lipídicas de Meibomio; presentaría además fibrosis subconjuntival y alteración de la integridad conjuntival corneal, con queratitis epiteliales graves. Muestra valores patológicos, fundamentalmente en las valoraciones de los test de Schirmer y de BUT. El paciente prototipo es diagnosticado de EOS mixta y sometido a un tratamiento tópico basado en corticoides, lubricantes pomadas y ciclosporina.
2. Fenotípicamente, las características principales que pueden indicar mayor severidad, han resultado ser las siguientes:
 - Ser varón, lo cual originaba un mayor grado de fibrosis subconjuntival y de DGM.
 - Someterse a un TPH alogénico no emparentado, pues la EICR se presentó en un plazo menor y se asoció a mayores molestias sintomáticas.
 - Una mayor edad, pues un paciente mayor es susceptible de tener una PIO más alta.
3. Por último, parece que las visitas al IOBA y la optimización de los tratamientos, han supuesto de forma global un factor protector de la evolución desfavorable de la EOS.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Hessen M, Akpek EK. Ocular graft-versus-host disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012;12(5):540-7.
2. Petersdorf, Effie W. In Celebration of Ruggero Ceppellini: HLA in Transplantation. *HLA* 2017;89(2):71-6.
3. Xihui L, Cavanagh HD. «Ocular manifestations of graft-versus-host disease: 10 years' experience. *Clin Ophthalmol* 2015;9:1209-13.
4. BronAJ, de Paiva CS, Chauhan SK, Bonini S, Gabison EE, Jain S, Knop E, Markoulli M, Ogawa Y, Perez V, Uchino Y, Yokoi N, Sullivan DA. TFOS DEWS II pathophysiology report. *Ocul Surf* 2017;15(3):438-510.
5. Enfermedad de injerto contra huésped (EICH) | BMT Infonet. <https://www.bmtinfonet.org/es/transplant-article/enfermedad-injerto-contra-hu%C3%A9sped-eich>. Accedido 18-05-2020.
6. Ogawa Y, Okamoto S, Wakui M, Watanabe R, Yamada M, Yoshino M, Ono M, Yang HY, Mashima Y, Oguchi Y, Tsubota K. Dry eye after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Ophthalmol* 1999;83:1125-30.
7. Zeev, MSB, Miller DD, Latkany R. Diagnosis of dry eye disease and emerging technologies. *Clin Ophthalmol* 2014;8: 581-90.
8. Cocho L, Fernández I, Calonge C, Sainz de la Maza M, Rovira M, Stern ME, Garcia-Vazquez C, Enríquez-de-Salamanca A. Prehematopoietic stem cell transplantation tear cytokines as potential susceptibility biomarkers for ocular chronic graft-versus-host disease. *Invest Ophthalmol Vis Sc* 2017;58:4836-46.
9. Calonge M. The Treatment of dry eye. *Surv Ophthalmol* 2001;45 Suppl 2: S227-39.