



**Universidad de Valladolid**



**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA  
SALUD**

**TESIS DOCTORAL:  
EMPLEO DEL COLIRIO DE SUERO AUTÓLOGO EN EL  
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DEL OJO SECO**

Presentada por **SANDRA LILIANA VALENCIA CASTILLO**  
para optar al grado de  
Doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:  
**FRANCISCO MINAYA MARTINEZ**  
**FRANCISCO JAVIER GARCIA MIGUEL**



Universidad de Valladolid



**D. Francisco Minaya Martínez**, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Málaga y Facultativo Especialista en Oftalmología del Hospital General, Complejo Hospitalario de Segovia, como codirector de la tesis doctoral de Doña Sandra Liliana Valencia Castillo, alumna del Programa de Doctorado en Investigación en Ciencias de la Salud de la Universidad de Valladolid,

**informa favorablemente** la solicitud de autorización para el depósito de la tesis doctoral de Doña Sandra Liliana Valencia Castillo, titulada “EMPLEO DEL COLIRIO DE SUERO AUTÓLOGO EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DEL OJO SECO”, desarrollada de acuerdo con los requisitos exigibles en un trabajo de investigación en el ámbito médico.

Asimismo **certifica** que la mencionada tesis responde a la adecuación del resultado de la investigación al proyecto presentado en su momento, al desarrollo del proceso de formación doctoral del doctorando y a la oportunidad y elaboración metodológica de los resultados de la investigación que figuran en la misma.

Por todo ello, el abajo firmante encuentra dicha tesis doctoral APTA para ser presentada y defendida en sesión pública ante el Tribunal que a tal efecto se designe.

Segovia, a 27 de Agosto de dos mil diecinueve.

Fdo. Dr. Francisco Minaya Martínez



**Universidad de Valladolid**

**D. Francisco Javier García Miguel**, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad Autónoma de Madrid, Diplomado Europeo de Anestesiología, Reanimación y Cuidados Críticos y Jefe de Servicio de Anestesiología y Reanimación del Complejo Asistencial de Segovia

**CERTIFICA:**

Que la Tesis Doctoral titulada “**EMPLEO DEL COLIRIO DE SUERO AUTÓLOGO EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DEL OJO SECO**” ha sido realizada bajo su dirección y supervisión por **D<sup>a</sup>. Sandra Liliana Valencia Castillo**.

La elaboración de la presente Tesis Doctoral cumple el desarrollo metodológico de un trabajo de Investigación en el ámbito médico. Presenta una revisión bibliográfica exhaustiva del tema en la introducción, plantea la hipótesis de trabajo a demostrar que se desarrolla perfectamente y analiza en el material y métodos y análisis estadístico, y finalmente las conclusiones o tesis es adecuadamente derivado del trabajo desarrollado previamente

Una vez redactada, el presente trabajo ha sido examinado por el que suscribe, encontrándola **APTA** para ser presentada y defendida en sesión pública ante el Tribunal que a tal efecto se designe.

Y para que conste a los efectos oportunos firma el presente certificado en Segovia a dieciséis de agosto de dos mil diecinueve.

Segovia a 16 de Agosto de 2019

Fdo: Dr. Francisco Javier García Miguel

***A mis hijos: Daniel, Maria, Laura y Lucía. A mi esposo Javier, mis  
padres y hermanos.***

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar quiero agradecer a Dios por permitirme finalizar esta Tesis Doctoral.

También quisiera mostrar mi más sincero agradecimiento, a todas las personas que han contribuido de uno u otro modo en la elaboración, desarrollo y finalización de esta Tesis Doctoral.

A mi esposo Dr. Francisco Javier Garcia Miguel, por su infinita paciencia, apoyo y motivación continua e incondicional prestada en el desarrollo de este trabajo, sin la cual no hubiera sido posible la realización del mismo.

A mi tutor de tesis, el profesor Javier García Frade por su cercanía y ayuda mostrados desde el inicio.

Al Dr. Francisco Minaya Martínez por su apoyo desde el primer día que me escuchó hablar del estudio, y por sus sabios consejos y tiempo dedicado.

A mis hijos Daniel, María Laura y Lucía, por las horas de compañía cedidas para la realización de cursos, sesiones científicas y finalización de esta Tesis Doctoral.

A Almudena Carneros, por su dedicación, paciencia y por estar disponible a cualquier hora y por todos sus consejos.

Al Dr. Dayro Gutiérrez, por la ayuda recibida en el estudio estadístico de esta Tesis Doctoral.

A Raúl Gonzalo Gala por su ayuda y colaboración en la maquetación de esta Tesis Doctoral.

Al Departamento de Anatomía Patológica, por la ayuda recibida en las tinciones de las muestras recogidas en este estudio y estar siempre disponibles a solucionar cualquier duda respecto a las mismas.

A las Dras Esther Saez Martín y Gisela Benancio, por la ayuda prestada en la valoración de los pacientes y en la toma de las muestras mediante la citología de impresión conjuntival por transferencia y su disposición continua durante todo el desarrollo de este trabajo, sin la cual no hubiera sido posible la realización del mismo.

Al Dr Miguel Angel Calle, por su motivación inicial, por facilitarme bibliografía y por indicarme el asesor más adecuado para el desarrollo de esta tesis doctoral.

Al Servicio de Farmacia Hospitalaria, en especial a María Dolores Ruiz Ruíz, por facilitarme la recogida de datos y por resolverme cuantas dudas me han surgido a lo largo de la realización de la Tesis

A la enfermera Pilar Carrera Esteras por su ayuda y disposición en la toma de muestras de sangre necesarias, para la realización del suero autólogo.

A las enfermeras del Banco de Sangre, en especial Sofía, por haberme echado una mano siempre que lo he necesitado.

A Francisco Javier Iglesias Muñoz, por su ayuda incondicional, su apoyo y por todos sus consejos.

A todos los pacientes que decidieron participar en este estudio, lo cual me ha permitido elaborar, desarrollar y finalizar esta Tesis Doctoral.

A todos mis compañeros del Servicio de Hematología y Hemoterapia del Complejo Asistencial de Segovia, tanto a los que participaron en mi formación, como con los que hoy en día comparto mi actividad.

En último lugar y como apoyo más importante, durante tantas horas de trabajo a pesar de la distancia, a mis padres y hermanos. ¡Gracias por estar siempre ahí!.

***“Sólo aquellos que se arriesgan a ir muy lejos, pueden llegar a saber lo lejos que pueden ir.”***

T.S.Elliot

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>I. RESUMEN .....</b>	<b>XII</b>
<b>I. SUMMARY.....</b>	<b>XIV</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>XV</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>XVII</b>
<b>ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>XIX</b>
<b>II. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2.1 FUNDAMENTOS DE LA MEDICINA REGENERATIVA .....</b>	<b>1</b>
<b>2.2 ESTRATEGIAS DE LA MEDICINA REGENERATIVA .....</b>	<b>4</b>
2.2.1 INDUCCIÓN QUÍMICA O BIOLÓGICA .....	4
2.2.2 TRASPLANTES CELULARES.....	5
2.2.3 TRASPLANTE DE TEJIDOS Y ÓRGANOS ARTIFICIALES .....	6
<b>2.3 MEDICINA REGENERATIVA EN OFTALMOLOGÍA .....</b>	<b>8</b>
2.3.1 DEFECTOS EPITELIALES PERSISTENTES (DEP) PRODUCIDOS POR DIVERSAS ETIOLOGÍAS.....	8
2.3.2 MANEJO DE LA QUERATOPATÍA NEUROTRÓFICA.....	8
2.3.3 EROSIONES CORNEALES RECURRENTES.....	8
2.3.4 CIRUGÍAS DE RECONSTRUCCIÓN .....	9
2.3.5 AGUJERO MACULAR RETINIANO.....	9
2.3.6 COMPLICACIONES POSTOPERATORIAS DE LA CIRUGÍA FILTRANTE DEL GLAUCOMA.....	9
2.3.7 POSTOPERATORIO DE PACIENTES CON PTERIGION.....	9
2.3.8 TRATAMIENTO DE LA QUERATOPATÍA ASOCIADA A LA ANIRIDIA.....	9
2.3.9 MANEJO DEL OJO SECO ASOCIADO A ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED (EICH) .....	10
<b>2.4 ENFERMEDAD DEL OJO SECO (DED) .....</b>	<b>10</b>
2.4.1 COMPOSICIÓN Y FUNCIONES DE LA LÁGRIMA .....	13
2.4.2 CLASIFICACIÓN DE LA DED .....	15
2.4.3 DIAGNÓSTICO DE LA DED .....	19
2.4.4 TRATAMIENTO DE LA DED .....	25
<b>2.5 SUERO AUTÓLOGO. PROPIEDADES EN EL TRATAMIENTO DE LA DED.....</b>	<b>26</b>
2.5.1 DEFINICIÓN Y PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL SA .....	26
<b>2.6 EFECTOS CLÍNICOS DEL COLIRIO DE SA EN EL TRATAMIENTO DE LA DED .....</b>	<b>37</b>
2.6.1 EFECTOS SOBRE EL EPITELIO .....	37
2.6.2 EFECTOS DEL SUERO AUTÓLOGO SOBRE LAS MUCINAS (MUC) .....	37
2.6.3 EFECTOS SOBRE LA METAPLASIA ESCAMOSA.....	39
2.6.4 EFECTOS SOBRE LA ESTABILIDAD DE LA PELÍCULA LAGRIMAL .....	40
2.6.5 EFECTOS SOBRE EL TEST DE SCHIRMER Y EL TEST DE BUT.....	40
2.6.6 EFECTOS BACTERICIDAS.....	41
<b>III. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....</b>	<b>43</b>
<b>IV. HIPÓTESIS DE TRABAJO .....</b>	<b>46</b>
<b>V. OBJETIVOS .....</b>	<b>48</b>
<b>5.1 OBJETIVOS PRINCIPALES.....</b>	<b>48</b>
<b>5.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS .....</b>	<b>48</b>
<b>VI. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>50</b>
<b>6.1 TIPO DE ESTUDIO .....</b>	<b>50</b>

<b>6.2 POBLACIÓN DIANA.....</b>	<b>51</b>
<b>6.3 ESTIMACIÓN DEL TAMAÑO MUESTRAL.....</b>	<b>52</b>
<b>6.4 VARIABLES DE ESTUDIO.....</b>	<b>53</b>
<b>6.5 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS .....</b>	<b>54</b>
6.5.1 RECOGIDA DE LAS MUESTRAS DE CONJUNTIVA .....	54
<b>6.6 EXTRACCIÓN DE LA SANGRE, OBTENCIÓN DEL SUERO Y PREPARACION DEL COLIRIO DE SUERO AUTÓLOGO .....</b>	<b>57</b>
<b>6.7 DISPENSACIÓN Y POSOLOGÍA.....</b>	<b>62</b>
<b>6.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>64</b>
<b>6.9 CONSIDERACIONES ÉTICAS Y CONFIDENCIALIDAD DE DATOS.....</b>	<b>66</b>
<b>VII. RESULTADOS .....</b>	<b>68</b>
<b>7.1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DESCRIPTIVO .....</b>	<b>68</b>
7.1.1 GÉNERO.....	68
7.1.2 EDAD .....	69
7.1.3 CLASIFICACIÓN DE LA GRAVEDAD DE LA DED.....	70
7.1.4 PATOLOGÍA ASOCIADA .....	71
<b>7.2 RESULTADOS DEL ANÁLISIS COMPARATIVO .....</b>	<b>72</b>
7.2.1 COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LAS VARIABLES CUANTITATIVAS.....	72
7.2.2 COMPARACIÓN DE PORCENTAJES DE LAS VARIABLES CUALITATIVAS.....	79
<b>7.3 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE CORRELACIÓN.....</b>	<b>80</b>
<b>7.4 RESULTADOS DEL ANÁLISIS MULTIVARIANTE. REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE (RLM) ...</b>	<b>85</b>
<b>VIII. DISCUSIÓN .....</b>	<b>89</b>
<b>8.1 DISCUSIÓN DE LA POBLACION DEL ESTUDIO .....</b>	<b>89</b>
<b>8.2 DISCUSION DEL ESTUDIO COMPARATIVO.....</b>	<b>91</b>
8.2.1 VARIACIÓN EN LA CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL POR TRANSFERENCIA .....	91
8.2.2 CAMBIOS EN LOS TESTS DIAGNÓSTICOS DE SCHIRMER Y BUT .....	92
<b>8.3 DISCUSIÓN DEL ESTUDIO ANALÍTICO.....</b>	<b>93</b>
8.3.1 DISCUSIÓN DEL ANÁLISIS DE CORRELACIÓN.....	93
8.3.2 DISCUSIÓN DEL ANÁLISIS MULTIVARIANTE .....	93
<b>8.4 DISCUSIÓN DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON COLIRIO DE SA.....</b>	<b>93</b>
<b>8.5 DISCUSIÓN DE LA PREPARACIÓN DEL COLIRIO DE SA.....</b>	<b>95</b>
<b>8.6 NUEVAS PERSPECTIVAS DE TRATAMIENTO DE LA DED.....</b>	<b>105</b>
8.6.1 COLIRIO DE SUERO HETERÓLOGO (SH).....	105
8.6.2 COLIRIO DE PRP.....	105
8.6.3 COLIRIO DE PRGF .....	106
8.6.4 COLIRIO DE SCU .....	108
8.6.5 COLIRIO DE MEMBRANA AMNIÓTICA (MA).....	108
8.6.6 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	108
<b>8.7 LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....</b>	<b>110</b>
<b>IX. CONCLUSIONES.....</b>	<b>112</b>
<b>X. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>114</b>
<b>XI. DIVULGACIÓN CIENTÍFICA RELACIONADA CON EL ESTUDIO .....</b>	<b>122</b>

11.1 COMUNICACIONES A CONGRESOS Y REUNIONES CIENTÍFICAS .....	122
11.2 PUBLICACIONES A REVISTAS CIENTÍFICAS.....	125
<b>XII. ANEXOS.....</b>	<b>122</b>
12.1 ANEXO I. RESOLUCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE CLASIFICACIÓN DE ESTUDIO CLÍNICO O EPIDEMIOLOGICO .....	122
12.2 ANEXO II. HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	125
12.3 ANEXO III. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS.....	128
12.4 ANEXO IV. FICHA TÉCNICA DE ELABORACIÓN DEL COLIRIO DE SA.....	130
12.5 ANEXO V. TRAZABILIDAD DE LA ELABORACIÓN DEL COLIRIO DE SA AL 20%.....	131
12.6 ANEXO VI. INFORMACIÓN DEL EMPLEO DEL COLIRIO DE SA.....	132
12.7 ANEXO VII. APROBACIÓN POR EL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL AREA DE SEGOVIA (CEIC).....	134
<b>INDICE ANALÍTICO .....</b>	<b>A</b>

## ***I. RESUMEN /SUMMARY***

## I. RESUMEN

**Introducción:** La enfermedad del ojo seco, (DED, del inglés Dry Eye Disease), también conocida como queratoconjuntivitis seca, es un desorden producido por múltiples causas que se caracteriza porque el ojo no es capaz de producir suficiente lágrima, o ésta es de calidad deficiente, acompañado de un aumento de la osmolaridad lagrimal e inflamación de la superficie ocular. El colirio de suero autólogo (SA), producido por medio de la separación de los componentes líquidos y celulares de la sangre del paciente, posee nutrientes biológicos de las lágrimas naturales.

**Objetivos:** Conocer cómo se modificaba la citología de impresión conjuntival (CIC) por transferencia, con el tratamiento con colirio de SA en pacientes con DED (tamaño, número de células caliciformes (CC) ; determinar la variación en la densidad de CC conjuntivales tras el tratamiento con colirio de SA; estudiar la modificación de los tests de Schirmer y Tiempo de Ruptura de la Película Lagrimal (BUT) tras el tratamiento con colirio de SA y conocer la modificación del grado de metaplasia escamosa conjuntival de los pacientes con DED tratados con colirio de SA.

**Material y métodos:** Estudio prospectivo y analítico de 24 pacientes diagnosticados de DED en los que se indicó tratamiento con colirio de SA. A los pacientes se les realizó una CIC por transferencia antes y después del tratamiento con colirio de SA. Se recogieron las siguientes variables: a) descriptivas: edad, género, etiología y clasificación clínica del ojo seco, b) variables derivadas de la CIC: número, densidad de CC conjuntivales e índice de capacidad mucínica de células conjuntivales y grado de metaplasia escamosa. El análisis estadístico consistió en una fase descriptiva, una fase comparativa y una fase de análisis multivariante de las variables.

**Resultados:** Se incluyeron 24 pacientes (23 mujeres; edad media=53,8 ±12,6 años); 10 pacientes (41,7%) presentaban DED moderada y 6 (25%) una DED severa; 5 pacientes tenían artritis reumatoide. Tras el tratamiento,

aumentó significativamente el número y densidad de células caliciformes (CC) conjuntivales ( $202,3 \pm 107,5$  vs.  $210,1 \pm 100,9$  células/mm<sup>2</sup>;  $p < 0,01$ ), su tamaño, el tamaño del núcleo y la relación núcleo/citoplasma. Siete de 10 pacientes con metaplasia 3 ó 4 mejoraron su grado de metaplasia. Los test de Schirmer y BUT mejoraron de manera significativa. En el estudio multivariante, el incremento de CC conjuntivales se asoció de manera directa con el tamaño y densidad de CC y el tamaño del citoplasma de las CC en el momento basal. No aparecieron reacciones adversas.

**Conclusiones:** El tratamiento con colirio de SA en la DED modificó la CIC por transferencia, aumentando significativamente el número y tamaño de las CC, el tamaño de su núcleo, aumento en la relación núcleo-citoplasma y la densidad de las CC. Mejoraron también los tests de flujo y estabilidad de la lágrima (test de Schirmer y BUT respectivamente) y el grado de metaplasia escamosa. No encontramos ninguna reacción ni efecto adverso con el tratamiento del colirio de SA. La mejoría de los pacientes fue más significativa en los pacientes con DED grave.

**Palabras clave:** Enfermedad del Ojo Seco; Soluciones Oftálmicas; Conjuntiva; Suero Autólogo; Citología de Impresión Conjuntival por Transferencia.

## I. SUMMARY

**Introduction:** Dry eye syndrome (DES), also known as keratoconjunctivitis sicca, is a disorder originated by multiple causes and characterized because the eye is not capable of producing enough tear, or it is of poor quality. Autologous serum (AS) eye drops, produced through the separation of liquid and cellular components from the patient's blood, contains biological nutrients from natural tears. The aim of the study was to analyse changes in conjunctival impression cytology (CIC) with transfer and lachrymal stability and flow tests after treatment with AS in patients with DES.

**Methods:** CIC and lacrimal flow and stability (Schirmer's test and tear break-up time test (BUT)) were prospectively studied in patients with DES before and after one month of AS treatment.

**Results:** Twenty-four patients were included (23 women, mean age = 53.8 ± 12.6 years); 10 patients (41.7%) had moderate DES and 6 (25.0%) had severe DES; 5 patients had rheumatoid arthritis. After treatment, the number and density of conjunctival goblet cells (GC), their size, the size of the nucleus and the nucleus/cytoplasm relation increased significantly ( $202.3 \pm 107.5$  vs.  $210.1 \pm 100.9$  cells / mm<sup>2</sup>,  $p < 0.01$ ). In 7 out of 10 patients with metaplasia grade 3 or 4 an improvement in the degree of metaplasia was noted. The Schirmer and BUT tests improved significantly. In the multivariate study, the increase in conjunctival GC was associated with the number of GC and size of the cytoplasm at baseline. No adverse reactions were noted.

**Conclusions:** Treatment with AS 20% eye drops one month is well tolerated and is associated with improvement in CIC with transfer increasing the density of the GC. The improvement is more evident in patients with more severe DES.

**Key words:** Dry Eye Syndrome; Autologous Serum; Conjunctival Impression Cytology; Goblet Cells; Squamous Metaplasia.

**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla I.</b>	Clasificación etiológica de la enfermedad del ojo seco	17
<b>Tabla II.</b>	Clasificación histopatológica de la enfermedad del ojo seco o ALMEN	18
<b>Tabla III.</b>	Esquema para la clasificación clínica de la enfermedad del ojo seco	19
<b>Tabla IV.</b>	Grado de metaplasia escamosa de las células epiteliales de la conjuntiva y córnea de menor a mayor afectación	24
<b>Tabla V.</b>	Relación comparada de las concentraciones de los principales factores epiteliotróficos encontrados en la lágrima basal y el suero autólogo	28
<b>Tabla VI.</b>	Principales acciones de las sustancias presentes en el suero autólogo a nivel de la superficie ocular	28
<b>Tabla VII.</b>	Protocolo de elaboración, dispensación y posología del colirio de suero autólogo en el Complejo Asistencial de Segovia	63
<b>Tabla VIII.</b>	Distribución de pacientes según género	68
<b>Tabla IX.</b>	Análisis descriptivo de la variable edad	69
<b>Tabla X.</b>	Distribución de pacientes según la clasificación clínica de la enfermedad del ojo seco	70
<b>Tabla XI.</b>	Patología asociada a la enfermedad del ojo seco de los pacientes del estudio	71
<b>Tabla XII.</b>	Comparación de las principales variables de interés obtenidas en la citología de impresión antes y después del tratamiento	72
<b>Tabla XIII.</b>	Comparación de los tests de Schirmer y de BUT antes y después del tratamiento con suero autólogo	79
<b>Tabla XIV.</b>	Comparación del grado de metaplasia escamosa antes y después del tratamiento con colirio de suero autólogo	80
<b>Tabla XV.</b>	Correlaciones de las variables cuantitativas de las células caliciformes antes y después del tratamiento con colirio de suero autólogo	81
<b>Tabla XVI.</b>	Correlación entre la variable principal número de células	85

caliciformes antes del tratamiento y resto de variables obtenidas en la citología de impresión conjuntival por transferencia después del tratamiento

<b>Tabla XVII.</b>	Modelo de regresión lineal múltiple obtenido con las variables de la citología de impresión conjuntival por transferencia después del tratamiento con colirio de suero autólogo	87
<b>Tabla XVIII.</b>	Variaciones en las distintas fases de elaboración, dispensación y almacenaje del colirio de suero autólogo	101
<b>Tabla XIX.</b>	Diferencias en cuanto a metodología de elaboración y dispensación del colirio de suero autólogo en diferentes publicaciones	101
<b>Tabla XX.</b>	Ensayos clínicos investigando el empleo del colirio de suero autólogo en el tratamiento de la enfermedad del ojo seco	102
<b>Tabla XXI.</b>	Concentraciones de los principales factores de crecimiento y proteínas de adhesión en voluntarios sanos entre suero autólogo, plasma rico en plaquetas y plasma rico en factores de crecimiento	107

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Esquema de los mecanismos de restauración tisular	2
<b>Figura 2.</b>	Capas de la lágrima	13
<b>Figura 3.</b>	Anatomía del aparato lagrimal	14
<b>Figura 4.</b>	Clasificación de la enfermedad del ojo seco	16
<b>Figura 5.</b>	Pruebas de diagnóstico de la enfermedad del ojo seco	20
<b>Figuras 6-11.</b>	Pasos para la realización de la citología de impresión conjuntival por transferencia	56-57
<b>Figuras 12-34.</b>	Diferentes momentos del proceso de realización del colirio de suero autólogo en el Complejo Asistencial de Segovia	58-62
<b>Figura 35.</b>	Distribución de los pacientes según el género	68
<b>Figura 36.</b>	Histograma de la distribución de la edad de los pacientes	69
<b>Figura 37.</b>	Clasificación clínica de la enfermedad del ojo seco de los pacientes del estudio	70
<b>Figura 38.</b>	Patología asociada a la enfermedad del ojo seco de los pacientes del estudio	71
<b>Figura 39.</b>	Variación del número de células caliciformes antes y después del tratamiento con colirio de suero autólogo	73
<b>Figura 40.</b>	Variación de la media de células caliciformes antes y después del tratamiento con colirio de suero autólogo	73
<b>Figura 41.</b>	Variación del tamaño de las células caliciformes antes y después del tratamiento con colirio de suero autólogo	74
<b>Figura 42.</b>	Comparación del tamaño de las células caliciformes antes y después del tratamiento con colirio de suero autólogo	74
<b>Figura 43.</b>	Variación del tamaño del núcleo de las células caliciformes antes y después del tratamiento con colirio de suero autólogo	75
<b>Figura 44.</b>	Comparación del tamaño del núcleo de las células caliciformes antes y después del tratamiento con colirio de suero autólogo	75

- |                   |   |       |
|-------------------|---|-------|
| <b>Figura 45.</b> | Cambios histológicos en la citología de impresión conjuntival por transferencia en algunos pacientes antes y después del tratamiento con colirio de suero autólogo  | 76-77 |
| <b>Figura 46.</b> | Variación en la media del número de células caliciformes tras el tratamiento con suero autólogo según el número basal de células caliciformes obtenida por citología de impresión conjuntival por transferencia | 78    |
| <b>Figura 47.</b> | Correlación entre la variable principal (número de células caliciformes) y el resto de covariables  | 82-83 |

**ÍNDICE DE ABREVIATURAS**

- AR: Artritis Reumatoide
- BMP: Proteínas Morfogenéticas del Hueso
- BSS: Suero Salino Balanceado
- BUT: Tiempo de Ruptura de la Película Lagrimal
- DED: Enfermedad del Ojo Seco (Dry Eye Disease)
- DEP: Defectos Epiteliales Persistentes
- DEWS: Dry Eye WorkShop
- DHA: Ácido Docosahexaenoico
- EGF: Factor de Crecimiento Epitelial
- EICH: Enfermedad Injerto Contra Huésped
- FC: Factores de Crecimiento
- FDA: Food and Drug Administration
- FGF: Factor de Crecimiento de Fibroblastos
- FGFR1: Receptor del Factor de Crecimiento de Fibroblastos 1
- FR: Factor Reumatoide
- GESOC: Grupo Español de Superficie Ocular y Córnea
- IC: Intervalo de Confianza
- IG: Inmunoglobulinas
- IGF-1: Factor de Crecimiento Insulina Tipo 1
- IL: Interleuquina
- MA: Membrana Amniótica
- MR: Medicina Regenerativa
- NGF: Factor de Crecimiento Neuronal

- OSDI: Ocular Surface Disease Index
- PAS: Ácido Peryódico de Schif
- PDGF: Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas
- PRGF: Plasma Rico en Factores de Crecimiento
- PRP: Plasma Rico en Plaquetas
- RLM: Regresión Lineal Múltiple
- RPM: Revoluciones Por Minuto
- SA: Suero Autólogo
- SCU: Suero de Cordón Umbilical
- SH: Suero Heterólogo
- SS: Síndrome de Sjögren
- TGF- $\beta$ : Factor de Crecimiento Transformante Beta
- $\alpha$ -SMA: Actina  $\alpha$  del Músculo Liso

## ***II. INTRODUCCIÓN***

## II. INTRODUCCIÓN

La **Medicina Regenerativa (MR)** es una rama de la Medicina que tiene como objetivo **generar estrategias terapéuticas destinadas a restaurar la función de los órganos y/o tejidos**. Supone una nueva forma de terapia para pacientes con enfermedades agudas o crónicas en la función tisular.<sup>1,2</sup>

La trascendencia de esta nueva forma de terapia ha sobrepasado los límites del debate científico y ha generado un importante debate ético y mediático, que ha llevado a las autoridades gubernamentales a legislar su contenido y ámbito de aplicación. Actualmente, estas normas se recogen en el Real Decreto-ley 9/2014, de 4 de julio, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos. **(BOE» núm. 163, de 05/07/2014)**.

### 2.1 FUNDAMENTOS DE LA MEDICINA REGENERATIVA

La MR está basada en la **simulación de los mecanismos biológicos necesarios para la regeneración tisular**. Estos mecanismos son **intrínsecos** a los tejidos y su conocimiento es básico para el desarrollo de este tipo de terapias, precisando del esfuerzo conjunto de profesionales pertenecientes a varias disciplinas como Medicina, Biología, Química, Ingeniería, etc.

Ante una agresión o pérdida tisular, el organismo va a responder con un proceso de restauración del tejido afectado. Esta restauración puede dar como resultado un tejido original, proceso conocido como **reparación** o, por el contrario, la restauración puede originar un tejido similar al original, denominándose en este caso **regeneración** (figura 1). Las técnicas de MR van encaminadas a procurar la regeneración tisular guiada. La capacidad de regeneración es intrínseca al propio tejido y sus mecanismos son similares en casi todos ellos, precisando unos **sistemas de anclaje**, que sirven de guía a las células, y de unas **señales reguladoras del metabolismo** que forman parte del denominado microambiente tisular y que controlan los procesos de

proliferación, diferenciación y migración celular así como la formación de matriz extracelular.



Figura 1. Esquema de los mecanismos de restauración tisular.

Fisiológicamente existen tres **mecanismos de regeneración** tisular:

- **Hiperplasia compensadora**, mediante el aumento de la mitosis celular, para mantener o restaurar la masa tisular.
- **Activación de las células madre**, mediante la producción, maduración y diferenciación de las células progenitoras; como es el caso de los epitelios, los endotelios, el tejido conectivo y las células hematopoyéticas.
- **Producción de células madre por dediferenciación de células adultas**, mecanismo por el cual las células adultas pierden sus características fenotípicas y se transforman en células madre, recuperando parte del potencial biológico que tenían previamente. Estos mecanismos de dediferenciación celular están íntimamente relacionados con los mecanismos que promueven la oncogénesis, jugando el **factor p53** un importante papel en ambos procesos y siendo este carácter oncogénico el principal factor limitante para la utilización clínica de estas células<sup>3</sup>.

Los **fibroblastos** juegan un papel primordial en los procesos de reparación tisular. Los fibroblastos son las células más comunes y menos especializadas del tejido conectivo. Su gran capacidad para diferenciarse a

otros fenotipos celulares más especializados ha sido ampliamente utilizada en MR.<sup>3,4</sup> Los fibroblastos son los responsables de la formación de la matriz extracelular, una estructura imprescindible para mantener la integridad del tejido conectivo y que proporciona un soporte, en forma de entramado, que resulta fundamental en la reparación de las heridas. Estas células sintetizan todos los elementos que integran la matriz extracelular, como colágeno (sobre todo las fibras de colágeno tipo I), proteoglicanos y glucosaminoglicanos de la sustancia amorfa, proteínas fibrosas como la fibronectina y laminina, y fibras elásticas como la elastina.

Los fibroblastos tienen una gran importancia durante la cicatrización y reparación de las heridas al migrar hacia la zona lesionada y proliferar, aumentando la producción de matriz extracelular para reparar el defecto tisular. Se trata de células morfológicamente muy heterogéneas según su localización y actividad. Podemos distinguir varios tipos o estados de diferenciación, que son regulados por señales específicas del microambiente que les rodea:

- **Fibrociitos.** Son fibroblastos relativamente quiescentes pero, en condiciones normales, son los responsables de la formación y mantenimiento de la matriz extracelular. Son células con poca capacidad para dividirse y sin actividad contráctil.
- **Fibroblastos.** Son células más activas con una mayor producción de matriz extracelular. Presentan un importante citoesqueleto de microtúbulos y microfilamentos de actina que les permite la movilidad celular.
- **Miofibroblastos.** Los miofibroblastos son una subpoblación de fibroblastos que presentan características intermedias entre los fibroblastos y las células de músculo liso. Por un lado, son células formadoras de matriz extracelular y por otro presentan características contráctiles y expresan la actina  $\alpha$  del músculo liso ( $\alpha$ -SMA).<sup>5,6</sup>

## 2.2 ESTRATEGIAS DE LA MEDICINA REGENERATIVA

Basándonos en estos principios fisiológicos, la MR utiliza tres tipos de estrategias para la reparación o regeneración de los tejidos:

### 2.2.1 INDUCCIÓN QUÍMICA O BIOLÓGICA

Representa el área de la MR que más impacto ha tenido en la actualidad.<sup>7</sup> Muchos agentes tópicos han sido utilizados en Medicina, por su eficacia en acelerar la reparación tisular de las heridas.<sup>8</sup> Moléculas como la angiotensina, ácido retinoico, aminoácidos como la L-arginina, factores solubles como citoquinas o interleuquinas (IL), derivados de purinas sintéticas, preparados sintéticos de matriz extracelular (Alloderm<sup>®</sup>, Integra<sup>®</sup>) y **Factores de Crecimiento (FC)** han sido utilizados para estimular la función y producción de células endógenas.<sup>9,10</sup> De todos ellos, los FC son los más importantes.

#### A. FACTORES DE CRECIMIENTO (FC)

Los FC, son un conjunto de sustancias mayoritariamente de naturaleza proteica, cuya **función es regular una gran variedad de procesos celulares** como la **proliferación** y el **metabolismo celular**, la **quimiotaxis**, **migración y diferenciación dirigida**, y la **producción de matriz extracelular**. Estos FC juegan un importante papel en la reparación tras agresiones tisulares, de ahí su importancia en MR así como en Oncología experimental, siendo muy útil el estudio de estas moléculas reguladoras en el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de algunas neoplasias.<sup>10</sup>

Los FC están **presentes en casi todos los tejidos** y son producidos por la mayoría de las células, pero sobre todo por **fibroblastos, células endoteliales y leucocitos (monocitos y macrófagos)**, almacenándose en la **médula ósea y en las plaquetas**. Se suelen sintetizar en forma de moléculas precursoras, o profactores, que posteriormente son procesados por enzimas proteolíticas para completar la síntesis de la molécula madura que interacciona con receptores específicos de la membrana celular. Su efecto es multifuncional, dependiendo de la célula diana sobre la que actúan, de su estado fisiológico, de su relación con otras células y con la matriz extracelular y de la presencia de

otros FC. La mayoría de los FC, actúan de forma local (paracrina, autocrina o yuxtacrina), pero también pueden actuar a distancia.

Según su especificidad celular, podemos diferenciar entre:

- **Factores selectivos** como la interleuquina (IL)-2 y la eritropoyetina, **que actúan sobre células muy específicas**; y,
- **Factores no selectivos** como el Factor de Crecimiento Epitelial (EGF) y el Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGE), **que actúan sobre una gran variedad de células**.

### 2.2.2 TRASPLANTES CELULARES

La **terapia con células madre** se ha propuesto como solución a múltiples problemas clínicos que van desde la reparación estructural o reemplazo de los tejidos dañados, hasta la restauración fisiológica de los defectos funcionales o metabólicos de los mismos.<sup>11</sup> Estas terapias celulares están basadas en la capacidad de respuesta de las células madre y su versatilidad para proliferar y diferenciarse en distintas líneas celulares según el microambiente que las rodea.<sup>12</sup> Podemos definir una **célula madre** como aquella **célula indiferenciada y no especializada que de forma indefinida puede diferenciarse a determinadas líneas celulares**.<sup>13</sup> Las células madre pueden clasificarse según su capacidad de diferenciación o según su origen.

**A.** Según su **Capacidad de Diferenciación**, las podemos clasificar en:

- **Células totipotenciales.** Capaces de diferenciarse en cualquier tejido, ya sea embrionario o extraembrionario (placenta y anejos). Se obtienen de embriones en la fase de blastocisto.
- **Células pluripotenciales.** Capaces de diferenciarse a células de cualquier tejido adulto. Se aíslan del embrión antes de implantarse.
- **Células multipotenciales.** Capaces de diferenciarse a cualquier tejido adulto, pero dentro de una misma capa embrionaria (endodermo, mesodermo y ectodermo). Se aíslan en tejidos adultos, cordón umbilical, líquido amniótico y placenta.

**B.** Según su **Origen**, las podemos clasificar en:

- **Células madre embrionarias.** Son células pluripotenciales, con una gran capacidad regenerativa y un cariotipo normal. No expresan niveles de antígenos HLA clase II y muy bajos niveles de antígenos HLA clase I. Son células con una importante capacidad cancerígena y su utilización en clínica plantea muchos problemas éticos.<sup>14,15</sup>
- **Células madre gonadales.** Son pluripotenciales, con gran capacidad regenerativa y fáciles de expandir aunque difíciles de extraer. Aunque se obtienen de la cresta gonadal en fetos de entre 5-10 semanas, al igual que las anteriores, su utilización plantea numerosos problemas éticos y tienen importante capacidad cancerígena.
- **Células madre adultas.** Son multipotenciales y tienen menor capacidad de regeneración que las anteriores aunque son más fáciles de obtener y de expandir. Son las células madre más utilizadas en MR y se encuentran en múltiples tejidos como la médula ósea, músculo esquelético, epidermis, intestino, testículo, hígado, sistema nervioso central, corazón y tejido adiposo. Dentro de las células madre adultas tenemos que destacar, por su importancia, a las **células madre mesenquimales**. Estas células se encuentran en la médula ósea, en el tejido adiposo, en la sangre y el cordón umbilical.
- **Células madre del líquido amniótico, placenta y cordón umbilical.** Son pluripotentes, expresando marcadores y características comunes a células embrionarias y adultas. Presentan una buena capacidad regenerativa y son fáciles de obtener y expandir, aunque su utilización plantea problemas éticos.<sup>16,17</sup>

### 2.2.3 TRASPLANTE DE TEJIDOS Y ÓRGANOS ARTIFICIALES

La obtención de tejidos y órganos artificiales supone, actualmente, el mayor reto para la MR por la falta de órganos para todas las personas que necesitan un trasplante, motivo que ha impulsado el desarrollo de esta forma de terapia que ofrece prometedoras expectativas.

La utilización de **células madre**, sobre todo las mesenquimales, junto con el mejor conocimiento de sus interacciones con la matriz extracelular y los factores biológicos presentes en el microambiente, así como la mejora en los

sistemas de anclaje con la utilización de biomateriales sintéticos de tercera generación (hidrogeles) ha permitido el **desarrollo de tejidos artificiales**.<sup>18,19</sup> Éstos pueden ser **autólogos**, generados a partir de células del propio paciente, o **alogénicos**, sintetizados a partir de células de donante. Los tejidos autólogos representan la mejor opción para reparaciones tisulares permanentes,<sup>20</sup> pero se precisan al menos dos semanas para disponer de estos tejidos. En casos de defectos estructurales pasajeros o agudos se pueden utilizar tejidos alogénicos ya preparados y listos para su uso. Estos tejidos alogénicos acabarán siendo inmunológicamente rechazados por el receptor, pero nos permiten una adecuada aproximación terapéutica durante la fase aguda de procesos como quemaduras, estimulando la regeneración del tejido propio y dando tiempo para utilizar tejidos autólogos si fuera preciso.<sup>19,21</sup>

## 2.3 MEDICINA REGENERATIVA EN OFTALMOLOGÍA

El empleo del **Suero Autólogo (SA)**, también forma parte de la MR. El **colirio de SA**, producido por medio de la **separación de los componentes líquidos y celulares de la sangre del paciente, posee nutrientes biológicos de las lágrimas naturales**. Tiene efectos sobre la superficie ocular que vienen determinados por sus numerosas propiedades biológicas. El SA presenta unas características muy similares a la lágrima en cuanto a pH y osmolaridad. Al igual que ésta, contiene abundantes FC, factores neurotróficos y moléculas con acción antibacteriana que determinan que el tratamiento con colirio de SA no solo humidifique la superficie ocular sino que además, aporte factores nutricionales y de crecimiento necesarios para mantener la viabilidad celular. Además contiene componentes bactericidas que reducen el riesgo de contaminación e infección.<sup>22,23</sup>

El **colirio de SA** ha sido utilizado con mayor o menor éxito en el manejo de numerosos **procesos que afectan a la superficie ocular**, y sobre todo a nivel de alteraciones en la córnea. Entre estos, cabe destacar su aplicación en el tratamiento de:

### 2.3.1 DEFECTOS EPITELIALES PERSISTENTES (DEP) PRODUCIDOS POR DIVERSAS ETIOLOGÍAS

En estos pacientes se ha visto cómo la terapia con SA reduce considerablemente la duración de los DEP.<sup>24,25</sup>

### 2.3.2 MANEJO DE LA QUERATOPATÍA NEUROTRÓFICA

La utilización del colirio de SA en el tratamiento de la queratopatía neurotrófica permitió la cicatrización completa del defecto epitelial.<sup>26,27</sup>

### 2.3.3 EROSIONES CORNEALES RECURRENTES

En estos pacientes se ha visto cómo la aplicación de SA disminuye la tasa de recurrencias.<sup>28</sup>

### **2.3.4 CIRUGÍAS DE RECONSTRUCCIÓN**

La aplicación de colirio de SA se ha asociado en ocasiones a cirugías de reconstrucción de la superficie ocular, como trasplante de limbo, trasplante de membrana amniótica (MA), queratopatía penetrante en pacientes con síndrome de Stevens-Johnson o penfigoide ocular cicatricial, contribuyendo a mejorar la estabilidad del epitelio corneal.<sup>29</sup>

### **2.3.5 AGUJERO MACULAR RETINIANO**

El SA ha sido también utilizado en la cirugía de agujero macular.<sup>30</sup>

### **2.3.6 COMPLICACIONES POSTOPERATORIAS DE LA CIRUGÍA FILTRANTE DEL GLAUCOMA**

El colirio de SA se ha llegado a emplear en cirugía del agujero macular, para cubrir el defecto y pretender una reproliferación, generalmente gliótica, en el hueco del agujero, con el objetivo de cerrarlo anatómicamente.<sup>30</sup>

### **2.3.7 POSTOPERATORIO DE PACIENTES CON PTERIGION**

La aplicación del colirio de SA durante un mes en pacientes a los que se ha extirpado un pterigion reduce la tasa de recidivas y los pacientes refieren una importante mejoría sintomática con su utilización.<sup>31</sup>

### **2.3.8 TRATAMIENTO DE LA QUERATOPATÍA ASOCIADA A LA ANIRIDIA**

Algunos centros han encontrado que el 95% de los pacientes con esta patología y tratados con SA presentaron una mejoría clínica significativa tras el tratamiento, en relación a terapias previas con lágrimas artificiales. El SA favoreció la epitelización y la estabilidad de la película lagrimal en un 92% de los pacientes, presentando pocos efectos sobre la formación de nuevos vasos sanguíneos y sobre la transparencia de la córnea.<sup>31</sup>

### 2.3.9 MANEJO DEL OJO SECO ASOCIADO A ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED (EICH)

En estos pacientes se encuentra una mejoría clínica subjetiva muy rápida siendo algo más lenta la desaparición de signos como la queratopatía punteada.<sup>32</sup>

### 2.4 ENFERMEDAD DEL OJO SECO (DED)

La **definición actual** de la DED (del inglés Dry Eye Disease) según el Subcomité de definición y clasificación de TFOS DEWS II es: ***"El ojo seco es una enfermedad multifactorial de la superficie ocular, que se caracteriza por una pérdida de la homeostasis de la película lagrimal y que va acompañada de síntomas oculares, en la que la inestabilidad e hiperosmolaridad de la superficie ocular, la inflamación y daño de la superficie ocular, y las anomalías neurosensoriales desempeñan papeles etiológicos."***<sup>33</sup>

La terminología utilizada en la definición, incluida la dicción, el orden de las palabras, el énfasis y el significado aceptado, se consideraron críticos al crear una definición internacionalmente aceptada adecuada para la traducción a múltiples idiomas. Los términos individuales se describen a su vez:

#### **- Multifactorial**

El informe DEWS de 2007 reconoció que el ojo seco es una enfermedad compleja y multifactorial que no puede caracterizarse por un solo proceso, signo o síntoma. En términos médicos, multifactorial se describe como que tiene, o se deriva de una serie de diferentes causas o influencias interactuantes, como es el caso en la DED.

#### **- Enfermedad**

Desde 2007, la definición ha reconocido el ojo seco como una enfermedad. Aunque las definiciones de "enfermedad" varían, generalmente se entiende que es un trastorno de estructura o función o una condición de enfermedad que produce signos o síntomas específicos. Desde la perspectiva de la atención al paciente, además de proporcionar una apreciación global del ojo seco como una entidad con implicaciones patológicas y de calidad de vida,

se consideró importante retener el término "enfermedad" en la definición.

#### **- Superficie ocular**

La superficie ocular se define como la que comprende las estructuras del ojo y los anexos, incluida la córnea, la conjuntiva, los párpados, las pestañas, la película lagrimal, las glándulas lagrimales principal y accesorias y las glándulas de Meibomio. Por lo tanto, las lágrimas, tanto en términos de los componentes individuales en el sitio de producción, como en forma de película en la superficie ocular, se incluyen dentro del término "superficie ocular".

#### **- Homeostasis de la película lagrimal**

La película lagrimal tiene un papel vital en la lubricación y protección de la superficie ocular, así como en el mantenimiento de una superficie lisa y refractiva para un rendimiento visual óptimo. Fisiológicamente, la homeostasis describe el estado de equilibrio en el cuerpo con respecto a sus diversas funciones y a la composición química de los fluidos y tejidos. Cuando se aplica a la DED, el concepto de homeostasis de la película lagrimal alterada reconoce la posibilidad de los muchos cambios diferentes que pueden ocurrir en la película lagrimal y la superficie ocular, en respuesta a una o más de las causas subyacentes de la DED. La interrupción de la homeostasis se considera la característica unificadora que describe el proceso fundamental en el desarrollo de la DED.

#### **- Síntomas**

La definición de DED de 1995 identificó las molestias como la principal respuesta sintomática asociada con el ojo seco, y la definición de 2007 amplió el concepto de síntomas para incluir trastornos visuales. Si bien la terminología varía según el idioma y entre las diferentes culturas. Los síntomas oculares siguen siendo un componente fundamental de la DED. El informe original de TFOS DEWS mantuvo la "incomodidad" como un término dentro de la definición, pero amplió el concepto de síntomas para incluir la alteración visual, en reconocimiento de la falta de definición transitoria informada por los individuos afectados que correspondía con la calidad de la superficie lagrimal. TFOS DEWS II reconoce que tanto la incomodidad como los síntomas de alteración visual siguen siendo fundamentales para la DED, pero para evitar restricciones y maximizar la relevancia en todo el mundo, ha elegido la frase "...

acompañado de síntomas oculares" para la definición actual, para abarcar un rango más amplio de posibles síntomas asociados con la DED.

#### - Papel etiológico

El término "rol etiológico" enfatiza el concepto de una vía involucrada, sin sugerir que las características específicas se consideren resultados de medición o elementos de diagnóstico requeridos.<sup>33</sup>

La **DED**, también llamada, **Queratoconjuntivitis Seca**,<sup>34</sup> es una afección muy frecuente, y su **etiología** puede deberse a:

1. Producción insuficiente de lágrima
2. Producción de lágrimas de baja calidad.

No siempre existe una causa reconocible de la DED. Su **prevalencia** aumenta con la edad, y es más frecuente en mujeres menopáusicas, en relación a los cambios hormonales. Otros factores de riesgo son el uso de lentes de contacto, algunas cirugías oculares (fundamentalmente el LASIK), empleo de pantallas de visualización y algunos fármacos como antidepresivos, ansiolíticos, antihistamínicos, diuréticos, etc.<sup>33</sup>

En algunas ocasiones, se puede identificar alguna **patología sistémica** que produce la DED, como es el Síndrome de Sjögren (SS) (asocia además sequedad en boca y otras mucosas), la artritis reumatoide (AR) u otras enfermedades autoinmunes.

Los **signos y síntomas** de la DED suelen afectar a ambos ojos, y los más frecuentes son los siguientes:

1. Irritación
2. Ardor
3. Sensación de sequedad
4. Sensación de cuerpo extraño
5. Ojo lloroso, con aumento del lagrimeo. Esto se produce como consecuencia de la hiperproducción refleja de lágrima cuando, por mala calidad, la existente no protege la superficie ocular.

6. En algunos casos, puede dificultar la visión (visión borrosa, visión doble), mejorando tras el parpadeo repetido. Este síntoma, así como las molestias tipo arenilla, son frecuentes tras la lectura prolongada o uso del ordenador.

La mayoría de los síntomas de la DED aumentan a lo largo del día, siendo más intensos por la tarde-noche.

#### 2.4.1 COMPOSICIÓN Y FUNCIONES DE LA LÁGRIMA

La lágrima se produce de manera continua en las glándulas lagrimales situadas encima del globo ocular. Su misión principal es: lubricar el ojo, mantener limpia la córnea y arrastrar cualquier cuerpo extraño hacia el saco y el conducto nasolagrimal, para ser luego expulsado al exterior por las fosas nasales.

La lágrima está **compuesta** por tres capas:

1. **Capa Lipídica:** secretada principalmente por las glándulas de Meibomio, que se encarga de evitar la evaporación de la misma.
2. **Capa Acuosa:** Representa el 99,78% de la lágrima. Se secreta por la glándula lagrimal principal y accesorias.
3. **Capa Mucosa:** Es la capa que está en contacto con el epitelio corneal. En esta capa se forma un gel rico en hidratos de carbono, producido por las células caliciformes o de Goblet, que posteriormente se disuelve progresivamente en la parte acuosa (figuras 2 y 3).

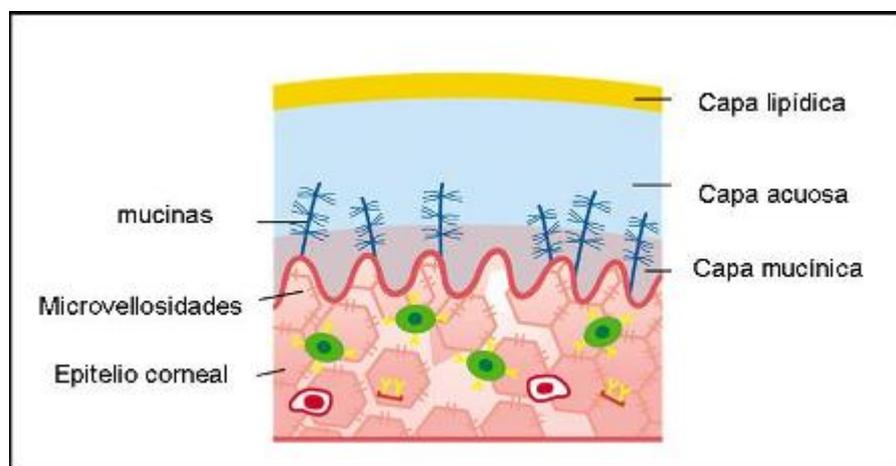


Figura 2. Capas de la lágrima..

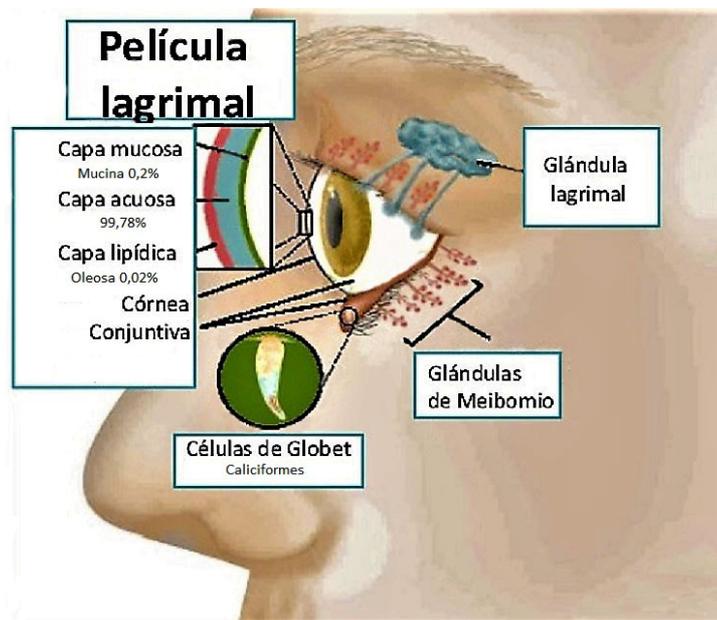


Figura 3. Anatomía del aparato lagrimal.

La lágrima es una película fluida que recubre toda la superficie ocular (córnea y conjuntiva). Tiene como funciones:

- Evitar la desecación corneal.
- Mantener el poder de refracción del ojo. Puesto que la película lagrimal precorneal representa la superficie del conjunto óptico de mayor potencia refractiva del ojo. Una disrupción de la película lagrimal afectará a la Agudeza Visual.
- Favorecer los mecanismos de defensa inmunológica contra las infecciones oculares.
- Potenciar la penetración del oxígeno en la córnea (nutrición de la misma).

La lágrima tiene gran importancia en el mantenimiento de las interacciones dinámicas que existen entre las diferentes estructuras que integran la superficie ocular.<sup>35</sup> Además de su **función óptica y lubricante**, tiene gran importancia a nivel **metabólico y antimicrobiano**, al actuar como vehículo de moléculas que van a regular la estabilidad y viabilidad de los epitelios de la superficie ocular.

También aporta enzimas reguladoras y nutrientes como glucosa, oxígeno, agua y electrolitos necesarios para el metabolismo del epitelio corneal.

Por otro lado, la lágrima contiene altas concentraciones de proteínas estructurales como albúmina, lactoferrina o lisozima que mantienen las propiedades físicas de la película lagrimal, así como numerosas proteínas activas o funcionales, como los FC, vitaminas, inmunoglobulinas (IG) y neuropéptidos, que regulan los procesos de proliferación, migración y diferenciación de las células del epitelio corneal y conjuntival. Estas proteínas se sintetizan en la glándula lagrimal principal y en las glándulas accesorias de Krause y Wolfring, siendo posteriormente vertidas a la lágrima.<sup>36</sup> Además, la lágrima tiene **propiedades antimicrobianas** derivadas no sólo de su efecto barrera por barrido mecánico, por el cual elimina detritus, cuerpos extraños y microorganismos, sino que en la lágrima hay también IG, factores del complemento, linfocitos, macrófagos y enzimas como la lactoferrina, arilsulfatasa, peroxidasa y lisozima con efecto bacteriostático y bactericida.<sup>36</sup>

En la DED, muchas de estas sustancias están disminuidas, y esto contribuye a aumentar el daño sobre las células conjuntivales del ojo.<sup>37</sup>

#### 2.4.2 CLASIFICACIÓN DE LA DED

La DED se ha clasificado según la **estructura de la película lagrimal** afectada en: **deficiencia acuosa, mucosa o lipídica.**<sup>38</sup>

Posteriormente,<sup>34</sup> se realizó una clasificación más patogénica (Figura 4), clasificándola en:

1. **Ojo seco acuodeficiente** (disminución de la producción o fallo en el transporte de la lágrima).
2. **Ojo seco evaporativo** (alteración del parpadeo, de la apertura palpebral, de la superficie ocular, otros trastornos); y,
3. **Alteraciones combinadas.**

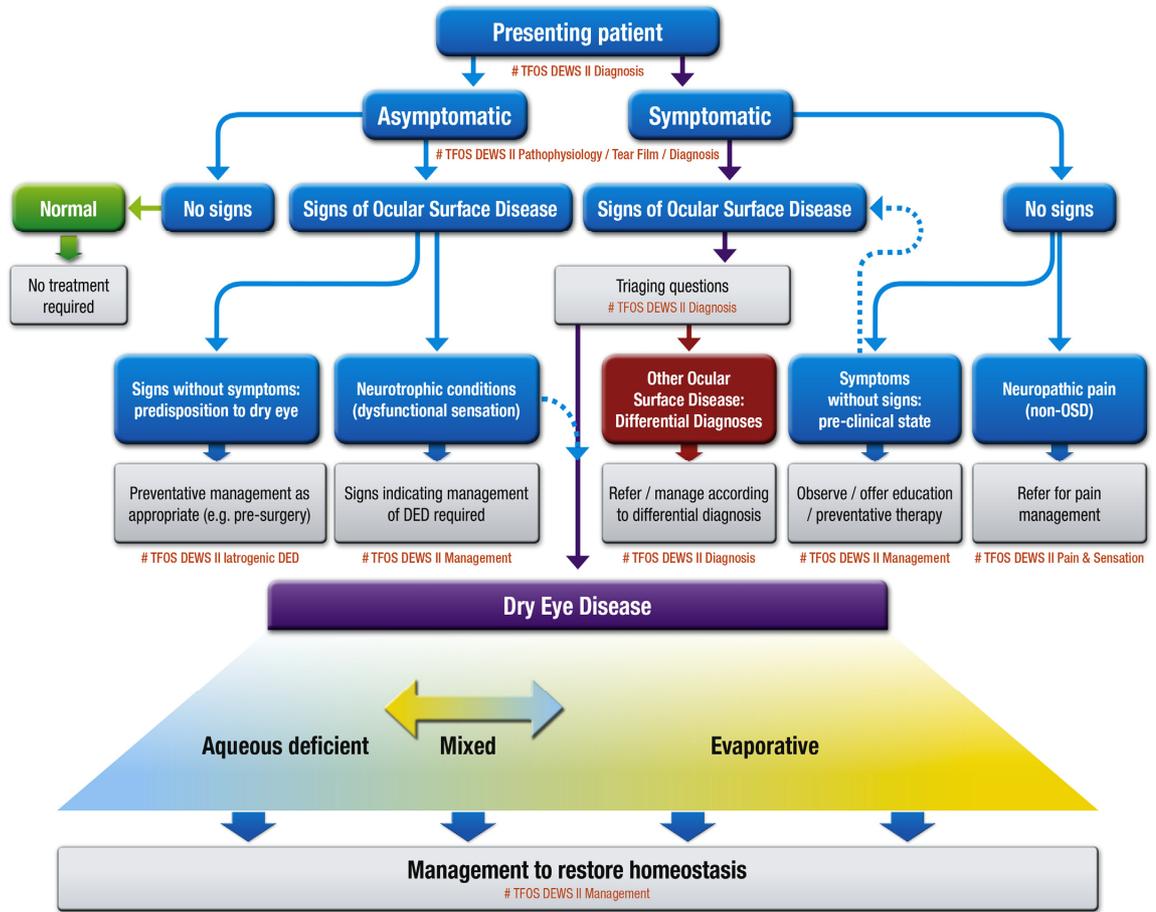


Figura 4. Clasificación de la Enfermedad del Ojo Seco (DED). Tomada de Craig JP et al.<sup>33</sup>

Para clasificar la DED también se recomienda la Clasificación de Madrid, propuesta por Murube et al.<sup>39</sup> que aborda la DED en tres ejes: según la **etiología**, la **histopatología** y la **gravedad**.

#### A. CLASIFICACIÓN DE LA DED SEGÚN SU ETIOLOGÍA

Las múltiples causas capaces de desarrollar una DED se pueden reunir en 10 grupos, en los que unos suelen afectar a glándulas exocrinas (ojos, nariz, boca, vagina, piel), mientras que otros, suelen afectar sólo a las glándulas de ambos ojos, de un solo ojo, o incluso a una sola variedad glandular de un ojo (tabla I).

TABLA I. Clasificación etiológica de la DED. <sup>39</sup>	
(pan-exocrinos) 1, 2, 3, 4, 5	(dacrio-exocrinos) 6, 7, 8, 9, 10
1. Etarios	6. Disgenéticos
2. Hormonales	7. Inflamatorios
3. Farmacológicos	8. Traumáticos
4. Inmunopáticos	9. Neurodeprivativos
5. Hiponutricionales	10. Tantálicos

#### B. CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA O «ALMEN» DE LA DED

Desde un punto de vista histopatológico, la DED se clasifica en **acuodeficiente** y **no acuodeficiente**. En la mayoría de los casos el déficit lacrimal se acompaña de déficit de otras glándulas exocrinas.

Todo ello se resume en la **clasificación «ALMEN»**, acrónimo donde la A representa la acuodeficiencia; la L, la lipodeficiencia; la M, la mucodeficiencia; la E, la epitelopatía; y la N, las exocrinopatías no oculares (Tabla II).

**TABLA II. Clasificación histopatológica de la DED o ALMEN.<sup>39</sup>**

<p style="text-align: center;"><b>Acuodeficiente</b> <b>Lipodeficiente</b> <b>Mucodeficiente</b> <b>Epiteliopático</b> <b>No ocular, exocrinodeficiente</b></p>
---

### **C. CLASIFICACIÓN CLÍNICA DE LA DED**

Desde un punto de vista clínico, y para establecer un pronóstico y tratamiento, la gravedad de la sequedad ocular definida por Murube et al.<sup>39</sup> fue modificada posteriormente según las recomendaciones de un subgrupo de expertos en la DED<sup>40</sup> y finalmente revisada por el Subcomité de definición y clasificación de TFOS DEWS II (Tabla III).<sup>33</sup>

**TABLA III. Esquema para la clasificación clínica de la DED.**<sup>33,39,40</sup>

Nivel de gravedad de la DED	1	2	3	4*
Incomodidad, gravedad y frecuencia	Leve y/o episódico; ocurre bajo estrés ambiental.	Episódico o crónico moderado, con o sin estrés	Frecuente o constante grave sin estrés	Severo y/o discapacitante y constante
Síntomas visuales	Ninguno o fatiga episódica leve	Episódico molesto y/o limitante	Molesto, crónico y/o constante, limitante	Constante y/o posiblemente discapacitante
Inyección conjuntival	Ninguno a leve	Ninguno a leve	+/-	+ / ++
Tinción conjuntival	Ninguno a leve	Variable	Moderado a marcado	Marcado
Tinción corneal (severidad/ubicación)	Ninguno a leve	Variable	Central marcado	Erosiones punteadas severas
Signos corneales/lagrimales	Ninguno a leve	Desechos leves ↓ menisco	Queratitis filamentosa, agregación de moco, ↑ desechos en las lágrimas	Queratitis filamentosa, agregación de moco, ↑ desechos en las lágrimas, ulceración
Párpado/Glándulas de Meibomio	MGD variablemente presente	MGD variablemente presente	Frecuente	Triquiasis, queratinización, simbléfaron
TBUT (seg)	Variable	≤10	≤5	Inmediato
Puntuación de Schirmer (mm/5 min)	Variable	≤10	≤5	≤2

\*Debe presentar signos y síntomas. TBUT: tiempo de ruptura lagrimal con fluoresceína. MGD: disfunción de la glándula de Meibomio. Reimpreso con permiso de Behrens A et al.<sup>40</sup>

### 2.4.3 DIAGNÓSTICO DE LA DED

La DED es una enfermedad multifactorial, crónica y a veces asintomática lo que la convierte en una patología difícil de estandarizar. Su diagnóstico está orientado a identificar las pruebas que permiten cumplir la definición de la enfermedad y los subtipos para orientar y monitorizar el tratamiento. Además, deben servir para realizar el diagnóstico diferencial y las comorbilidades (figura 5).<sup>33</sup>

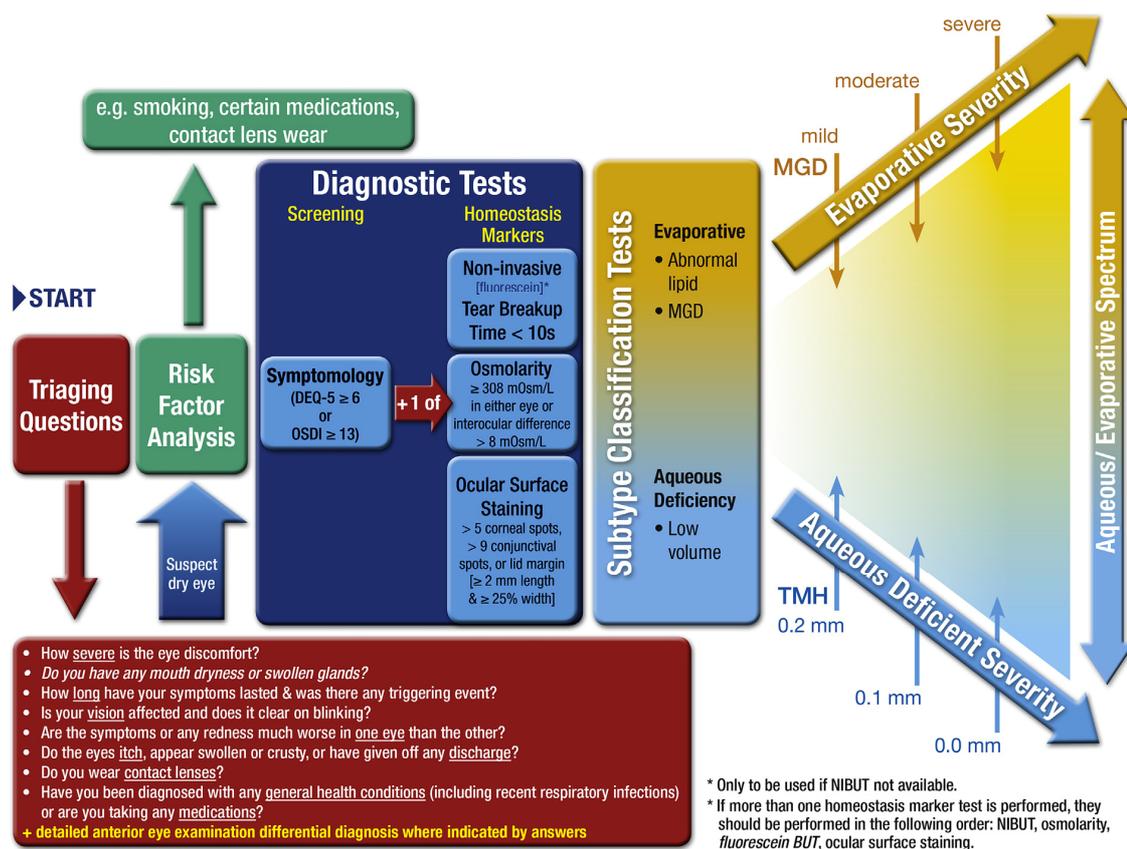


Figura 5. Pruebas de diagnóstico de la DED. Tomada de Craig JP et al.<sup>33</sup>

La secuencia de pruebas para el diagnóstico de ojo seco son:

1. Historia clínica y exploración de la superficie ocular:

Con la historia clínica enfocada a la patología de la superficie ocular, teniendo en cuenta los factores de riesgo y clasificación se puede realizar la aproximación diagnóstica en la gran mayoría de los pacientes.

2. Cuestionarios:

Los cuestionarios son de gran utilidad como ayuda diagnóstica y nos pueden servir para cuantificar la gravedad de la patología y la respuesta al tratamiento. Los más empleados son:

1. El **OSDI (Ocular Surface Disease Index)**: nos da información sobre la gravedad de la patología y la afectación de la visión.
2. **Cuestionario SANDE**: consiste en dos preguntas sobre la frecuencia y gravedad de los síntomas. Este cuestionario sirve para el diagnóstico de la enfermedad y también funciona como herramienta de monitorización del tratamiento.

3. **Pruebas no invasivas para el diagnóstico de la DED:**

### **A. Tiempo de ruptura lagrimal (BUT), o Break-up time<sup>41</sup>**

Mide el periodo de tiempo transcurrido entre un parpadeo y la primera aparición de un islote de desecación corneal. Para la realización de la prueba se instila una gota de fluoresceína en el fondo del saco conjuntival inferior. A continuación se observa al paciente en la lámpara de hendidura bajo la luz azul cobalto con objetivo de 16X y se mide el tiempo que pasa desde la apertura palpebral hasta la aparición del punto de sequedad. Este parámetro es un buen indicador de la inestabilidad de la película lagrimal, pero no aclara cuál es el factor deficitario. El **tiempo normal de ruptura de la película lagrimal** debe ser **superior a 10 segundos**. Tiempos iguales o menores a 10 segundos son considerados anormales.

### **B. Test de Schirmer**

Existen tres formas para la realización de este test:

1. **Test de Schirmer sin anestesia:** Consiste en colocar una tira de papel de filtro en la cuenca lagrimal, entre la mitad externa del párpado inferior y la conjuntiva bulbar del ojo. El paciente permanece parpadeando de forma normal durante 5 minutos. Durante la exploración no debe haber luces fuertes ni corrientes de aire. A los 5 minutos se retira la tira y se anotan los milímetros lineales humedecidos en la parte de tira no introducida tras el parpadeo. Se considera **normal un valor superior a 10 mm** de la tira.<sup>34,42</sup>
2. **Test de Schirmer con anestesia:** Se anestesia tópicamente la cuenca lagrimal y a continuación se colocan las tiras de papel. Schirmer consideró **normal mojar 15 mm o más**. La prueba mide la secreción basal incrementada por el reflejo trigeminal nasolacrimal.<sup>34,43</sup>
3. **Test de Schirmer con estimulación nasal:** Es de gran utilidad para distinguir pacientes con SS de aquéllos que no lo tienen. Los pacientes que no tienen SS presentan un considerable aumento en la secreción de la lágrima con la estimulación nasal. Prácticamente no hay cambios en los pacientes con SS. Una persona joven normal

humedece 15 mm de una tira de papel. Debido a que el hipolagrimeo se produce con el envejecimiento, el 33% de las personas normales de edad avanzada pueden humedecer sólo 10 mm en 5 minutos. Las personas con SS pueden humedecer menos de 5 mm en 5 minutos.<sup>34,43</sup>

### **C. Medida de la osmolaridad en lágrima**

Es una prueba que nos da información directa sobre los mecanismos patogénicos del ojo seco y se puede hacer con instrumentos comerciales.

### **D. Citología de impresión conjuntival (CIC)**

La CIC es una técnica mínimamente invasiva que permite determinar el grado de metaplasia escamosa de la superficie conjuntival. Fue utilizada por primera vez por Egbert et al.<sup>44</sup> siendo modificada posteriormente por otros autores de acuerdo con sus necesidades.

Es una técnica de diagnóstico en donde se recogen células de la superficie conjuntival por adhesión a un soporte, usualmente un filtro de material sintético microporoso. Estas células se procesan adheridas al soporte o una vez transferidas a un portaobjetos, en ambos casos con la finalidad de efectuar sobre ella análisis tincionales, histoquímicos u otro tipo de valoraciones. La **CIC por transferencia** es una nueva modalidad de CIC descrita por Minaya Martínez F.<sup>45</sup> que incluye una recogida celular de la conjuntiva y seguidamente utiliza un modo de transferencia a un portaobjetos. Este método parece igualar o superar la calidad de las muestras finales obtenidas por otros procedimientos, manteniendo a la vez una sencillez de aplicación y análisis suficientes para ser empleada la técnica en cualquier circunstancia y lugar, desde un ambulatorio hasta un centro de investigación.<sup>45</sup>

La CIC por transferencia nos permite realizar un examen citológico de las capas superficiales de células de la conjuntiva. Permite conocer la morfología celular y las alteraciones que en ella acontecen durante las enfermedades de la superficie ocular. Las muestras se

fijan, se tiñen y se estudian al microscopio, prestando una especial atención tanto a las células epiteliales conjuntivales, como al **número de células mucosectoras o células caliciformes (CC)**. La **CIC por transferencia** nos permite conocer el número de ambas células, así como al **área del citoplasma y núcleo de las células no-sectoras**, las alteraciones y tinción citoplásmicas, las **alteraciones nucleares** y la **relación entre las áreas nucleares y citoplásmicas** (ratio N:C) de las CC.

Si bien la queratinización es fácilmente reconocible mediante exámenes biomicroscópicos, la **metaplasia escamosa**, que es fenómeno anterior a la queratinización, puede ser demostrada mediante la CIC, lo que la convierte en una prueba de gran valor para descubrir la enfermedad en sus fases más tempranas, antes incluso de la aparición de ningún síntoma ni signo clínico. Tiene un alto valor diagnóstico y pronóstico, teniendo especial interés en patologías como el SS y en otras patologías inflamatorias, ya que permite evaluar la efectividad del tratamiento y la evolución de la enfermedad.

La CIC nos permite además valorar el grado de metaplasia escamosa de las células epiteliales de la conjuntiva y va paralelo a la gravedad de la enfermedad. Cabe destacar que su aplicación requiere personal entrenado tanto en la toma de muestras como en el procesamiento y evaluación.

Los **grados de metaplasia escamosa** que podemos encontrar, se presentan en la tabla IV:<sup>46</sup>

**TABLA IV. Grado de la metaplasia escamosa de las células epiteliales de la conjuntiva y la córnea de menor a mayor afectación.<sup>46</sup>**

<b>GRADO</b>	<b>AFECTACIÓN</b>
<b>Grado 0</b>	Conjuntiva: células caliciformes densidad >400 células/mm <sup>2</sup> , citoplasma PAS-positivo. Células epiteliales no-secretoras área 200-300 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:2-1:3. Córnea: área celular 300-350 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:3. Células conjuntivales y corneales unidas, citoplasma eosinófilo, núcleo redondo y sin alteraciones.
<b>Grado 1</b>	Conjuntiva: células caliciformes densidad 300-400 células/mm <sup>2</sup> , citoplasma PAS-positivo. Células epiteliales no-secretoras área 200-350 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:3-1:4. Córnea: área celular 300-400 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:4. Células epiteliales conjuntivales y corneales unidas, pero a veces aparecen algo separadas, citoplasma eosinófilo, núcleo normal.
<b>Grado 2</b>	Conjuntiva: células caliciformes densidad 200-300 células/mm <sup>2</sup> , citoplasma PAS-positivo. Células epiteliales no-secretoras, área 350-500 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:5. Córnea: área celular 500-1000 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:8. Células conjuntivales y corneales algo separadas, citoplasma eosinófilo, ocasionalmente binucleadas.
<b>Grado 3</b>	Conjuntiva: células caliciformes densidad 50-200 células/mm <sup>2</sup> , citoplasma débilmente PAS-positivo. Células epiteliales no-secretoras, área 500-900 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:10. Córnea: área celular 1000-1800 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:15. Células conjuntivales y corneales frecuentemente aisladas, citoplasma metacromático, núcleo alterado (binucleado, picnótico o anucleado).
<b>Grado 4</b>	Conjuntiva: células caliciformes, área 10-50 células/mm <sup>2</sup> , generalmente con citoplasma PAS-negativo. Células epiteliales no-secretoras área 900-1600 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:20. Córnea: área celular 1800-2500 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:20. Células conjuntivales y corneales aisladas, citoplasma basófilo, débil queratinización, núcleo picnótico o ausente.
<b>Grado 5</b>	Conjuntiva: células caliciformes área <10 células/mm <sup>2</sup> . Células epiteliales no-secretoras área >1600 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:30. Córnea: área celular >2500 μm <sup>2</sup> , ratio N:C 1:30. Células conjuntivales y corneales aisladas, queratinizadas, citoplasma basófilo, núcleo lítico o ausente.

#### 2.4.4 TRATAMIENTO DE LA DED

Existen una serie de **medidas generales** para mejorar los síntomas que causan la DED, como: evitar ambientes con humo, corrientes de aire, ambientes secos, aire acondicionado dirigido a la cara, etc. En algunos casos, tratar la causa de base, puede ayudar a mejorar los signos y síntomas de la DED.

Algunos tratamientos van dirigidos a revertir o controlar la enfermedad o el factor que esté causando la sequedad en los ojos. Otros tratamientos pueden mejorar la calidad de las lágrimas o evitar que éstas se drenen rápidamente. Entre ellos tenemos:

##### 1. Higiene palpebral

En muchas ocasiones, la DED va acompañada de blefaritis, lo que aumenta la inestabilidad de la lágrima y empeora los síntomas. La higiene palpebral en este caso, es fundamental. Aplicando calor local sobre los ojos, seguido de un suave masaje en el borde del párpado con una espuma, gel o toallita. Debe realizarse fundamentalmente por las mañanas.

##### 2. Tratamientos con lágrimas artificiales

Las lágrimas artificiales son el pilar del tratamiento convencional de la DED. La sola presencia del lubricante de la lágrima ayuda a resolver los pequeños defectos epiteliales en el caso de DED leve. No obstante, las lágrimas artificiales, por sí solas, generalmente no son suficientes para promover una adecuada reepitelización en el caso de DED moderada y/o grave. Por este motivo existen en el mercado, preparados comerciales de lágrimas enriquecidas (que incluyen componentes como FC, vitaminas o IG).

##### 3. Otros tratamientos tópicos

Si la sintomatología no se controla con las lágrimas artificiales, se pueden añadir otros colirios que han demostrado eficacia, como:

- La **Ciclosporina A tópica**: actúa como antiinflamatorio e inmunomodulador.

- **Vitamina A tópica:** Es un factor esencial para el crecimiento epitelial normal y su déficit puede provocar sequedad de la superficie ocular y queratinización en los casos más severos.
- **Ácidos grasos poliinsaturados:** Se ha demostrado los beneficios en el tratamiento de la DED, tras la ingesta de ácidos grasos omega-3 tipo ácido docosahexaenoico (DHA).<sup>47</sup>
- Ciclos cortos de **corticoides tópicos.**
- **Colirio de SA.**

#### 4. Otros tratamientos

Otra forma de tratamiento de la DED está enfocado a conservar la lágrima natural ya existente, mediante la colocación temporal de tapones lagrimales de silicona o gel en los conductos lagrimales, o el cierre de los conductos lagrimales de manera permanente.

### 2.5 SUERO AUTÓLOGO. PROPIEDADES EN EL TRATAMIENTO DE LA DED

El efecto beneficioso de la aplicación del SA en el tratamiento de paciente con DED se conoce desde 1984 gracias a los trabajos de Fox et al.<sup>48</sup> Sin embargo, el relativo desconocimiento de su mecanismo de acción a nivel de la superficie ocular limitó su utilización en la práctica clínica hasta finales de la década de los noventa cuando, gracias a los trabajos de Tsubota et al.<sup>49,50</sup> renace el interés por este tipo de terapia.

La utilización del SA en Oftalmología viene marcada por la necesidad de encontrar sustitutos lagrimales que, además de humidificar, aporten otros componentes presentes en la lágrima y que se encuentran disminuidos en casos de sequedad ocular.<sup>31</sup>

#### 2.5.1 DEFINICIÓN Y PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL SA

El colirio de suero autólogo (SA), producido por medio de la separación de los componentes líquidos y celulares de la sangre del paciente, posee nutrientes biológicos de las lágrimas naturales. El colirio de SA se utiliza para el

tratamiento de diferentes patologías del epitelio ocular, tales como: DED, queratitis neurotrófica, defectos epiteliales persistentes y erosión corneal recurrente entre otras. Se trata de un producto de uso individual, por lo que se considera una fórmula magistral, y en nuestro país su norma de elaboración está regulada por el **Real Decreto 175/2001, de 23 de febrero**, por el que se aprueban las normas de correcta elaboración y control de calidad de fórmulas magistrales y preparados oficinales. La **ley 29/2006 de 26 de Julio**, los reconoce legalmente como medicamentos.

Cada vez se conocen más detalles sobre los **mecanismos de acción del colirio de SA** en el epitelio ocular, si bien éstos aún no están totalmente claros. Se sabe, que contiene sustancias con efecto trófico que van a actuar sobre la dinámica epitelial regulando la proliferación, migración y diferenciación de las células epiteliales de la superficie ocular.<sup>51,52</sup> Incluso, en estudios in vitro con células del epitelio conjuntival, se ha demostrado un efecto dosis dependiente del colirio de SA sobre la expresión de mucinas.<sup>53</sup>

De estos componentes del SA, los que se consideran de mayor importancia son el EGF, el TGF- $\beta$ , la vitamina A, el PDGE, la fibronectina, la albúmina, la  $\alpha$ 2 macroglobulina, el FGF y neuropéptidos como la sustancia P, el IGF-1 y el NGF. Además, el colirio de SA contiene IG, lisozima y FC que le aportan un efecto bactericida y bacteriostático.<sup>54</sup>

En la tabla V se muestra una relación comparada de las concentraciones de los principales factores epiteliotróficos encontrados en la lágrima basal y en el SA.<sup>31</sup>

**TABLA V. Relación comparada de las concentraciones de los principales factores epiteliotróficos encontrados en la lágrima basal y el SA.<sup>31</sup>**

	Lágrima	SA
EGF (ng/mL)	0,3-3,0	0,5
TGF- $\beta$ (ng/mL)	2-10	6-33
Vitamina A (mg/mL)	0,02	46
Lisozima (mg/mL)	1,4	6

En la tabla VI se muestran algunas de las acciones más importantes de estas sustancias a nivel de la superficie ocular.<sup>55</sup>

**TABLA VI. Principales acciones de las sustancias presentes en el SA a nivel de la superficie ocular.<sup>55</sup>**

Sustancias	Acciones a nivel de la superficie ocular
EGF	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Favorece la proliferación, migración y diferenciación de células epiteliales y fibroblastos.</li> <li>- Aumenta la síntesis de fibronectina.</li> <li>- Efecto antiapoptótico.</li> <li>- Aumenta la producción de mucina 1.</li> </ul>
TGF- $\beta$	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Efecto regulador sobre otros FC.</li> <li>- Inhibe la proliferación celular.</li> <li>- Favorece la migración de fibroblastos y su diferenciación a miofibroblastos. Efecto quimiotáctico de PMN, macrófagos, etc.</li> <li>- Favorece la formación de matriz extracelular (importante efecto fibrogénico) y neovascularización.</li> <li>- Inhibe la metaloproteínasa.</li> <li>- Efecto antiinflamatorio</li> </ul>
Vitamina A	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Propiedades antibacterianas y antioxidantes.</li> <li>- Mantenimiento y reparación de las células epiteliales corneales y conjuntivales.</li> <li>- Prevención de la metaplasia escamosa.</li> </ul>
PDGF	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Regulación de las interacciones entre células epiteliales y estroma durante los procesos de cicatrización.</li> <li>- Regulador de la expresión y acción de otros FC.</li> <li>- Favorece la migración y diferenciación de fibroblastos así como el depósito de matriz extracelular. Efecto angiogénico y quimiotáctico.</li> </ul>
Fibronectina	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Favorece la migración celular en los procesos de reparación corneal.</li> </ul>
Albúmina	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Efectos antiapoptóticos.</li> <li>- Protege la degradación de citoquinas y FC.</li> </ul>
$\alpha$ -macroglobulina	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Efecto anticolagenasa.</li> </ul>
FGF	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Favorece la proliferación de la mayoría de las células implicadas en la reparación tisular.</li> <li>- Efecto quimiotáctico sobre fibroblastos.</li> <li>- Favorece la síntesis y contracción de la matriz extracelular.</li> <li>- Favorece la migración de los queratocitos.</li> </ul>

IGF-1	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Regula la acción de otros FC.</li> <li>- Estimula la proliferación y migración del epitelio corneal.</li> <li>- Aumenta la expresión de integrinas.</li> <li>- Efecto antiapoptótico.</li> <li>- Efecto quimiotáctico para fibroblastos.</li> </ul>
Sustancia P	- Favorece la migración y proliferación del epitelio corneal y queratocitos.
NGF	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Favorece la proliferación y diferenciación de células epiteliales.</li> <li>- Favorece el crecimiento de los fibroblastos y la regeneración y crecimiento neuronal. Induce neovascularización corneal.</li> </ul>
Inmunoglobulinas	- Efecto antimicrobiano.
Lisozima	- Efecto antimicrobiano.
Complemento	- Efecto antimicrobiano.
<p><i>EGF: Factor de crecimiento epitelial. TGF-β: Factor de crecimiento transformante β. FC: Factor de crecimiento. PDGF: Factor de crecimiento derivado de plaquetas. FGF: Factor de crecimiento de fibroblastos. IGF-1: Factor de crecimiento tipo insulina. NGF: Factor de crecimiento neuronal.</i></p>	

### 2.5.1.1 EGF

El EGF fue el primer factor de crecimiento identificado, siendo descubierto en 1960. El EGF estimula una amplia variedad de tipos celulares. Acelera los procesos de reparación y cicatrización de las heridas, favoreciendo, por un lado, la proliferación y migración de células epiteliales y fibroblastos y, por otro, aumentando la síntesis de proteínas como la fibronectina y activando la expresión de sus receptores.<sup>56,57</sup> Tiene también un efecto quimiotáctico sobre los fibroblastos atrayéndolos hacia la zona dañada y estimulando la formación de colágeno y matriz extracelular. El EGF es secretado en las zonas lesionadas por células inflamatorias como macrófagos y tiene efectos antiapoptóticos.<sup>58,59</sup>

Este factor está presente tanto en la secreción lagrimal basal como en la refleja, siendo su concentración menor en la lágrima refleja.<sup>50</sup> La concentración de EGF en la lágrima basal varía entre 1.9 y 9.7 ng/mL, mientras que en la secreción lagrimal refleja oscila entre 0.7 y 8.1 ng/mL.<sup>49-51</sup> La concentración de EGF en lágrima es superior a los 0.5 ng/mL encontrados en suero,<sup>49</sup> aunque disminuye significativamente en casos de sequedad ocular.<sup>51</sup>

### **2.5.1.2 TGF- $\beta$**

El TGF- $\beta$  pertenece a una superfamilia de FC que incluye también a las proteínas morfogenéticas del hueso (BMP), activinas e inhibinas. El TGF- $\beta$  es secretado por una gran variedad de células como plaquetas, células endoteliales, linfocitos y macrófagos. Al igual que otros FC, se sintetiza a partir de un precursor inactivo, precisando enzimas proteolíticas para su posterior activación.

El TGF- $\beta$  tiene un efecto pleiotrópico, actuando de forma diferente, y a veces opuesta, dependiendo del tipo de células sobre las que actúe y del entorno que las rodea. En general se considera un factor inhibidor y regulador de la función de otros FC. Suele inhibir la proliferación de células epiteliales. A pesar de su efecto supresor sobre la proliferación celular, su efecto global sobre la cicatrización tisular es positivo.

Dado que su concentración en suero es casi tres veces mayor que la encontrada en la lágrima,<sup>60,61</sup> conviene diluir el colirio de SA para su aplicación oftalmológica con el fin de reducir su concentración, aunque con ello reduzcamos también la concentración de otros factores. Pacientes con enfermedades inmunes o tratamiento inmunosupresores presentan una menor concentración de TGF- $\beta$  en suero.<sup>62,63</sup>

### **2.5.1.3 Vitamina A**

La vitamina A o retinol es una vitamina liposoluble esencial para el organismo que, al ser incapaz de sintetizarla, ha de obtenerla de forma exógena a través de alimentos o suplementos nutricionales. Está presente en los alimentos de origen animal en forma de vitamina A preformada, mientras que los alimentos de origen vegetal contienen precursores de la vitamina A como los carotenos, de los que el más importante es el betacaroteno, que posteriormente se transforman en vitamina A en el hígado o en el intestino.<sup>50</sup>

A nivel ocular, los efectos de la Vitamina A son muy importantes. De hecho, el nombre de retinol deriva de que esta vitamina genera y aporta los pigmentos necesarios para el buen funcionamiento de la retina. La vitamina A es necesaria para el proceso fisiológico de la visión. Su déficit origina

inicialmente una disminución de la agudeza visual en condiciones de baja iluminación que puede llevar a la ceguera total si el proceso continúa. Su poder antioxidante ejerce un efecto positivo en la prevención y tratamiento de enfermedades degenerativas como la miopía y cataratas cuando son inducidas por déficit de vitamina A.<sup>50</sup> En la superficie ocular los efectos de la vitamina A se producen a distintos niveles. Por un lado, ejerce un notable efecto en la **prevención y control de las infecciones bacterianas, parasitarias y virales**, y, por otro, es esencial para el **mantenimiento de la integridad y reparación de los epitelios y mucosas de la superficie ocular**. La vitamina A parece prevenir los procesos de metaplasia escamosa de los epitelios.<sup>50</sup> Su déficit origina la **xerofthalmia**, un cuadro en el que de forma progresiva aparece sequedad ocular, metaplasia de los epitelios corneal y conjuntival, queratinización (manchas de Bitot), pérdida de la transparencia corneal, queratomalacia y ceguera.

La vitamina A es uno de los principales factores epiteliotróficos presentes en el SA, siendo su concentración casi 100 veces superior a la encontrada en la lágrima.<sup>51</sup>

#### **2.5.1.4 PDGF**

El PDGF fue uno de los primeros FC en ser caracterizado, siendo el primero en demostrar efecto quimiotáctico sobre monocitos y macrófagos. Se considera un factor de gran importancia en la regulación del crecimiento y división celular de una amplia variedad de células al facilitar el paso a la fase G1 del ciclo celular.<sup>64</sup>

El PDGF potencia y acelera de forma dosis dependiente la reparación tisular in vivo e in vitro.<sup>65</sup> Estudios in vitro han demostrado que este factor actúa sobre la migración y diferenciación de los fibroblastos acelerando el depósito de matriz extracelular y aumentando la producción, resistencia y contracción del colágeno tanto en los tejidos dañados como en los procesos de remodelación en tejidos sanos.<sup>66-70</sup> Estos efectos son más lentos pero más duraderos que los producidos por el TGF- $\beta$ .

EL PDGF es un potente factor quimiotáctico para monocitos, macrófagos y fibroblastos, células consideradas esenciales en los mecanismos de

reparación tisular.<sup>67-69</sup> La actividad de los fibroblastos en cuanto a migración y formación de matriz extracelular varía según el estadio de la reepitalización, siendo ésta máxima hacia el día 14, cuando el epitelio presenta ya todas sus capas, iniciándose entonces un cambio en el perfil de factores secretados con modificaciones en la actividad de los mismos.<sup>71</sup>

#### **2.5.1.5 Fibronectina**

La fibronectina es una glicoproteína dimérica presente en la matriz extracelular. También interviene en la transducción de señales mediando en procesos como la división, la diferenciación y el crecimiento celular. La fibronectina juega por tanto un importante papel en la adhesión de las células en la matriz extracelular y a la membrana basal.<sup>72</sup>

En la superficie ocular, la fibronectina es uno de los factores más importantes en la fase de migración celular durante la reparación del epitelio corneal tras lesiones.<sup>72-76</sup> Su concentración en suero sanguíneo es casi 10 veces superior a la encontrada en la lágrima, aunque en pacientes con enfermedades inmunes o tratamientos inmunosupresores esta concentración suele estar más disminuida.<sup>55,77</sup>

#### **2.5.1.6 Albúmina**

La albúmina es la principal proteína de la sangre, representando casi un 55% del total de las proteínas plasmáticas. Se sintetiza en el hígado y es fundamental para el mantenimiento de la presión oncótica entre el compartimento intra y extravascular. La albúmina tiene un importante papel en el control del pH sanguíneo y también como vehículo de hormonas, ácidos grasos libres y fármacos.

A nivel ocular, la albúmina ha demostrado tener efectos beneficiosos sobre la cicatrización, disminuyendo la degradación de citoquinas y FC en las zonas de lesión tisular,<sup>77,78</sup> presentando también actividad antiapoptótica.<sup>79</sup> La albúmina disponible para uso comercial como producto farmacéutico ha sido utilizada como alternativa al colirio de SA.<sup>79</sup>

### **2.5.1.7 $\alpha$ 2 macroglobulina**

La  $\alpha$ 2 macroglobulina pertenece a la familia de las globulinas, unas proteínas solubles que representan un importante componente de la sangre y que también incluyen a proteínas como el fibrinógeno y las gammaglobulinas. La  $\alpha$ 2 macroglobulina pertenece al grupo de las globulinas  $\alpha$ -2, al que también pertenecen la eritropoyetina y otras proteínas transportadoras como la haptoglobina y la ceruloplasmina. Su principal función es neutralizar las enzimas proteolíticas.

A nivel de la superficie ocular presenta actividad anticolagenasa, útil en quemaduras oculares y úlceras marginales como las encontradas en la enfermedad de Mooren.<sup>80-82</sup>

### **2.5.1.8 FGF**

La existencia de un factor de crecimiento para fibroblastos se conoce desde 1939 gracias a los trabajos de Trowell et al.<sup>83</sup> aunque hasta 1984 no se identificó la molécula del FGF ácido y meses después la molécula del FGF básico.<sup>84</sup> Actualmente se conocen al menos 23 péptidos diferentes dentro de esta familia, de los que el FGF ácido o FGF-1 y el FGF básico o FGF-2 son los más importantes y mejor caracterizados.

Las distintas formas de FGF están implicadas en múltiples funciones fisiológicas. Promueven la proliferación celular, el aumento del índice de la actividad mitótica y la síntesis del ADN, además regulan los procesos de crecimiento, diferenciación y mantenimiento de la viabilidad y el metabolismo de muchas células además de los fibroblastos.

A nivel ocular, el FGF-2 favorece la migración de los queratocitos, mientras que el FGF-1 tiene menos efectos sobre estas células del estroma corneal.<sup>83-85</sup>

### **2.5.1.9 IGF-1**

El IGF-1 es un polipéptido de 70 aminoácidos y 7,7 kDa de peso molecular que pertenece a una familia de péptidos solubles.<sup>83</sup> Su secreción y acción tisular dependen de la hormona del crecimiento, por lo que sus acciones

disminuyen con la edad. A nivel de la superficie ocular, el IGF-1 estimula la migración y proliferación del epitelio corneal en un mecanismo sinérgico con la Sustancia P.<sup>85</sup>

#### **2.5.1.10 Sustancia P**

La sustancia P es un péptido neuroactivo de cadena corta formada por 11 aminoácidos y con un peso molecular de 1,5 kDa. Su concentración en suero medida por radioinmunoanálisis, es de  $157 \pm 42,1$  ng/mL, mientras que la concentración en lágrima determinada mediante ELISA es de  $0,071 \pm 0,035$  ng/mL,<sup>85,86</sup> estando estos valores elevados en pacientes con queratoconjuntivitis vernal y alérgica.

A nivel de la superficie ocular, la sustancia P estimula la migración del epitelio corneal en un mecanismo sinérgico con el IGF-1.<sup>51</sup>

#### **2.5.1.11 NGF**

El NGF fue el primer factor neurotrófico descrito. Es una proteína de 14 kDa de peso molecular, que junto con otros factores de la familia de las neurotrofinas, son de vital importancia en el crecimiento, mantenimiento y supervivencia de diferentes grupos neuronales, tanto durante el desarrollo embriológico como en la vida adulta.<sup>85</sup>

El NGF ha sido utilizado en el tratamiento de úlceras corneales secundarias a queratopatía neurotrófica al inducir la regeneración de los nervios estromales tras agresiones.<sup>86,87</sup> Por otro lado, el NGF induce la producción de sustancia P y del péptido relacionado con el gen de la calcitonina que favorecen la proliferación del epitelio corneal. Los efectos biológicos del NGF a nivel de la superficie ocular son mediados por receptores específicos localizados en el epitelio corneal y conjuntival.<sup>88,89</sup>

#### **2.5.1.12 IG**

Las IG son un amplio grupo de proteínas solubles y de superficie celular que representan un 20% del total de proteínas del plasma y están implicadas en procesos de reconocimiento y unión celular. Entre los miembros de esta familia se incluyen anticuerpos, receptores para antígenos de superficie en

linfocitos T y B, co-receptores (CD4, CD8 y CD19), moléculas presentadoras de antígenos como las proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad, moléculas de adhesión, FC como el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos y algunos precursores de receptores de FC como el receptor del factor de crecimiento de fibroblastos 1 (FGFR-1).<sup>90,91</sup>

El tipo de IG va a estar determinada por los diferentes tipos de cadenas pesadas (mu, gamma, alfa, delta y epsilon) o ligeras (kappa o lambda) presentes en su estructura, teniendo cada una de ellas funciones biológicas distintas. Existen 5 tipos de inmunoglobulinas:

- **IgG.** Es la IG más abundante en el plasma, representando el 80% del total de las IG. Se produce en respuesta a infecciones (bacterias, hongos o virus) y sus principales funciones son la fijación del complemento y la unión a receptores en células fagocíticas.
- **IgM.** Constituye un 6% del total de IG. Es el primer tipo de IG sintetizada en respuesta a infecciones.
- **IgA.** Es la IG predominante en las secreciones seromucosas del organismo como lágrima, leche y saliva. Aunque no fija el complemento ni tiene capacidad opsonina, la IgA tiene una gran importancia al actuar como defensa inicial contra patógenos invasores, impidiendo que estos microorganismos atraviesen las mucosas y lleguen al plasma.
- **IgE.** Se encuentra en pequeñas concentraciones en el plasma de personas normales. Es la responsable de los procesos alérgicos mediados por hipersensibilidad tipo I. La IgE está implicada en la respuesta inmune contra parásitos y protozoos.
- **IgD.** Es una IG unida a la membrana de linfocitos B, que actúa como marcador de diferenciación. Su presencia, junto con IgM, confiere inmunocompetencia a estos linfocitos. La IgD no se encuentra en forma soluble en el plasma y representa menos del 1% de las IG plasmáticas.

### **2.5.1.13 Lisozima**

La lisozima es una enzima abundante en secreciones corporales como saliva, lágrima y moco, pero también en otros órganos y en el plasma. Su concentración en lágrima es similar en hombres y mujeres, disminuyendo con la edad, y representando entre el 20 y 40% del contenido proteico de la lágrima. Puede actuar como opsonina, facilitando la fagocitosis de patógenos por otras células como macrófagos o actuar directamente, en un proceso mediado por el ácido glutámico y el ácido aspártico, hidrolizando enlaces glucosídicos de la pared celular de las bacterias, sobre todo Gram+. Estos efectos de la lisozima sobre las bacterias reducen su potencial patógeno.

### **2.5.1.14 Complemento**

El sistema del complemento es uno de los componentes fundamentales de la respuesta inmunitaria ante agentes infecciosos que “complementa” el efecto de los anticuerpos en su acción destructora de microorganismos.<sup>92</sup> El complemento es especialmente importante frente a gérmenes Gram-, siendo las bacterias Gram+ más resistentes a su acción.

## **2.6 EFECTOS CLÍNICOS DEL COLIRIO DE SA EN EL TRATAMIENTO DE LA DED**

En general el colirio de SA es muy bien tolerado por el paciente y la mayoría de trabajos publicados refieren un mejoría en la calidad de vida, menos molestias, mejor visión y un mayor confort y bienestar con el tratamiento. Estos efectos beneficiosos se producen de una forma indirecta al mejorar la estabilidad del epitelio corneal y de la lágrima, lo que favorece una adecuada interacción entre los distintos elementos que integran la superficie ocular.<sup>80</sup> Los efectos clínicos más importantes del colirio de SA son:

### **2.6.1 EFECTOS SOBRE EL EPITELIO**

A nivel epitelial se producen probablemente los efectos más importantes del SA sobre la superficie ocular, ya que contiene abundantes factores implicados en la proliferación, migración, diferenciación y viabilidad de las células epiteliales.<sup>81</sup> Los pacientes con sequedad ocular presentan una disminución de determinados componentes de la lágrima que comprometen la integridad de la superficie ocular, observándose un anormal funcionamiento epitelial que se traduce en la aparición de defectos epiteliales.<sup>93</sup> El tratamiento con SA aporta estos factores deficitarios, incluso en una concentración mayor que la lágrima, restaurando la funcionalidad y dinamismo del epitelio y favoreciendo la interrelación entre epitelio y estroma durante la regeneración corneal tras agresiones. El SA favorece el crecimiento y trofismo celular, por lo que es especialmente útil en el manejo de patologías que cursan con defectos epiteliales. Los efectos beneficiosos, comienzan a notarse entre la primera y segunda semana del tratamiento, aunque la mejoría subjetiva empieza prácticamente desde el segundo día. Para determinar si un paciente responde o no de forma satisfactoria al tratamiento deben transcurrir al menos 3 semanas desde el inicio del mismo.<sup>31,94</sup>

### **2.6.2 EFECTOS DEL SUERO AUTÓLOGO SOBRE LAS MUCINAS (MUC)**

Las MUC son un grupo heterogéneo de glicoproteínas de alto peso molecular que forman parte de las secreciones mucosas del organismo. Se

conocen unos 20 tipos de MUC que se dividen en dos grupos: las **MUC transmembrana** y las **MUC secretoras** que, a su vez, se dividen en MUC formadores de gel y MUC solubles.

A nivel de la superficie ocular se expresan al menos nueve. Seis MUC transmembrana (MUC1, MUC4, MUC13, MUC15, MUC16 y MUC17), dos MUC formadoras de gel (MUC2 y MUC5AC) y una MUC soluble (MUC7).<sup>95,96</sup> Las MUC transmembrana son de menor tamaño que las formadoras de gel. Se localizan principalmente en las membranas apicales de las células epiteliales formando un denso glicocálix en la interfase epitelio-lágrima, aunque también pueden encontrarse en la lágrima. Tienen un importante papel actuando como **barrera física a la penetración de patógenos**. Las MUC formadoras de gel son de mayor tamaño y se localizan sobre el glicocálix epitelial, son las más abundantes en la capa mucínica y las responsables de las propiedades reológicas del moco.

De todas las MUC, las más importantes a nivel de la superficie ocular son la MUC1, MUC4, MUC7, MUC2 y la MUC5AC. La **MUC1** es expresada por epitelio corneal y conjuntival, siendo similar a la encontrada en la saliva. Dificulta la adhesión de los microorganismos al epitelio. La **MUC4** es más característica del epitelio conjuntival y aunque es una mucina transmembrana, se puede encontrar en forma soluble.<sup>97,98</sup> La **MUC7** se expresa a nivel corneal, conjuntival y en la glándula lagrimal. Al igual que las MUC transmembrana, parece tener un papel protector frente a bacterias, hongos y otros patógenos, estando relacionada la disminución de expresión de MUC7 con un incremento de la susceptibilidad a queratitis microbianas, sobre todo en portadores de lentes de contacto.<sup>99,100</sup> La **MUC2** se encuentra a nivel conjuntival y su expresión aumenta en casos de inflamación. La **MUC5AC** es característica de las células caliciformes, por lo que su presencia en córnea es indicativa de insuficiencia limbar.<sup>101</sup>

Numerosas enfermedades oculares presentan alteraciones en la expresión de las MUC. Se han encontrado niveles disminuidos de MUC5AC en pacientes con SS en relación con una disminución de CC en la citología conjuntival.<sup>100,101</sup> Los **pacientes con DED tienen una reducción significativa de los niveles de MUC1, MUC2, MUC4 y MUC5AC**, mientras que los niveles de MUC7

permanecen inalterados. Estos pacientes presentan modificaciones estructurales en las cadenas de oligosacáridos de las mucinas, que podría explicar un menor efecto lubricante de éstas y una alteración de la estabilidad de la película lagrimal.

La **función de las MUC** está determinada en parte por sus propiedades estructurales, destacando su **gran capacidad para retener agua y formar geles viscosos** que sirven para **lubricar la superficie ocular**. Por otro lado, la MUC es **muy importante en la estabilidad de la película lagrimal** al disminuir la tensión superficial de la lágrima y hacer que el epitelio corneal, hidrófobo, quede recubierto por una capa glicoproteica de características hidrofílicas. Ambas propiedades facilitan el deslizamiento palpebral y la dinámica lagrimal. El correcto funcionamiento de la capa mucínica precisa una adecuada calidad y cantidad de mucina. La calidad depende no sólo de la estructura y tipo de mucinas secretadas, sino también de la apropiada hidratación de éstas. En el ojo sano, las MUC transmembrana del glicocálix facilitan la extensión de la película lagrimal. En casos de ojo seco, la disminución del volumen lagrimal hace que éstas estén menos hidratadas, desarrollándose puntos de desprotección (puntos secos) en la superficie ocular que conducen a la queratinización y a la disminución de expresión de genes de MUC en las células epiteliales.<sup>31</sup> Por otro lado, las alteraciones de la capa mucínica que se produce en ojos secos mucodeficientes, o de forma secundaria en otros tipos de ojo seco, hacen que el tratamiento con lágrimas artificiales no humidifique de forma correcta la superficie ocular.

### 2.6.3 EFECTOS SOBRE LA METAPLASIA ESCAMOSA

El diagnóstico de sequedad ocular en la práctica diaria se realiza mediante datos clínicos, sin embargo, algunas pruebas como la CIC puede ayudar en el diagnóstico y seguimiento de estos pacientes.

El epitelio de la superficie ocular, reacciona frente a las agresiones mediante un **proceso de metaplasia escamosa**, una transición patológica y reversible de las células secretoras CC y epiteliales con cambios morfológicos que transforman un epitelio normal estratificado no queratinizado en un epitelio queratinizado.<sup>31</sup>

La **CIC** es una técnica útil que se emplea en el diagnóstico de distintas alteraciones de la superficie ocular, presentando una alta sensibilidad y especificidad.<sup>102,103</sup> Es una técnica mínimamente invasiva que nos permite recoger y estudiar la capa más externa del epitelio de la superficie ocular, clasificar el grado de metaplasia y emplear técnicas histológicas, inmunohistoquímicas o de análisis molecular.<sup>104</sup>

El tratamiento con colirio de SA mejora de forma significativa el grado de metaplasia escamosa de los epitelios de la superficie ocular.<sup>27,31,105-107</sup> La vitamina A parece ser el componente del SA más relacionado con la mejoría en el grado de metaplasia escamosa. Las CC son muy sensibles a la acción de la vitamina A que aumenta su número y tamaño. El efecto beneficioso sobre las células epiteliales viene determinado de una forma indirecta al estimular la producción de MUC, sobre todo la MUC5AC, y restablecer la fase mucínica de la película lagrimal mejorando la estabilidad de la lágrima y disminuyendo la formación de puntos secos.<sup>108</sup> También el EGF parece mediar en la producción de mucinas y en la mejoría de la metaplasia escamosa que se produce en los pacientes tratados con colirio de SA.

#### **2.6.4 EFECTOS SOBRE LA ESTABILIDAD DE LA PELÍCULA LAGRIMAL**

La estabilidad de la película lagrimal puede verse alterada por la presencia de anomalías cualitativas o cuantitativas de la lágrima o por situaciones que alteren el equilibrio de la dinámica lagrimal. Existe una marcada interrelación entre la película lagrimal y el epitelio. Por un lado el epitelio participa activamente en el mantenimiento de la estabilidad lagrimal. Por otro lado una película lagrimal adecuada es necesaria para la protección de la superficie epitelial. La característica más importante del ojo seco es la **inestabilidad lagrimal** que en la práctica clínica habitual se explora mediante el test de BUT y la observación dinámica de la lágrima tras la instilación de fluoresceína.

#### **2.6.5 EFECTOS SOBRE EL TEST DE SCHIRMER Y EL TEST DE BUT**

En general, el tratamiento con colirio de SA tiene pocos efectos sobre el test de Schirmer. El test de BUT mide la estabilidad de la película lagrimal, pero es inespecífico y se altera en muchos tipos de ojo seco. La mejoría del test de

BUT se debe al efecto directo del colirio de SA sobre el epitelio y a que su acción sobre la producción de MUC mejora la estabilidad lagrimal.

### 2.6.6 EFECTOS BACTERICIDAS

El colirio de SA tiene un importante efecto beneficioso en la **prevención de enfermedades infecciosas de la superficie ocular**, mejorando los sistemas de barrera y actuando directamente sobre los gérmenes o sobre sus mecanismos de invasión. Además, el colirio de SA mejora la estabilidad y calidad de la película lagrimal, y la integridad epitelial de la superficie ocular. La película lagrimal constituye una importante limitación a la invasión de microorganismos por un efecto de dilución y barrido mecánico de los gérmenes y sus toxinas.<sup>109-111</sup> Por otro lado, la integridad epitelial supone una importante barrera defensiva frente a la infección por agentes patógenos. El mantenimiento de las características estructurales de las células epiteliales y de sus uniones intercelulares y con la membrana basal son de vital importancia para preservar esta función de barrera, hasta el punto de que muy pocos gérmenes son capaces de causar infecciones de la superficie ocular con un epitelio íntegro (sólo gonococo, meningococo, corynebacterium diphtheriae y haemophilus especies). El resto de microorganismos precisan alteraciones de la barrera epitelial que faciliten adherencia. Muchas bacterias expresan unas proteínas, denominadas “adhesinas”, que se unen con alta afinidad a moléculas de la superficie celular del huésped. La capa de mucina de la película lagrimal inhibe la capacidad de muchos patógenos para unirse al epitelio corneal, y el colirio de SA mejora la expresión de MUC por células epiteliales de la superficie ocular.

Por otro lado, el colirio de SA, contiene abundantes componentes que actúan directamente sobre los agentes patógenos o sobre sus mecanismos de invasión.<sup>112</sup> Las IG y los factores del complemento participan en la inmunidad humoral. Las IG, sobre todo la IgA, tiene gran importancia al actuar como defensa inicial contra patógenos impidiendo que estos microorganismos atraviesen las mucosas, mientras que el complemento, a través del complejo de ataque a las membranas, es el responsable de la formación de canales hidrofílicos en las paredes celulares que provocan la muerte osmótica del agente patógeno.<sup>113,114</sup>

### ***III. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO***

### III. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La **DED** es una entidad de la superficie ocular, producida por un grupo heterogéneo de enfermedades que producen un **déficit funcional de la lágrima**. Su prevalencia en la población es alta (5-30%)<sup>33</sup> y existe un alto nivel de demanda tanto en consultas de Atención Primaria como en consultas de Oftalmología derivadas de esta patología.

Las **recomendaciones para el tratamiento de la DED**, según el Subcomité de definición y clasificación de TFOS DEWS II de la DED, se basan en un enfoque multifactorial teniendo en cuenta las características de la enfermedad.<sup>33,115</sup> En la mayoría de los casos el tratamiento etiológico no es posible, por ello el tratamiento convencional suele ser sintomático, siendo la terapia sustitutiva con lágrimas artificiales y lubricantes el tratamiento más frecuente. Esta terapia presenta ciertas limitaciones debido a la complejidad de la lágrima natural. En los últimos años, la **utilización del colirio de SA**, obtenido de la separación de los componentes líquidos y celulares de la propia sangre del paciente, ha sido un **tratamiento** instaurado, sobre todo en **pacientes con DED severa** o que **no responden adecuadamente a la terapia convencional**.

A pesar de todos los efectos clínicos del colirio de SA descritos anteriormente, el efecto por el cual el colirio de SA es efectivo en el tratamiento de la DED, no queda perfectamente aclarado en la literatura. El **mecanismo de acción del colirio de SA**, aunque no es bien conocido, se basa tanto en su acción lubricante como en su mayor concentración en vitaminas A y E, FC (como EFG, TGF-, FGF, HGF), fibronectina y nutrientes que promueven el trofismo celular del epitelio del ojo, interviniendo en su regeneración.

La mayor parte de los estudios demuestran una mejoría de la sintomatología (reducción del picor, sensación de cuerpo extraño, sequedad ocular, etc). No obstante, no está claro entre los distintos estudios los mecanismos por los que se produce esta mejoría clínica. Hay autores que sugieren el incremento de la humedad del ojo como la única mejoría,<sup>55</sup> y otros autores describen la regeneración epitelial tras el tratamiento.<sup>80,116</sup>

Con este estado del conocimiento, se planteó este estudio para investigar cómo se **modifica la CIC por transferencia** con el tratamiento con colirio de SA en pacientes con DED, describir cómo se **modifica el grado de metaplasia escamosa**, así como conocer la **modificación de los tests de flujo y estabilidad lagrimal (test de Schirmer y BUT respectivamente)** con el **tratamiento con colirio de SA en pacientes afectados de DED.**

## ***IV. HIPÓTESIS DE TRABAJO***

**IV. HIPÓTESIS DE TRABAJO**

El empleo del colirio de suero autólogo en pacientes diagnosticados de enfermedad del ojo seco modifica las características citológicas de las células caliciformes, así como su capacidad mucínica. estudiada mediante citología de impresión conjuntival por transferencia. Por este motivo mejoran también los síntomas clínicos, los tests de flujo y estabilidad lagrimal (tests de Schirmer y BUT respectivamente), así como el grado de metaplasia escamosa conjuntival de los pacientes.

## ***V. OBJETIVOS***

## **V. OBJETIVOS**

### **5.1 OBJETIVOS PRINCIPALES**

- Conocer cómo se modifica la citología de impresión conjuntival por transferencia con el tratamiento con colirio de SA en pacientes con DED.
- Estudiar la variación en la densidad de CC conjuntivales durante el tratamiento con SA.
- Analizar la modificación de los tests de Schirmer y BUT tras el tratamiento con colirio de SA.
- Evaluar la modificación del grado de metaplasia escamosa conjuntival de los pacientes con DED tratados con colirio de SA.

### **5.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Conocer las características de los pacientes con DED del Complejo Asistencial de Segovia.
- Ver la efectividad del uso del colirio de SA en pacientes con DED.
- Conocer las posibles reacciones o efectos adversos del colirio de SA empleado en el tratamiento de pacientes con DED.

## ***VI. MATERIAL Y MÉTODOS***

## VI. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 TIPO DE ESTUDIO

**Estudio prospectivo, descriptivo y analítico cuasi-experimental** de los pacientes que acudieron a la consulta de Oftalmología, diagnosticados de DED de cualquier etiología, y en los que se indicó tratamiento con colirio de SA.

La Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) clasificó nuestro estudio titulado “**Empleo del SA en el tratamiento de pacientes con diagnóstico de DED**”, como un: **Estudio post-autorización de seguimiento prospectivo** (EPA-SP) en Marzo de 2015. (Anexo I)

El estudio constó de tres fases:

1. **Estudio descriptivo** de los pacientes diagnosticados de DED en el Complejo Asistencial de Segovia, desde Enero del 2017 hasta Diciembre 2017, en los que se indicó tratamiento con colirio de SA. Se definió la edad de los pacientes, género, clasificación de la gravedad de la DED y patología asociada a la DED, si la había.
2. **Estudio comparativo**: A continuación se recogió información pre y postratamiento con el colirio de SA mediante la **CIC transferencia**. Cuando se estableció la indicación del colirio de SA como tratamiento de la DED del paciente, por parte del Oftalmólogo responsable, y previa obtención del consentimiento informado, se realizó a cada paciente una **primera CIC por transferencia**, para determinar el número de CC conjuntivales previo al tratamiento con colirio de SA (**Citología Impresión 1**). Posteriormente el investigador principal informó e instruyó al paciente sobre el tratamiento. El paciente se administró una gota de colirio de SA 4 veces al día en ambos ojos durante un mes. Al finalizar el tratamiento con colirio de SA, se realizó nuevamente otra **CIC por transferencia (Citología Impresión 2)**. Las CIC siempre las realizó el investigador principal en la región temporal superior del ojo derecho del paciente.

En las CIC por transferencia se compararon las siguientes **variables** obtenidas antes y después del tratamiento de la DED con SA:

- Número de CC,
- Tamaño de CC,
- Densidad de CC,
- Tamaño del Núcleo de las CC,
- Tamaño del citoplasma de las CC,
- Densidad de CC,

A cada paciente también se le realizó un test de Schirmer y un test de BUT antes y después del tratamiento con SA. Los resultados de ambos tests también se compararon.

3. **Estudio de correlación** y análisis **multivariante**, de la variable dependiente número de CC con el resto de las variables del estudio para intentar controlar las posibles variables de confusión.

## 6.2 POBLACIÓN DIANA

Durante 1 año se estudiaron 24 pacientes mayores de 18 años con diagnóstico clínico de DED que acudieron a la consulta de Oftalmología de nuestro hospital, con indicación de inicio de tratamiento con colirio de SA y que accedieron a participar en el estudio (**muestreo no probabilístico por conveniencia**). El diagnóstico clínico de la DED se confirmó considerando la sintomatología y las pruebas de Schirmer, BUT y CIC por transferencia.

Se incluyeron en el estudio todos los pacientes que de manera consecutiva aceptaron participar en el estudio y cumplieron con los **criterios de inclusión** (adultos diagnosticados de DED). A todos ellos se les explicó en detalle cada uno de los procedimientos y los riesgos potenciales y se les pidió que firmaran el consentimiento informado (Anexo II). Una vez dada la indicación de uso del colirio de SA, por parte del Oftalmólogo, el paciente fue informado de forma oral y escrita sobre el correcto uso y manejo de estos preparados. Se hizo especial

énfasis en lo referente a las medidas de conservación e higiene a la hora de aplicar las instilaciones así como en la manipulación de estos productos por otras personas (se trata de fluidos parenterales y, por tanto, pueden transmitir enfermedades infecciosas).

Se **excluyeron** del estudio los pacientes en tratamiento con: esteroide tópico ocular, medicamentos análogos de las prostaglandinas o inmunosupresores tópicos. También se excluyeron los pacientes que en ese momento estuvieran en tratamiento sistémico con corticosteroides o antiinflamatorios no esteroideos. También fueron excluidos del estudio pacientes con antecedentes de infección activa de Hepatitis B, C, VIH y sífilis. Se realizó estudio de despistaje serológico para VIH, VHB, VHC y sífilis previos al tratamiento con colirio de SA. También se excluyeron del estudio los pacientes que presentaban suero lipémico y/o suero hemolizado después de la centrifugación de la muestra sanguínea.

Cada paciente fue sometido a la toma de una primera CIC por transferencia antes de iniciar el tratamiento con colirio de SA (**Citología Impresión 1**), Posteriormente se sometió a los pacientes a **tratamiento con colirio de SA al 20% una gota 4 veces al día en ambos ojos durante un mes**. A los pacientes se les suministró el medicamento en frascos goteros etiquetados. Los pacientes se administraron el tratamiento con colirio de SA en su domicilio tal y como habían sido instruidos por el Oftalmólogo e Investigador Principal, con el objetivo de minimizar la posibilidad de error en la administración del tratamiento. Tras completar el mes de tratamiento, se realizó una segunda CIC por transferencia (**Citología Impresión 2**). Finalmente, se realizó una comparación de las variables en el pre- y pos-tratamiento.

### 6.3 ESTIMACIÓN DEL TAMAÑO MUESTRAL

Para el cálculo del tamaño muestral se realizó un **muestreo probabilístico** tomando el número de CC conjuntivales como la variable más representativa en los datos del estudio.<sup>117</sup> Aceptando un riesgo  $\alpha$  de 0,05 y un riesgo  $1-\beta$  de 0,8 en un contraste bilateral, se precisan **24 sujetos** para detectar una

diferencia igual o superior a 4 unidades. Se ha estimado una tasa de pérdidas de seguimiento del 0,1%.<sup>117</sup>

#### 6.4 VARIABLES DE ESTUDIO

Las variables de estudio se recogieron en la **Hoja de recogida de datos** (Anexo III) y fueron:

1. **Datos de filiación:** edad (cuantitativa, años); género del paciente (dicotómica, 1=varón, 2=mujer), etiología del ojo seco (policotómica); clasificación clínica de la DED<sup>33</sup> (cualitativa ordinal, 1=leve, 2=moderada, 3=severa, 4=grave).
2. **CIC por transferencia:** se determinaron las siguientes variables:
  - a. Número de CC (cuantitativa, células/mm<sup>2</sup>).
  - b. Tamaño de las CC (cuantitativa,  $\mu\text{m}$ ):
  - c. Densidad de las CC (cuantitativa): se obtuvo como el cociente entre el número de CC presentes en 1000 células epiteliales a 40X con rejilla calibrada y dividiendo en 100.<sup>118</sup>
  - d. Tamaño del núcleo de las CC (cuantitativa,  $\mu\text{m}$ ).
  - e. Tamaño del citoplasma de las CC (cuantitativa,  $\mu\text{m}$ ).
  - f. Relación núcleo/citoplasma (cuantitativa), calculada como el cociente del tamaño del núcleo de las CC en el numerador ( $\mu\text{m}$ ), entre el tamaño del citoplasma ( $\mu\text{m}$ ) en el denominador.
  - g. Grado de metaplasia escamosa, (cualitativa ordinal, de grado 0 a grado 5).<sup>46</sup>
3. **Tests diagnósticos de la DED:**
  - a. Test de Schirmer sin anestesia (cuantitativa, milímetros). Valor normal > 10 mm.
  - b. Test de BUT (cuantitativa, segundos). Valor normal  $\geq$  10 segundos.

## 6.5 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

De cada paciente se tomaron muestras de CIC por transferencia de entre 5x5 y 5x8 mm<sup>2</sup> de la **conjuntiva bulbar temporal superior del ojo derecho** (imaginando el ojo como la esfera de un reloj, la toma se recogió a las 11).

En todos los casos se escogió la conjuntiva bulbar superior por varios motivos:

- Es una de las zonas de **más fácil acceso**, por lo que resulta más sencillo obtener tomas de buena calidad con las mínimas molestias, y es mayor comodidad para el paciente.<sup>119</sup>
- Se trata de una parte de la conjuntiva que no se expone habitualmente al aire, por lo que podemos suponer que **no presenta cambios debidos a la exposición** (como podría ocurrir en conjuntiva interpalpebral). El hecho de estar siempre cubierta y protegida por el párpado superior hace también que después de la toma esa área de conjuntiva quede “guardada” y su **recuperación sea rápida y fácil**.<sup>120,121</sup>
- Es la conjuntiva bulbar superior la reconocida como de **mayor constancia en la celularidad y densidad de CC**, cosa que facilita los estudios comparativos entre sujetos, elemento clave en el presente estudio.<sup>121</sup>
- Finalmente, la conjuntiva bulbar superior parece ser la zona en la que la **metaplasia escamosa se manifiesta más netamente**.<sup>122,123</sup> Además, en enfermedades oculares tipo DED, en las que la metaplasia escamosa es una manifestación importante, la conjuntiva bulbar superior se afecta antes y más intensamente que otras áreas.<sup>124</sup>

### 6.5.1 RECOGIDA DE LAS MUESTRAS DE CONJUNTIVA

Las muestras de la conjuntiva se obtuvieron según la técnica de CIC por transferencia descrita por Minaya Martínez F.<sup>45</sup> Para la obtención de las muestras se utilizaron los siguientes materiales:

1. Tira de **Filtro de acetato de celulosa** Millipore tipo GVWP (Millipore, Bedford, MA, USA), de 0,22 micras de tamaño de poro.
2. **Portaobjetos** convencionales, sin recubrimiento, con área esmerilada para anotaciones, de 76x26mm (Hirschmann Laborgerate, Germany).
3. **Acetona pura** de laboratorio
4. **Vaso de vidrio de laboratorio** para fijación, con capacidad para 4 portaobjetos.

La **CIC por transferencia** se realizó según los siguientes pasos:

1. Sujetamos la tira de filtro, con los dedos, por el extremo opuesto al que ha de tocar la conjuntiva, asegurándonos de que la cara mate estuviera hacia el paciente.
2. Levantando suavemente el párpado superior del paciente a estudiar, le pedimos que mire hacia abajo, colocando el otro extremo de la tira de filtro sobre la conjuntiva y con el dedo presionamos muy ligeramente contra ella, procurando no tocar las pestañas (desencadenan reflejo palpebral y obligan a repetir la toma si el cierre es fuerte) (figura 6).
3. Dejamos uno o dos segundos y luego tiramos de él, teniendo la sensación de “llevarse” algo de la superficie (es lo que realmente sucede que se queda pegado a la tira).
4. Una vez despegado el filtro de la conjuntiva, inmediatamente lo ponemos sobre el portaobjetos y presionamos con la yema del dedo el extremo que estuvo en contacto con la conjuntiva, teniendo cuidado de no desplazar la tira en el plano del portaobjetos.
5. Con el dedo índice de la mano que sujeta la tira, presionamos firmemente el extremo sin muestra contra el vidrio y retiramos el dedo del otro extremo lateralmente, para no levantar con él la tira.

6. Enseguida, tocamos el extremo del filtro de la muestra (que está aún entre la tira y el portaobjetos) con la punta del gotero del recipiente en el que guardamos la acetona pura. Lo hicimos así, porque si depositamos una gota entera, ésta tarda más en evaporarse y eso puede limitar la calidad de la muestra. Tocando tan solo con el gotero, se impregna únicamente el área de interés (figura 7).
7. Sin dejar pasar tiempo, soplamos para acelerar la evaporación de la acetona, de por sí rápida por tratarse de una sustancia volátil hasta que el filtro se seca en toda su área, excepto en la de interés, ligeramente húmeda.
8. Luego, soplamos tangencialmente desde el extremo del portaobjetos opuesto al de la muestra, viendo cómo se levantaba la parte libre del filtro (figura 8). En ese momento, soplamos un poco más y la tira de filtro se despega del portaobjetos, dejando la muestra conjuntival sobre éste (figura 9).
9. En cuanto eso ha ocurrido, depositamos una gota de acetona sobre la muestra para un fijado rápido.
10. Luego la depositamos en el vaso de vidrio con acetona, para posteriormente hacer la tinción con la técnica estandarizada de PAS-hematoxilina, del Servicio de Anatomía Patológica de nuestro hospital (figura 10).



Figura 6.



Figura 7.



Figura 8.

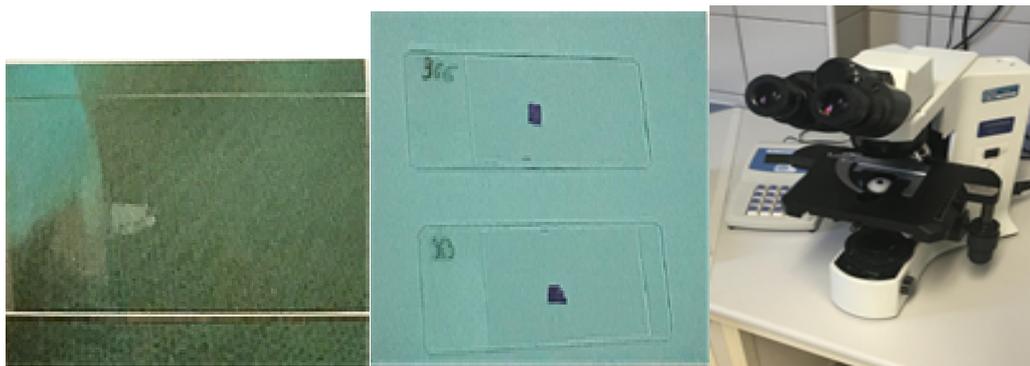


Figura 9.

Figura 10.

Figura 11.

Figuras 6-11. Pasos para la realización de la CIC por transferencia. *Reproducidas con permiso de Minaya Martínez F.*<sup>45</sup>

El examen microscópico se realizó a 4X, 10X y 40X, para determinar la morfología de las células epiteliales, relación N:C, cromatina y distribución de las CC (figura 11). **La determinación cuantitativa del número de CC se hizo con una rejilla calibrada directamente con conteo manual de 10 campos al azar a 40X.**<sup>125</sup> Se obtuvo el promedio de los campos contados y se multiplicó por 40 para obtener número de CC/mm<sup>2</sup>.

La densidad de las CC se obtuvo contando el número de CC presentes en 1000 células epiteliales a 40X con rejilla calibrada y dividiendo en 100.<sup>125</sup>

## 6.6 EXTRACCIÓN DE LA SANGRE, OBTENCIÓN DEL SUERO Y PREPARACION DEL COLIRIO DE SUERO AUTÓLOGO

La sangre fue extraída en la propia consulta de Oftalmología mediante venopunción con tubos de extracción de vacío con gel y sin anticoagulante (Vacutainer®) (figura 12). Se extrajeron entre 30 y 40 mL de sangre que se repartieron en 3-4 tubos (figura 13). Posteriormente se dejaron los tubos en una rejilla en posición vertical a 22°C, hasta que fueron llevados al Banco de Sangre. El tiempo transcurrido fue de más o menos 30 minutos (figura 14). Estos tubos se etiquetaron con los datos del paciente, su nombre y número de historia clínica, adjuntando a ellos la referencia de que se trataba de suero sanguíneo para la preparación de colirio de SA.

Una vez las muestras en el Banco de Sangre, los tubos se centrifugaron para separar el suero del resto de elementos formes. Centrifugamos a 3.000

r.p.m. durante 10 minutos y a 22 grados de temperatura (figuras 15 y 16). Con esta centrifugación obtuvimos aproximadamente 5 mL de suero por cada 10 mL de sangre, sin lisis de los elementos celulares (figura 17). Posteriormente, en el Servicio de Farmacia se procedió a la decantación del suero del resto de elementos formes de la sangre para la preparación del colirio de SA. Ésta se realizó en condiciones asépticas, con ropa apropiada por parte del personal, en una sala aislada y acondicionada con una campana de flujo laminar para este fin (figura 18). Con el fin de evitar riesgos de contaminación cruzada, la elaboración del colirio de SA se realizó de forma individualizada (Anexo IV). Todo el material utilizado para la preparación del colirio de SA fue estéril y se desechó al finalizar del proceso.

Partimos de 10 mL de suero del propio paciente (figuras 17-19), que posteriormente se diluyeron con 40 mL de suero fisiológico al 0,9%, obteniendo un volumen total de 50 mL de suero diluido, con una concentración final del 20% (figuras 22-24). A continuación se repartieron los 50 mL en frascos estériles, especiales para colirio con un volumen de 5 mL en cada frasco (figuras 25-29). Cada frasco fue etiquetado con un código de barras, número de lote, fecha de caducidad, nombre y apellidos del paciente y fecha de elaboración y posteriormente introducido en una bolsa con autocierre. Todos los colirios de SA se introdujeron finalmente en una bolsa que posteriormente fue sellada (figuras 30-34). Para realizar el control microbiológico del colirio de SA, se separó 1 mL de SA para enviar al laboratorio de Microbiología.

Todos estos datos mencionados anteriormente quedaron anotados en el Libro de Registro de Farmacia, quedando así garantizada la trazabilidad del producto (Anexo V).

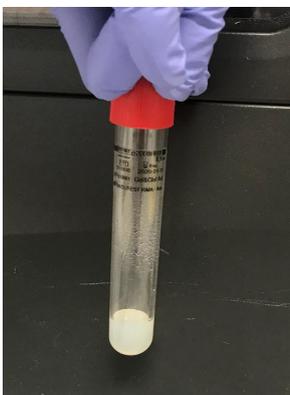


Figura 12.



Figura 13.



Figura 14.



Figura 15.

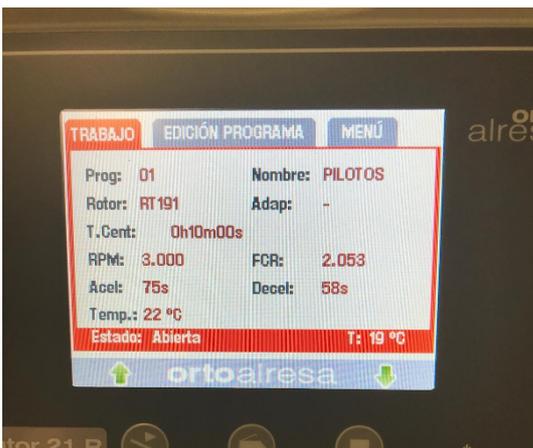


Figura 16.



Figura 17.

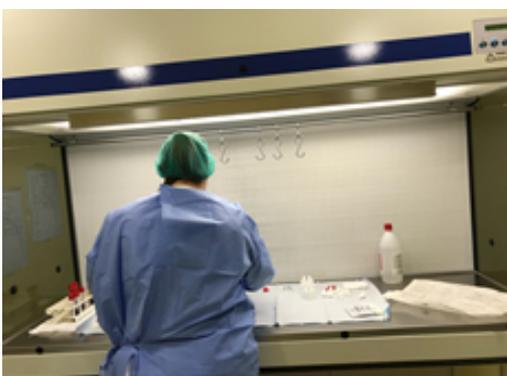


Figura 18.

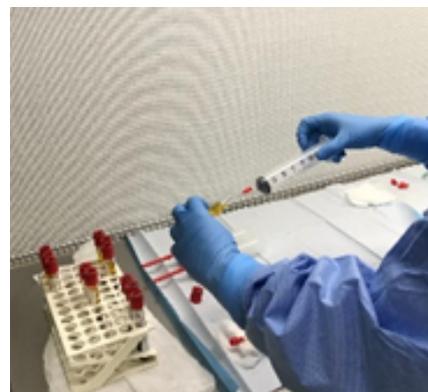


Figura 19.

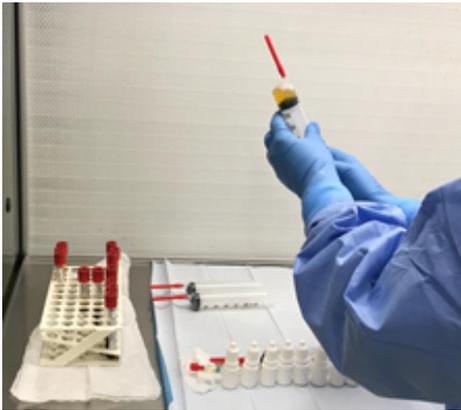


Figura 20.

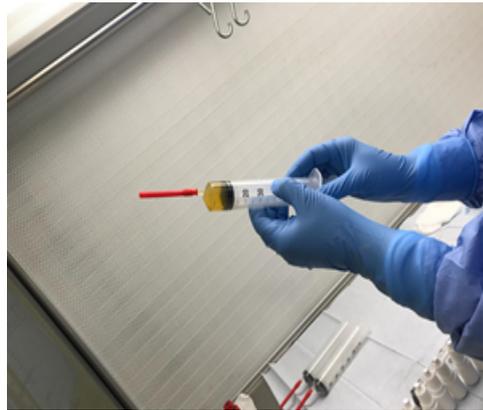


Figura 21.



Figura 22.



Figura 23.

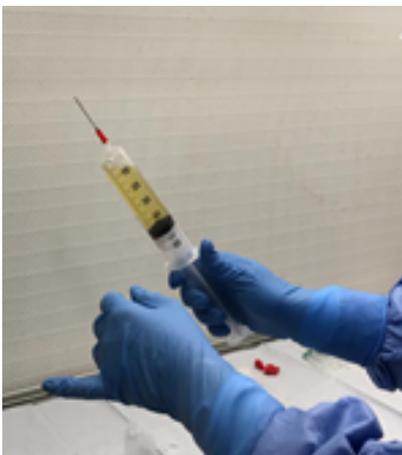


Figura 24.

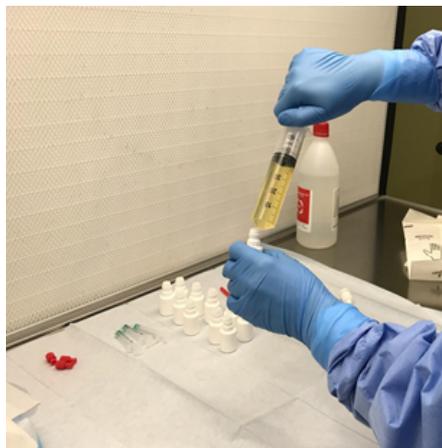


Figura 25.

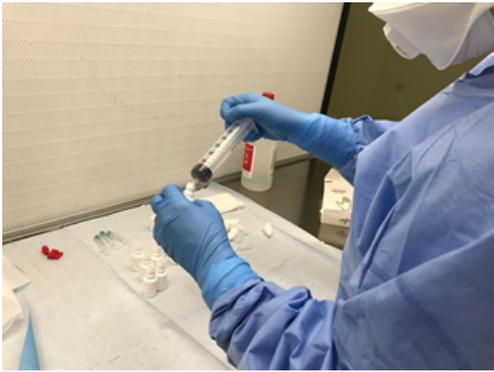


Figura 26.

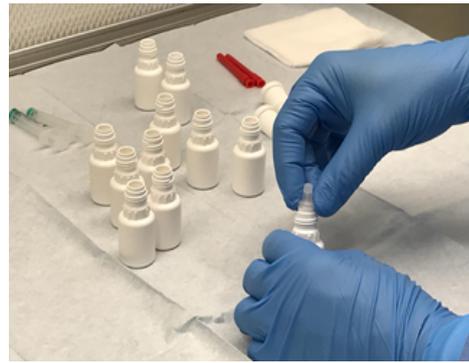


Figura 27.

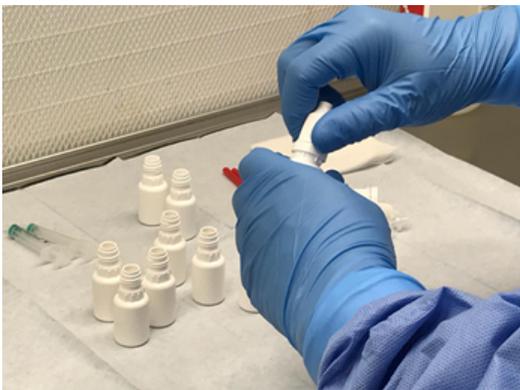


Figura 28.



Figura 29.



Figura 30.

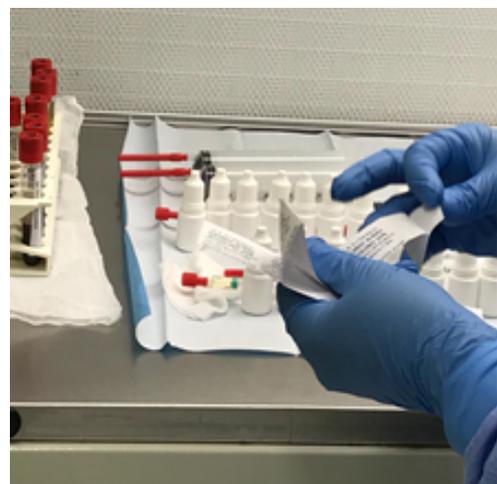


Figura 31.

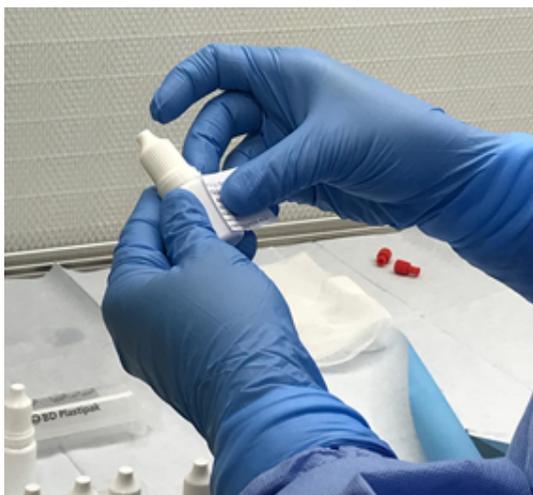


Figura 32



Figura 33.

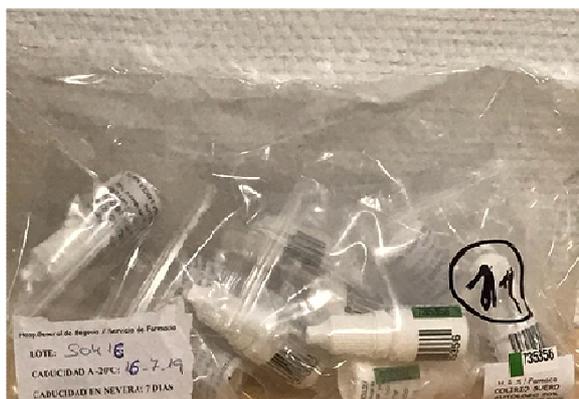


Figura 34.

Figuras 12-34. Diferentes momentos del proceso de realización del colirio de SA en el Complejo Asistencial de Segovia.

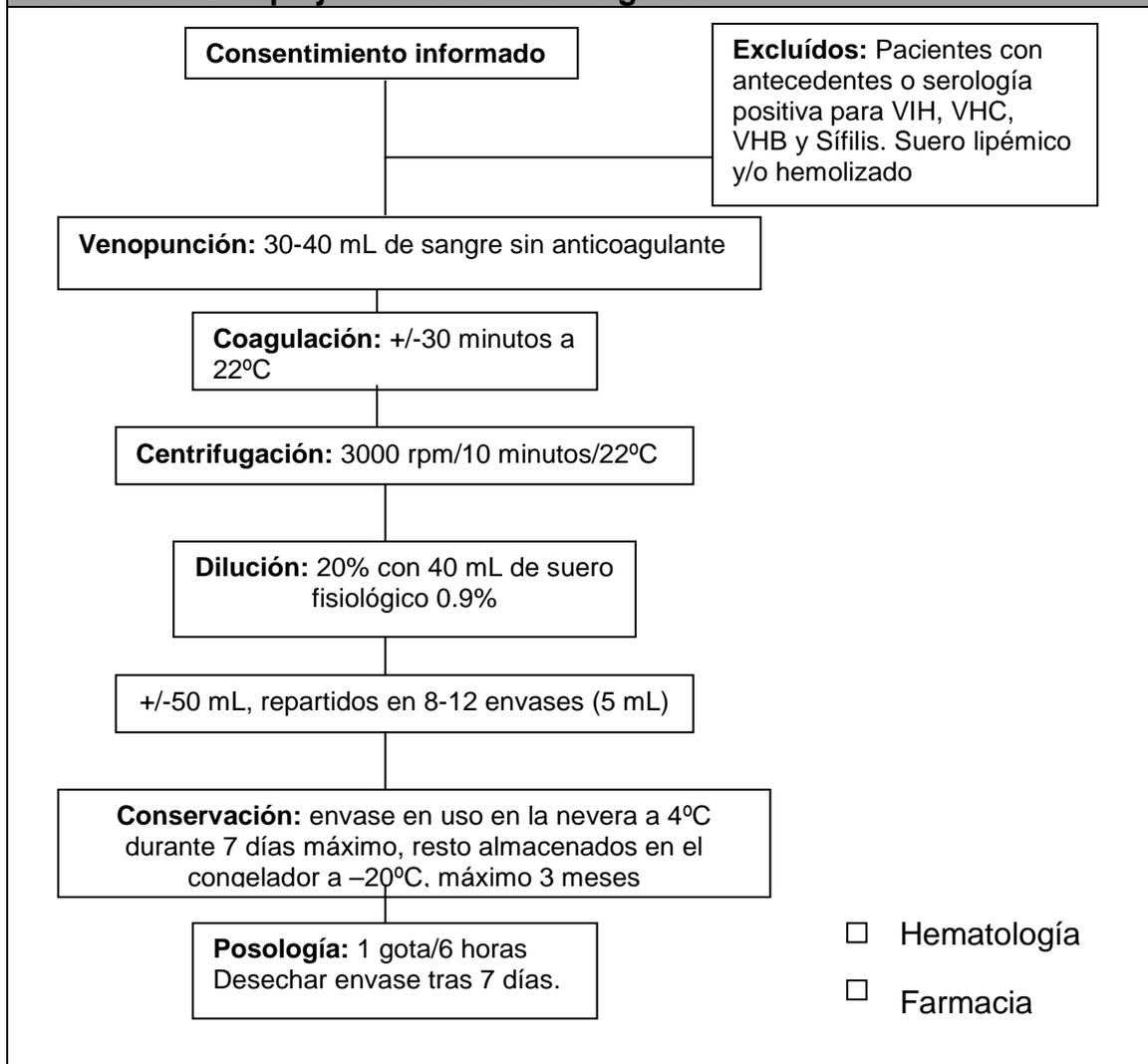
## 6.7 DISPENSACIÓN Y POSOLOGÍA

El colirio de SA, adecuadamente identificado, se entregó al paciente. Se le insistió de nuevo en la importancia del uso correcto y manejo de estos preparados, sobre todo en lo referente a las medidas de conservación e higiene a la aplicación de las instilaciones, así como a la manipulación de estos preparados por otras personas. Se insistió en la importancia de que el colirio en uso estuviese en nevera a 4°C y el resto, almacenado en el congelador a –

20°C hasta que fueran utilizados. Le indicamos que se aplicara **1 gota en cada ojo cada 6 horas** (4 veces al día) **durante 1 mes** consecutivo. Cada frasco tenía una semana de duración. Además, se instruyó y aconsejó al paciente para que desechara los frascos una vez ya utilizados, en un contenedor de material biológico (Anexo VI).

En la tabla VII, se resume el protocolo de preparación, dispensación y almacenamiento del colirio de SA que se siguió:

**TABLA VII. Protocolo de elaboración, dispensación y posología del colirio de SA en el Complejo Asistencial de Segovia.**



## 6.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con los datos obtenidos de las distintas variables y para el procesamiento de los mismos se realizó una **base de datos** utilizando el programa **Microsoft Excel 2013 para Windows**, recogiéndose las variables cuantitativas con su valor y asignando a las variables cualitativas un valor numérico que nos permitiera su posterior análisis estadístico.

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS v15.0. Se emplearon las siguientes herramientas estadísticas:

1. En la **Fase descriptiva** de las **variables cuantitativas** se utilizaron los principales parámetros de centralización, dispersión y posición (media, desviación estándar y rango). Para las **variables cualitativas** se utilizó el análisis de frecuencia, porcentajes y los límites de confianza del porcentaje.
2. En la **Fase comparativa** se compararon las variables del estudio antes y después del tratamiento con colirio de SA. Las herramientas estadísticas empleadas en esta fase comparativa fueron:
  - a. La comparación de **variables cualitativas** se realizó mediante **tablas de contingencia** y el cálculo de la **prueba de Chi Cuadrado**. Se empleó el **Test exacto de Fisher** si en la tabla de contingencia alguna frecuencia observada era inferior a 5.
  - b. El **análisis comparativo** de las **variables cuantitativas**, dado el tamaño muestral y tratarse de muestras apareadas, se realizó mediante la **Prueba de la Suma de Rangos de Wilcoxon** (estadística no paramétrica).
3. Finalmente, en la **Fase de correlación y análisis multivariante** se realizó:
  - a. Una primera fase de **correlación** que nos permitió explorar las correlaciones que había entre dos variables cuantitativas entre sí. Para ello empleamos los **Coefficientes de Correlación de**

**Pearson (r)** para estadística paramétrica y **Spearman (rho)** para no paramétrica.

El **coeficiente de correlación de Spearman (Rho)** intenta identificar el grado de correlación entre 2 variables cuantitativas:

- Puede ser POSITIVO si a medida que aumenta una variable, la otra también lo hace.
- Puede ser NEGATIVO si a medida que aumenta una variable, la otra disminuye.
- Su resultado puede oscilar entre -1 y +1, cuanto más se acerque el resultado a 0, indica que el grado de correlación es nulo o inexistente, y mientras más se acerque el resultado a los extremos (-1 o +1), indica que el grado de correlación es más fuerte.
- Existen diferentes puntos de corte para interpretar el resultado. Entre los más frecuentes se encuentran:

Escala 1	Escala 2
Rho Perfecta = 1	Rho Escasa o nula = 0 – 0,25
Rho Excelente = 0.90 – 0.99	Rho Débil = 0,26 - 0,50
Rho Buena = 0.80 – 0.89	Rho entre moderada y fuerte = 0,51 - 0,75
Rho Regular = 0.50 – 0.79	Rho entre fuerte y perfecta 5 = 0,76 - 1,00
Rho Mala < 0.50	

Por último, el grado de correlación entre 2 variables cuantitativas, se acompaña siempre de un valor de P, que representa su significación estadística.

- Una segunda fase de **ANÁLISIS MULTIVARIANTE**. En ella realizamos un análisis con muchas variables al mismo tiempo (no solo 2). En función del tipo de la variable principal del estudio, **número de CC**, (variable cuantitativa discreta), la

mejor elección de tipo de análisis será una **Regresión Lineal Múltiple**, en donde compararemos las modificaciones del número de CC, antes y después del tratamiento con colirio de SA, ajustado por todas las demás covariables del modelo. Uno de los parámetros estadísticos que nos arrojará la Regresión Lineal Múltiples es el **R-squared ( $R^2$ )**, que efectivamente es la proporción de variabilidad de la variable dependiente, explicada por la variabilidad en la variable independiente.

Para todo el análisis estadístico se consideró que existían diferencias estadísticamente significativas cuando había un nivel de significación de 95% ( $p < 0,05$ ).

## 6.9 CONSIDERACIONES ÉTICAS Y CONFIDENCIALIDAD DE DATOS

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigaciones Científicas del Complejo Asistencial de Segovia en Marzo de 2015 (Acta 07/2015).

El consentimiento informado (Anexo II) se solicitó por escrito respetando los términos de la Declaración de Helsinki. Todos los datos incluidos en la base de datos fueron anonimizados, no pudiendo en ningún caso identificar directa o indirectamente un sujeto individualmente. La base de datos permanece bajo claves de seguridad y sólo accesible a los investigadores. Además, el estudio cumple con la normativa internacional de protección de datos y la legislación española vigente (**Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales LOPDGDD**).

## ***VII. RESULTADOS***

## VII. RESULTADOS

### 7.1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DESCRIPTIVO

#### 7.1.1 GÉNERO

En la figura 35 aparece la distribución de los pacientes según su género. De los 24 pacientes incluidos en el estudio, 23 eran mujeres y 1 era varón.

Tabla VIII. Distribución de pacientes según género.			
		Frecuencia	Porcentaje
Sexo	Hombres	1	4,2
	Mujeres	23	95,8
	Total	24	100

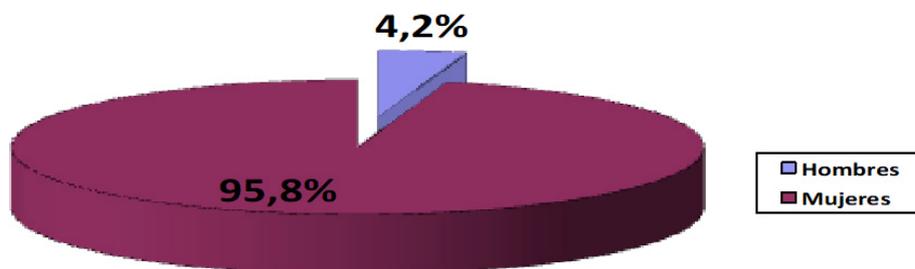


Figura 35. Distribución de los pacientes según el género.

### 7.1.2 EDAD

El valor medio de la edad de la población de nuestro estudio fue de 53,8  $\pm$ 12,6 años. El paciente más joven tenía 29 años y el mayor 72 años. En la figura 36 aparece el análisis descriptivo mediante histograma de la variable edad.

Tabla IX. Análisis descriptivo de la variable edad.		
	Edad (años)	Error tip.
Media	53,8	0,472
Mediana	54	
Desviación típica	12,6	
Mínimo	29	
Máximo	72	
Rango	43	

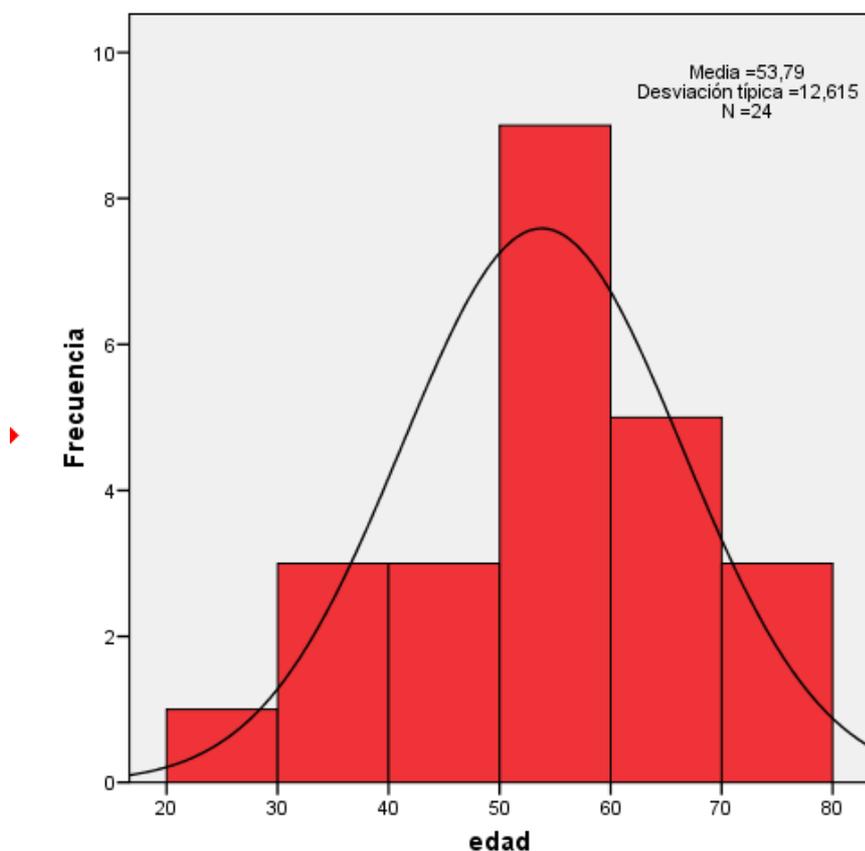


Figura 36. Histograma de la distribución de la edad de los pacientes.

### 7.1.3 CLASIFICACIÓN DE LA GRAVEDAD DE LA DED

El 41,7% de los pacientes del estudio presentaron una DED moderada. El 25% presentó una DED grave y el 33,3% restante presentó una DED leve. En la siguiente figura puede verse la distribución de la clasificación clínica de la DED de los pacientes del estudio.

Tabla X. Distribución de pacientes según la clasificación clínica de la DED.			
		Frecuencia	Porcentaje
Clasificación clínica	Leve	8	33,3
	Moderado	10	41,7
	Grave	6	25
	Total	24	100

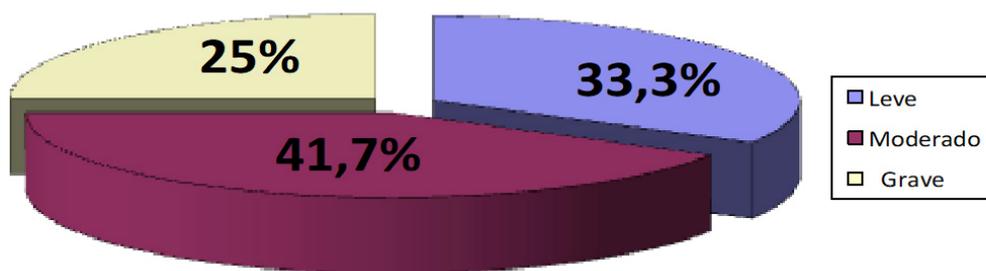


Figura 37. Clasificación clínica de la DED de los pacientes del estudio.

#### 7.1.4 PATOLOGÍA ASOCIADA

El 21% (n=5) de los pacientes del estudio estaban diagnosticados de artritis reumatoide (AR). El 29% (n=7) de los pacientes presentaba dolores articulares, pero no estaban etiquetados de ninguna patología reumática. El 50% restante (n=12) de los pacientes del estudio no presentó ninguna patología asociada a su DED.

Tabla XI. Patología asociada a la enfermedad del ojo seco de los pacientes del estudio.			
		Frecuencia	Porcentaje
Patología	Artritis reumatoide (AR)	5	21
	Dolores articulares	7	29
	Ninguna	12	50
	Total	24	100

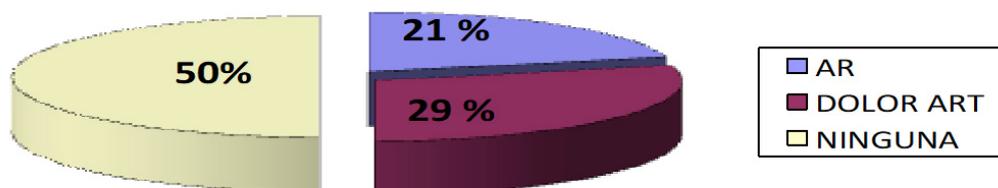


Figura 38. Patología asociada a la DED de los pacientes del estudio.

## 7.2 RESULTADOS DEL ANÁLISIS COMPARATIVO

### 7.2.1 COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LAS VARIABLES CUANTITATIVAS

En la tabla XII se presenta el análisis comparativo de las variables cuantitativas obtenidas mediante CIC por transferencia antes y después del tratamiento de la DED con el colirio de SA (número de CC, tamaño de las CC, densidad de CC, tamaño del núcleo de las CC, tamaño del citoplasma y relación núcleo/citoplasma).

<b>Tabla XII. Comparación de las principales variables de interés, obtenidas en la citología de impresión, antes y después del tratamiento.</b>				
<b>VARIABLE</b>	<b>PRETRATAMIENTO Media (DE)<sup>A</sup></b>	<b>POSTRATAMIENTO Media (DE)</b>	<b>DIFERENCIA</b>	<b>VALOR P<sup>B</sup></b>
<b>Número de CC<sup>C</sup></b>	202,3 (107,5)	210,1 (100,9)	-6,2	<0,01
<b>Tamaño de CC (µm)</b>	24,5 (3,3)	30,8 (3,7)	-6,3	<0,001
<b>Densidad de CC</b>	2,39 (0,91)	2,59 (0,72)	-0,2	<0,05
<b>Tamaño núcleo CC (µm)</b>	6,91 (1,69)	7,71 (2,33)	-0,8	<0,01
<b>Tamaño citoplasma CC (µm)</b>	26,29 (4,52)	26,62 (4,40)	-0,33	>0,05
<b>Relación N/C CC<sup>D</sup></b>	0,27 (0,08)	0,29 (0,1)	-0,02	<0,01

<sup>A</sup> Desviación Estándar. <sup>B</sup> Valor de P calculado mediante la Prueba de la Suma de Rangos de Wilcoxon. <sup>C</sup> Células Calificormes. <sup>D</sup> Relación Núcleo / Citoplasma Células Calificormes

En la figuras 39-44 se representan en gráfico de barras la variación del número de CC y el tamaño de las CC respectivamente, antes y después del tratamiento con colirio de SA También se presenta en diagrama box-plot la variación en el promedio del número de CC y tamaño del núcleo de CC respectivamente. En los tres casos se encontraron diferencias estadísticamente significativas antes y después del tratamiento con el colirio de SA.

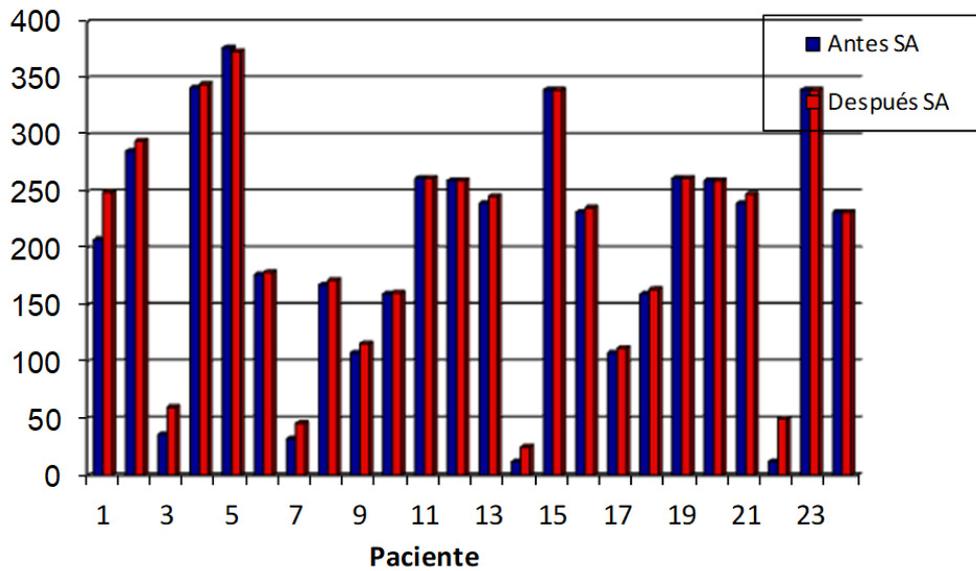
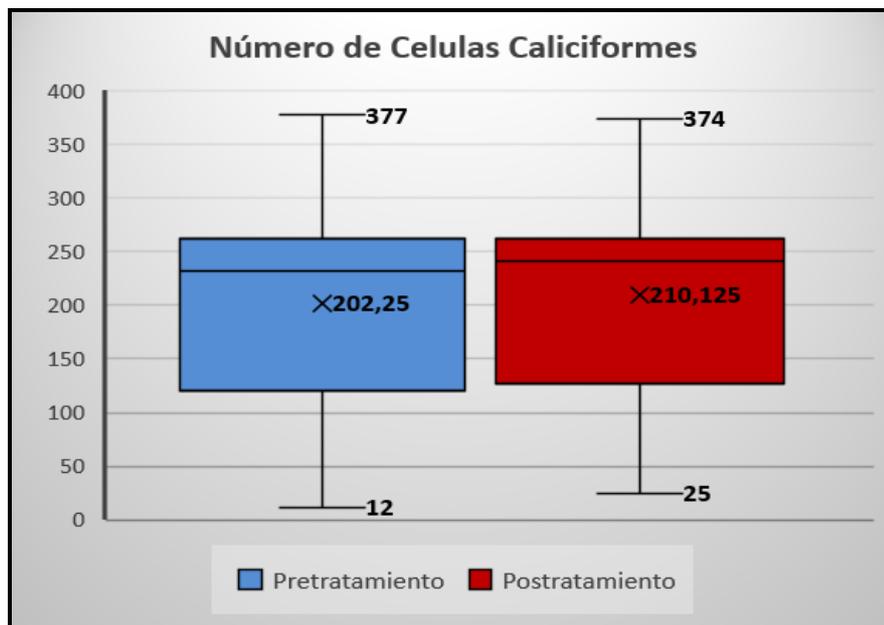


Figura 39. Variación del número de células caliciformes antes y después del tratamiento con suero autólogo



P<0,01

Figura 40. Variación en la media de Células Caliciformes antes y después del tratamiento con suero autólogo.

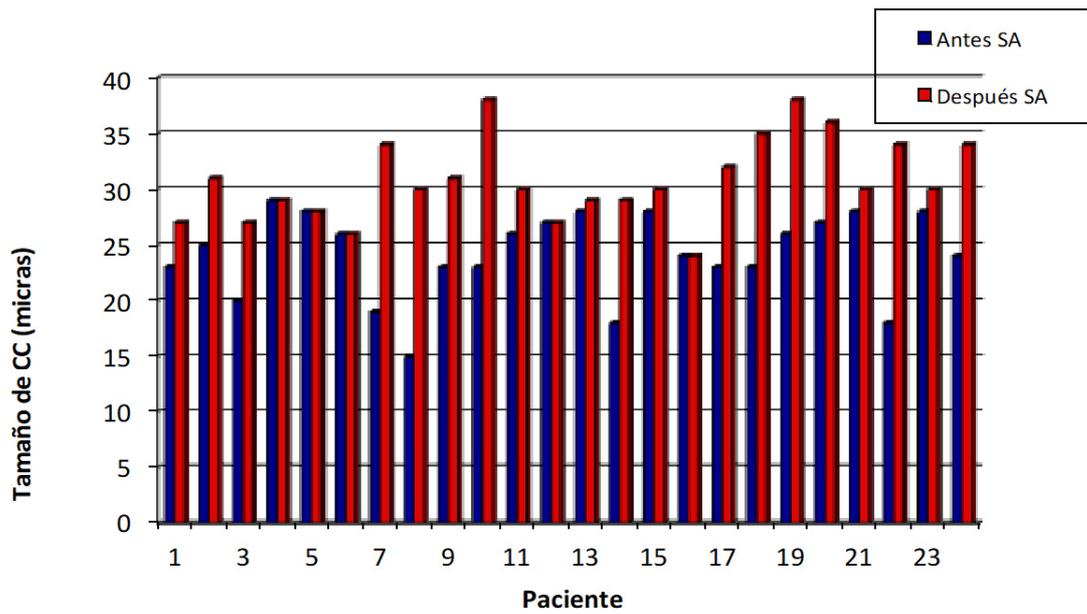
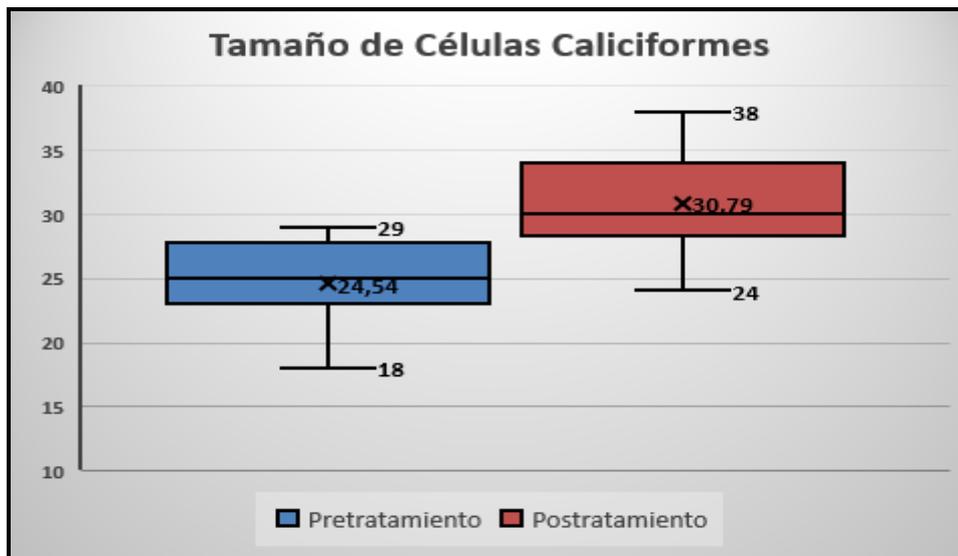


Figura 41. Variación del tamaño de las células caliciformes antes y después del tratamiento con suero autólogo



P<0,001

Figura 42. Comparación del tamaño de células caliciformes antes y después del tratamiento con suero autólogo.

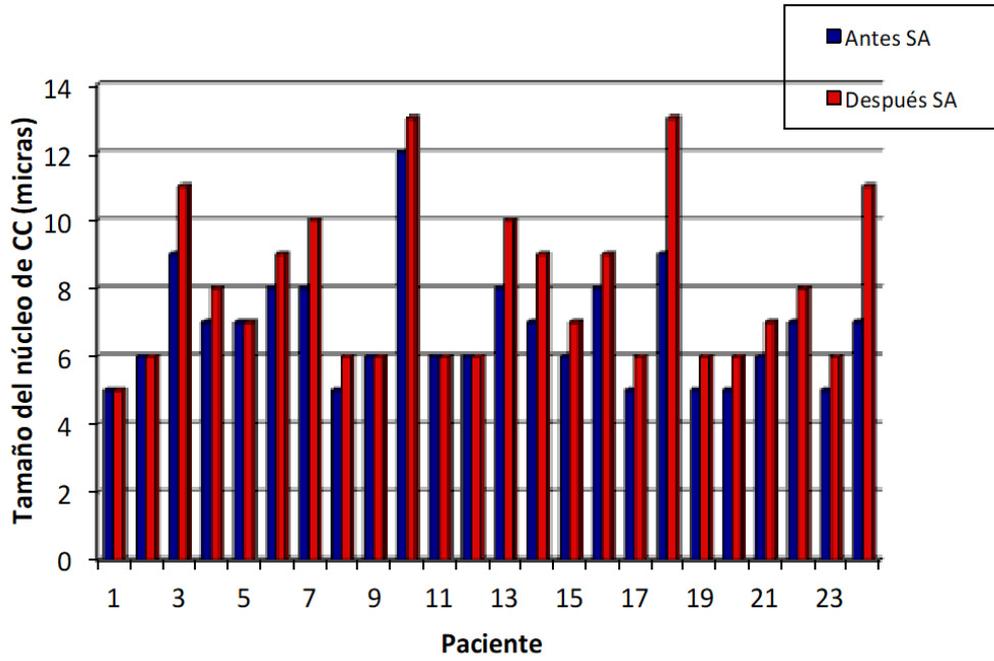


Figura 43. Variación del tamaño del núcleo de las células caliciformes antes y después del tratamiento con suero autólogo

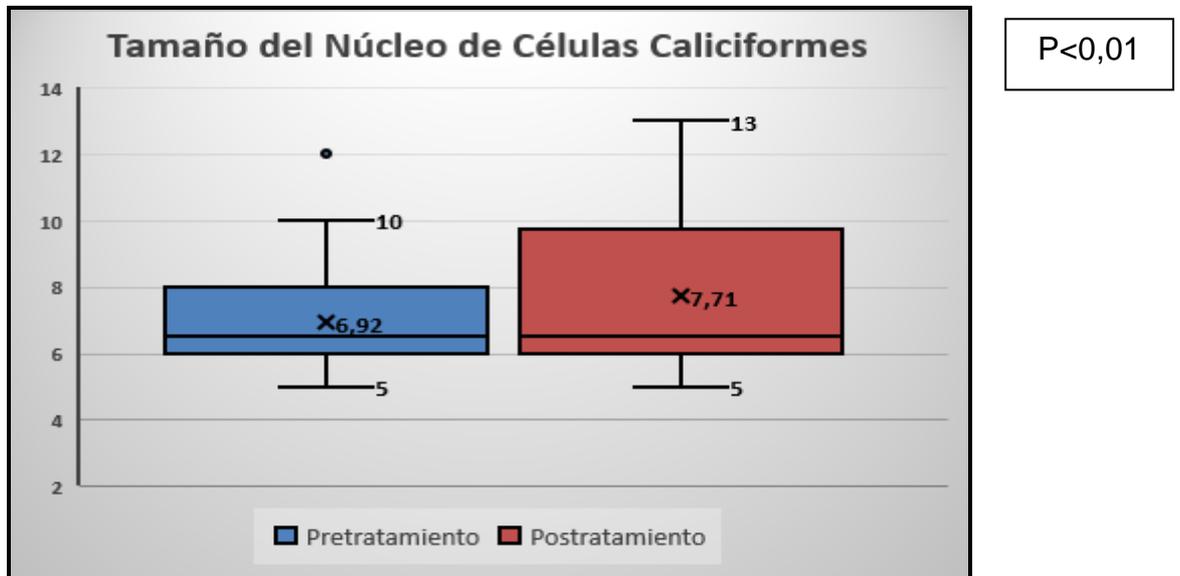


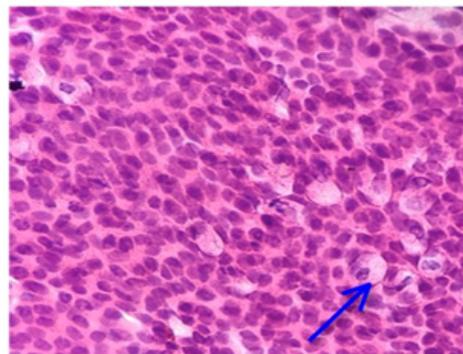
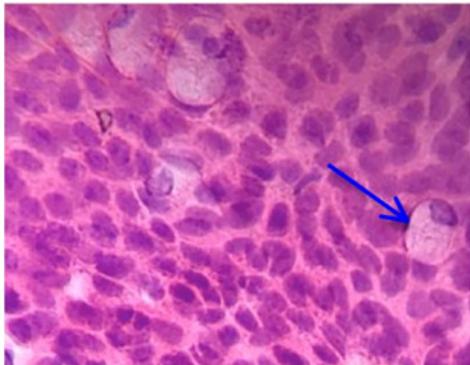
Figura 44. Comparación del tamaño del núcleo de células caliciformes antes y después del tratamiento con suero autólogo.

La figura 45 muestra los cambios histológicos en la CIC por transferencia en algunos de los pacientes del estudio antes y después del tratamiento con colirio de SA.

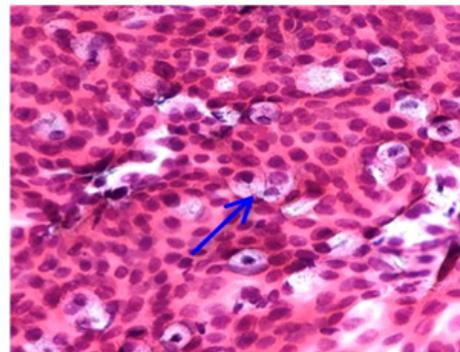
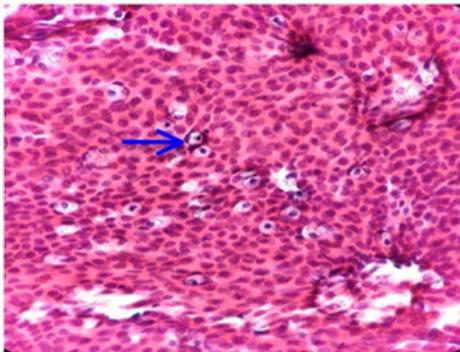
**ANTES DEL TRATAMIENTO**

**DESPUÉS DEL TRATAMIENTO**

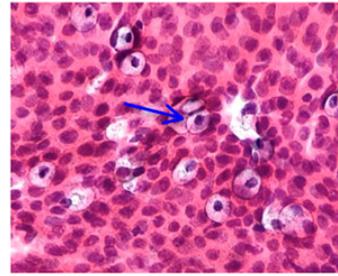
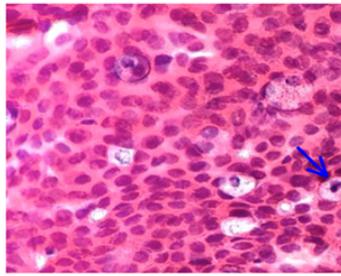
**Caso 1**



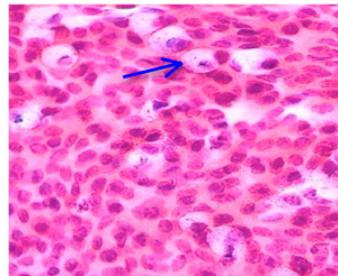
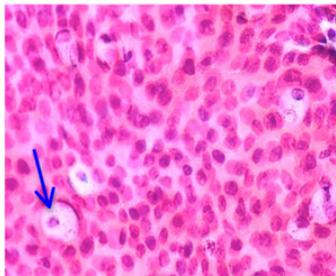
**Caso 2**



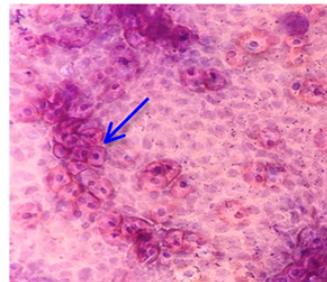
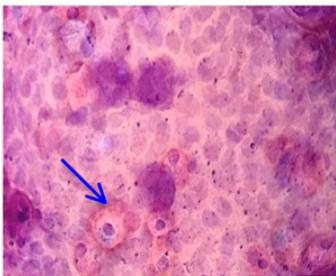
**Caso 3**



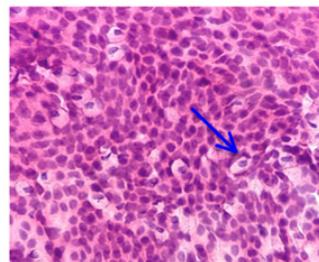
**Caso 4**



**Caso 5**



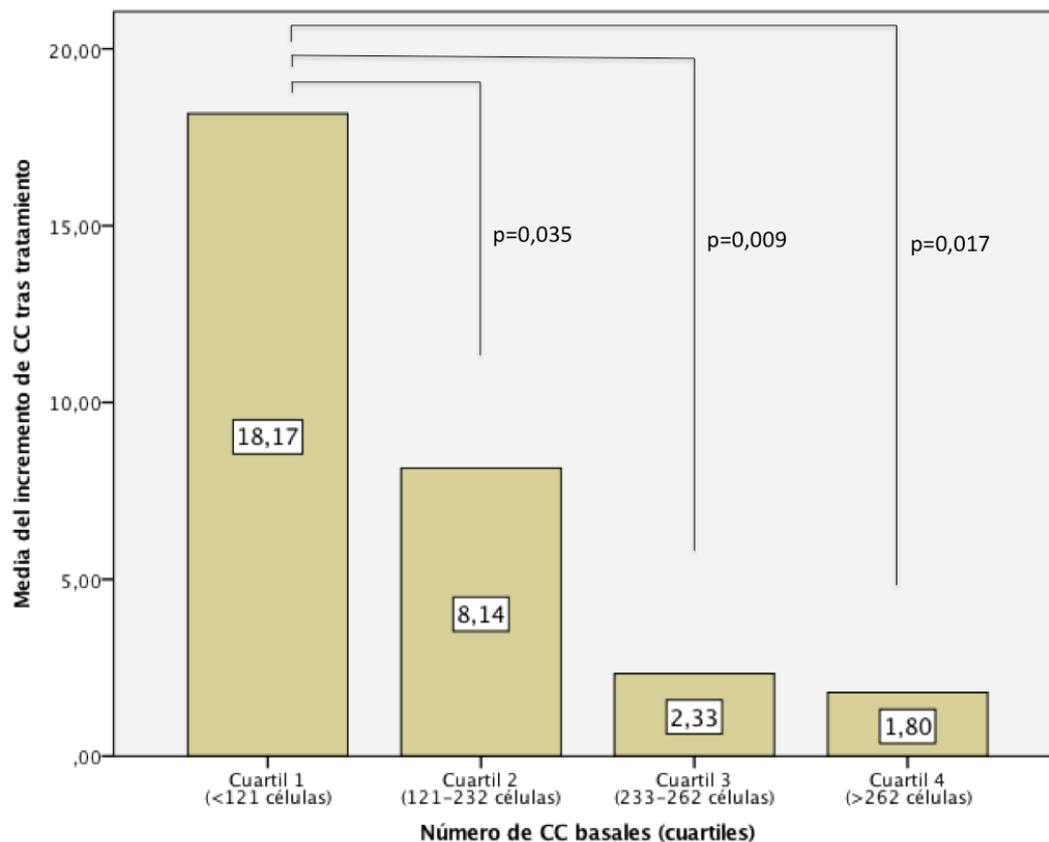
**Caso 6**



→ Células Caliciformes

Figura 45. Cambios histológicos en la Citología de Impresión Conjuntival por transferencia en algunos pacientes del estudio antes y después del tratamiento con colirio de SA.

Al dividir la población en 4 cuartiles de acuerdo con el número basal de CC obtenidos en la CIC por transferencia antes del tratamiento con colirio de SA, se observó que el incremento de la media de CC fue significativamente mayor en aquellos pacientes con un menor número basal de CC (aumento de  $18,1 \pm 15$  células en los pacientes del cuartil 1 vs.  $1,8 \pm 4,5$  en los del cuartil 4;  $p = 0.017$ ) (Figura 46).



CC: células caliciformes conjuntivales

Figura 46. Variación en la media del número de células caliciformes tras el tratamiento con suero autólogo según el número basal de células caliciformes obtenidos por citología de impresión conjuntival por transferencia.

A continuación se presentan las tablas de contingencia de las variables cuantitativas Test de Schirmer y Test de BUT antes y después del tratamiento con colirio de SA.

**Tabla XIII. Comparación de los Tests de Schirmer y de BUT, antes y después del tratamiento con suero autólogo.**

VARIABLE	PRE- TRATAMIENTO Media (SD) <sup>A</sup>	POST- TRATAMIENTO Media (SD)	DIFERENCIA	P <sup>B</sup>
Test Schirmer (milímetros)	5,29 (2,49)	6,62 (2,42)	1,33	<0,001
Test BUT (segundos)	10,87 (2,07)	12,45 (2,06)	1,58	<0,01

<sup>A</sup> Desviación Estándar. <sup>B</sup>P calculada según la prueba de la Suma de Rangos de Wilcoxon. BUT: Test de Tiempo de Ruptura Lagrimal.

### 7.2.2 COMPARACIÓN DE PORCENTAJES DE LAS VARIABLES CUALITATIVAS

Con respecto al **grado de metaplasia** obtenido en la CIC por transferencia antes y después del tratamiento con colirio de SA, el 16,7% de los pacientes presentaba una metaplasia de grado 4 (n=4); el 25% una metaplasia de grado 3 (n=6); el 41,7% una metaplasia de grado 2 (n=10) y el 16,7% una metaplasia de grado 1 (n=4) respectivamente antes del tratamiento. Después del tratamiento, en 7 pacientes (29.2%) el grado de metaplasia bajó en un nivel. Los 4 pacientes con metaplasia de grado 4 pasaron al grado 3 ( $p < 0,001$ ). Tres de los 6 pacientes con metaplasia de grado 3 pasaron al grado 2. En total, 7 de los 10 pacientes con metaplasia de grado 3 ó 4 mejoraron su grado de metaplasia en un nivel (Tabla XIV).

**Tabla XIV. Comparación del grado de metaplasia escamosa antes y después del tratamiento con suero autólogo.**

VARIABLE	PRE- TRATAMIENTO n (%)	POST- TRATAMIENTO n (%)	DIFERENCIA	P <sup>A</sup> VALUE
<b>Metaplasia</b>				
<b>Grado IV</b>	4 (16,7)	0 (0)	-4	<0,001
<b>Grado III</b>	6 (25)	7 (29,15)	+1	>0,05
<b>Grado II</b>	10 (41,7)	10 (41,7)	0	>0,01
<b>Grado I</b>	4 (16,7)	7 (29,15)	+3	>0.05

Los valores se expresan en número de casos y porcentaje. <sup>A</sup> Valor de P calculada mediante el Test Exacto de Fisher.

### 7.3 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE CORRELACIÓN

En la tabla XV se muestran las correlaciones entre todas las variables cuantitativas del estudio comparativo, antes y después del tratamiento con colirio de SA.

En la figura 47 se muestra el diagrama de puntos entre la correlación de la variable principal (número de CC) y las demás covariables del estudio respectivamente.

Correlaciones

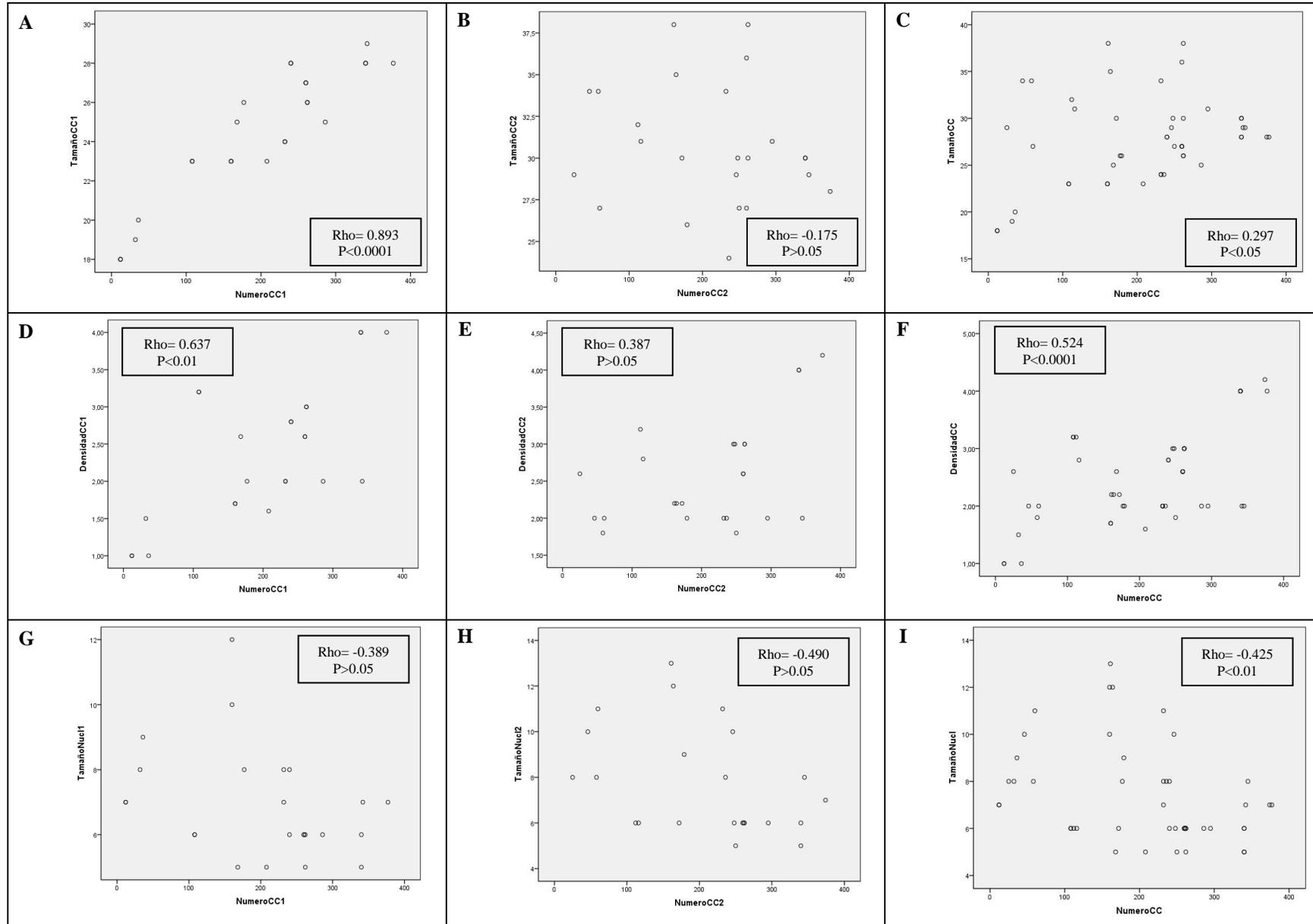
		TAMAÑOCC2	DENSIDAD2	DENSIDAD1	CITOPLA SMA1	TAMAÑO UCLEO1	TAMAÑO UCLEO2	TAMAÑO CITO1	TAMAÑO CITO2	RELACIO NNC1	RELACIO NNC2	NUMEROCC1	NUMEROCC2
TAMAÑOCC2	Correlación de Pearson	1	-,030	-,045	-,166	,185	,260	,176	,174	,005	,126	-,148	-,170
	Sig. (bilateral)		,888	,836	,439	,387	,219	,411	,416	,982	,557	,490	,428
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
DENSIDAD2	Correlación de Pearson	-,030	1	,883**	,351	-,338	-,429*	,557**	,506*	-,570**	-,597**	,514*	,487*
	Sig. (bilateral)	,888		,000	,093	,106	,037	,005	,012	,004	,002	,010	,016
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
DENSIDAD1	Correlación de Pearson	-,045	,883**	1	,245	-,481*	-,555**	,719**	,639**	-,819**	-,813**	,689**	,659**
	Sig. (bilateral)	,836	,000		,249	,017	,005	,000	,001	,000	,000	,000	,000
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
CITOPLASMA1	Correlación de Pearson	-,166	,351	,245	1	-,038	-,111	,011	,006	-,017	-,073	,450*	,464*
	Sig. (bilateral)	,439	,093	,249		,861	,606	,960	,978	,935	,735	,027	,022
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
TAMAÑOUCLEO1	Correlación de Pearson	,185	-,338	-,481*	-,038	1	,920**	-,025	,048	,742**	,736**	-,331	-,356
	Sig. (bilateral)	,387	,106	,017	,861		,000	,907	,823	,000	,000	,115	,088
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
TAMAÑOUCLEO2	Correlación de Pearson	,260	-,429*	-,555**	-,111	,920**	1	-,058	,035	,706**	,813**	-,387	-,412*
	Sig. (bilateral)	,219	,037	,005	,606	,000		,789	,869	,000	,000	,062	,046
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
TAMAÑO CITO1	Correlación de Pearson	,176	,557**	,719**	,011	-,025	-,058	1	,968**	-,676**	-,594**	,469*	,398
	Sig. (bilateral)	,411	,005	,000	,960	,907	,789		,000	,000	,002	,021	,054
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
TAMAÑO CITO2	Correlación de Pearson	,174	,506*	,639**	,006	,048	,035	,968**	1	-,592**	-,531**	,357	,285
	Sig. (bilateral)	,416	,012	,001	,978	,823	,869	,000		,002	,008	,087	,177
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
RELACIONNC1	Correlación de Pearson	,005	-,570**	-,819**	-,017	,742**	,706**	-,676**	-,592**	1	,935**	-,584**	-,554**
	Sig. (bilateral)	,982	,004	,000	,935	,000	,000	,000	,002		,000	,003	,005
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
RELACIONNC2	Correlación de Pearson	,126	-,597**	-,813**	-,073	,736**	,813**	-,594**	-,531**	,935**	1	-,564**	-,546**
	Sig. (bilateral)	,557	,002	,000	,735	,000	,000	,002	,008	,000		,004	,006
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
NUMEROCC1	Correlación de Pearson	-,148	,514*	,689**	,450*	-,331	-,387	,469*	,357	-,584**	-,564**	1	,995**
	Sig. (bilateral)	,490	,010	,000	,027	,115	,062	,021	,087	,003	,004		,000
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
NUMEROCC2	Correlación de Pearson	-,170	,487*	,659**	,464*	-,356	-,412*	,398	,285	-,554**	-,546**	,995**	1
	Sig. (bilateral)	,428	,016	,000	,022	,088	,046	,054	,177	,005	,006	,000	
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24

\*\* La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

\* La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

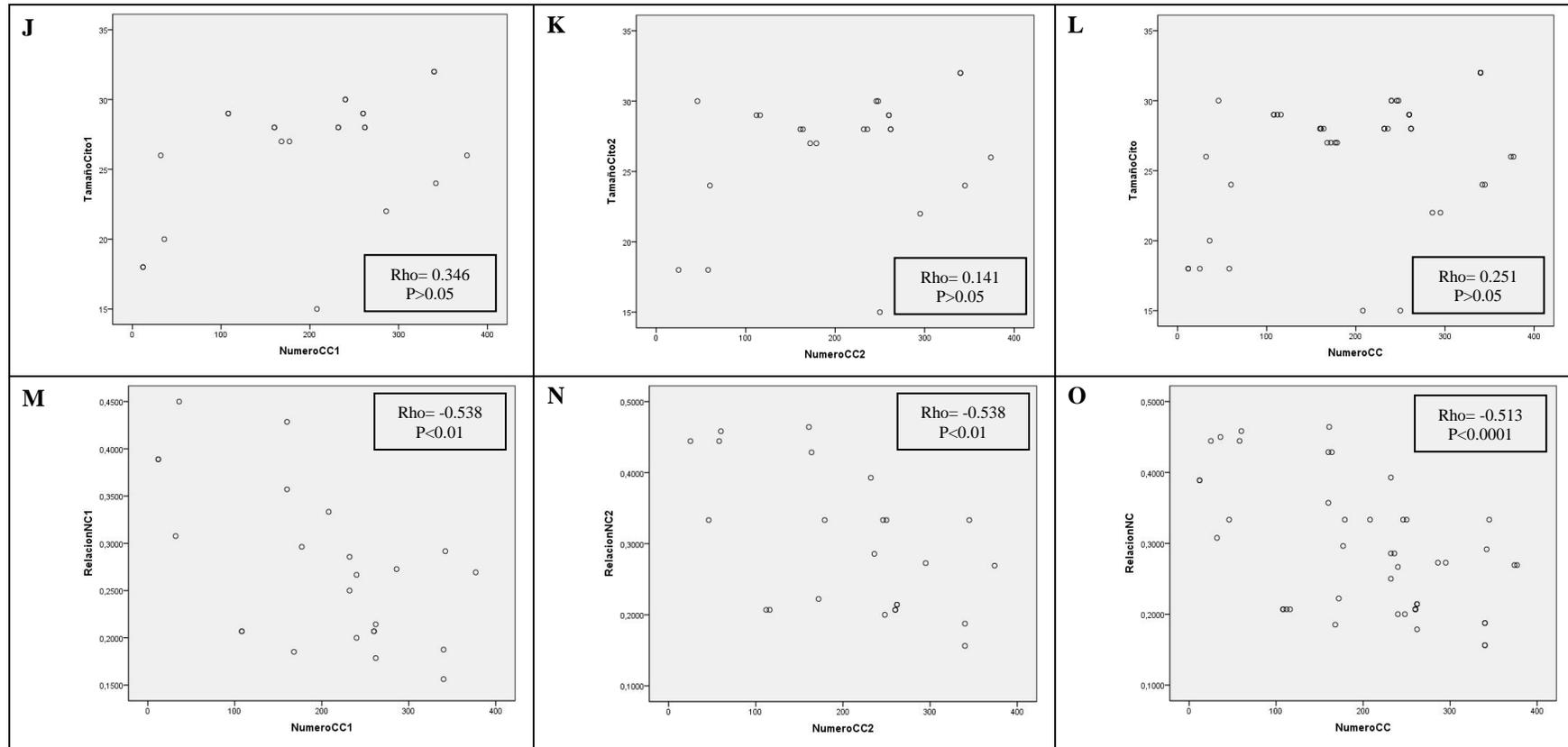
Tabla XV. Correlaciones de las variables cuantitativas de las células calciformes antes y después del tratamiento con SA.

Figura 47. Correlación entre la variable principal (Número de CC) y demás covariables.



Correlación entre el número y el tamaño de las Células Caliciformes: A. Pretratamiento, B. Postratamiento, C. General. Correlación entre el número y la densidad de las Células Caliciformes: D. Pretratamiento, E. Postratamiento, F. General. Correlación entre el número de Celulas Caliciformes y el tamaño del núcleo de las células caliciformes: G. Pretraamiento, H. Postratamiento, I. General. Valores de P calculados mediante Coeficiente de Correlación de Spearman (Rho).

Figura 47. Continuación. Correlación entre la variable principal (Número de CC) y demás covariables



Correlación entre el número de las Células Caliciformes y el tamaño del Citoplasma: J. Pretratamiento, K. Postratamiento, L. General. Correlación entre el número de las Células Caliciformes y la relación Nucleo/Citoplasma: M. Pretratamiento, N. Postratamiento, O. General. Valores de P calculados mediante Coeficiente de Correlación de Spearman (Rho).

De los 15 diagramas de puntos obtenidos previamente podríamos concluir (tabla XVI):

- El grado de asociación entre el número y el tamaño de las CC en la fase pretratamiento es significativo ( $Rho=0.893$ ;  $p<0.0001$ ), pero dicha asociación se pierde por completo en la fase postratamiento ( $Rho=-0.175$ ;  $p>0.05$ ). En un escenario general (analizando los datos pre y postratamiento), la **asociación entre el número y el tamaño de las CC es débil pero significativo** ( $Rho=0.297$ ,  $p<0.05$ ).
- El grado de asociación entre el número y la densidad de las CC en la fase pretratamiento es significativo ( $Rho=0.637$ ;  $p<0.01$ ), pero dicha asociación se pierde por completo en la fase postratamiento ( $Rho=-0.387$ ;  $p>0.05$ ). En un escenario general (analizando los datos pre y postratamiento), la **asociación entre el número y la densidad de las CC es débil pero significativa** ( $Rho=0.524$ ,  $p<0.0001$ ).
- El grado de asociación entre el número de CC y el tamaño del núcleo de las CC en la fase pretratamiento es no significativo ( $Rho=-0.389$ ;  $p>0.05$ ), no significativa en la fase postratamiento ( $Rho=-0.490$ ;  $p>0.05$ ). En un escenario general (analizando los datos pre y postratamiento), la **asociación entre el número y el tamaño del núcleo de las CC es débil pero significativa** ( $Rho=-0.425$ ,  $p<0.01$ ).
- El grado de asociación entre el número y el tamaño del citoplasma de las CC en la fase pretratamiento es no significativo ( $Rho=0.346$ ;  $p>0.05$ ), no significativo en la fase postratamiento ( $Rho=-0.141$ ;  $p>0.05$ ). En un escenario general (analizando los datos pre y postratamiento), la **asociación entre el número y el tamaño del citoplasma de las CC es no significativa** ( $Rho=0.251$ ,  $p>0.05$ ).
- El grado de asociación entre el número y la relación N/C de las CC en la fase pretratamiento es moderado y significativo ( $Rho=-0.538$ ;  $p<0.0001$ ), dicha asociación es moderada y significativa en la fase postratamiento ( $Rho=-0.538$ ;  $p<0.01$ ). En un escenario general (analizando los datos pre y postratamiento), la **asociación entre el**

número y la relación N/C de las CC es moderada y significativa (Rho=-0.513,  $p<0.0001$ ).

El principal objetivo de identificar el grado de asociación que puede haber entre variables cuantitativas, es perfilar las variables que pueden tener importancia (significación estadística) en el análisis multivariante.

**Tabla XVI. Correlación entre la variable principal número de células caliciformes antes del tratamiento y el resto de variables obtenidas en la citología de impresión conjuntival por transferencia después del tratamiento con colirio de suero autólogo.**

VARIABLES POST-TRATAMIENTO					
VARIABLES PRETRATAMIENTO	Número de CC	Densidad de CC	Tamaño del núcleo CC ( $\mu\text{m}$ )	Tamaño del citoplasma de CC ( $\mu\text{m}$ )	Relación N/C CC
Número de CC	0,995 $p<0,001$	0,514 $p<0,05$			-0,564 $p<0,05$
Tamaño de CC ( $\mu\text{m}$ )					
Densidad de CC	0,659 $p<0,001$	0,883 $p>0,001$	-0,555 $p<0,001$	0,639 $p<0,001$	-0,813 $p>0,001$
Tamaño del núcleo CC ( $\mu\text{m}$ )			0,920 $P<0,001$		0,736 $p<0,001$
Tamaño del citoplasma CC ( $\mu\text{m}$ )		0,557 $p<0,05$		0,968 $p<0,001$	-0,594 $p<0,05$
Relación N/C CC	-0,546 $p<0,05$	-0,570 $p<0,05$	0,706 $p<0,001$	-0,592 $p<0,05$	0,935 $p<0,001$

CC: Células Caliciformes, N/C: relación núcleo / citoplasma. P calculada según el Coeficiente de Correlación de Spearman (rho). Sólo se muestran los datos estadísticamente significativos.

#### 7.4 RESULTADOS DEL ANÁLISIS MULTIVARIANTE. REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE (RLM)

En una RLM intentamos incorporar más variables predictoras (independientes) en la explicación de un fenómeno, tratando de controlar que esas variables no ejerzan como variables confusoras.

En este caso, en el **análisis comparativo** encontramos un **aumento estadísticamente significativo en el número de CC tras la administración del tratamiento** (202.3 [107.5] vs 210.1 [100.9];  $p<0.01$ ).

Ahora intentaremos justificar mediante un RLM que dicho aumento, efectivamente está justificado por la variable “tratamiento” y no esté motivado por otras variables no valoradas (edad, sexo, etc)

Para ello, se inicia un proceso de “modelaje” (en este caso aditivo), en donde partiremos de un modelo simple con las 2 variables implicadas (Numero CC y tratamiento) e iremos añadiendo co-variables para ver el comportamiento del modelo.

En este primer paso, llama la atención que bajo el modelo de RLM; el número de CC no tiene cambios significativos ( $p=0.795$ ) tras la administración del tratamiento (Fase: 1:pretratamiento, 2:postratamiento). No obstante, al repetir el paso, pero usando como variable independiente el tamaño de las CC, si encontramos significación estadística. Es decir, hay un incremento significativo de  $6.25 \mu\text{ms}$  (IC95% 4.2-8.3;  $p<0.0001$ ) en el tamaño promedio de las CC tras la administración del tratamiento.

Habiendo encontrado significación con el tamaño CC, haremos el ejercicio de ir añadiendo covariables a este modelo. Añadiendo, estas co-variables al modelo, la variable “Tamaño CC” mantiene la significación, pero ninguna de las demás la logra, es decir que son variables confusoras que no afectan el resultado. No obstante, el proceso de modelado incluye la repetición del modelo adicionando y sustrayendo variables, ya que la interacción de unas variables con otras puede hacer que cambien su comportamiento y por ende, algunas que pierdan la significación por poco, puedan recuperarla con las variables más importantes.

En la tabla XVII se muestra el modelo final de la RLM:

- Encontramos un **incremento significativo de  $6.25 \mu\text{ms}$  (IC95% 4.219-8.281;  $p<0.0001$ ) en el tamaño promedio de las CC** tras la administración del tratamiento.
- El **incremento significativo de la densidad de las CC con el tratamiento** es de 1.461 (IC95% 0.307-2.614;  $p<0.05$ ).

- Un **54.1% de la variabilidad del tamaño** de las CC es explicado por el modelo actual (administración del **tratamiento, densidad de las CC y edad del paciente**).
- El resto de covariables analizados no demostró significación estadística ni cambios en el  $R^2$  en el proceso de modelado.

**Tabla XVII. Modelo de regresión lineal múltiple obtenido con las variables de la citología de impresión conjuntival por transferencia después del tratamiento con colirio de suero autólogo.**

VARIABLE	COEFICIENTE $\beta^A$	IC 95% <sup>B</sup>	P <sup>C</sup>
TAMAÑO DE CC <sup>D</sup> ( $\mu\text{m}$ )	0,674	4,2   8,3	<0,0001
DENSIDAD DE CC	0,255	0,307   2,614	<0,001
TAMAÑO DEL CITOPLASMA DE LAS CC ( $\mu\text{m}$ )	-2,489	-3,733   -1,224	<0,001

<sup>A</sup> Coeficiente  $\beta$ , <sup>B</sup> Intervalo de confianza 95%, <sup>C</sup>P calculada por el Modelo de Regresión Lineal Múltiple, <sup>D</sup> Células Caliciformes

## ***VIII. DISCUSIÓN***

## VIII. DISCUSIÓN

A continuación discutiremos los resultados obtenidos en nuestro trabajo, y los compararemos con los datos existentes en la literatura, punto por punto.

### 8.1 DISCUSIÓN DE LA POBLACION DEL ESTUDIO

La **prevalencia de la DED** oscila entre el **10 y el 20% de la población**, aunque en algunos países orientales puede llegar a un 33%.<sup>126</sup> Se piensa que una proporción de la variación observada en la prevalencia entre los estudios se relaciona con la diferencia en la definición empleada de la enfermedad.<sup>123-126</sup>

En cuanto a la **distribución por género**, la **DED es más frecuente en mujeres** que en hombres. La comparativa en la prevalencia de la DED en hombres y mujeres, ajustada a los distintos grupos de edad, muestra una tasa de prevalencia significativamente más alta en las mujeres y en todos los grupos de edad, **especialmente a partir de los 50 años**, con una prevalencia un 70% más alta en las mujeres frente a los hombres.<sup>127</sup> Nuestro estudio, coincide con esa distribución, al igual que otros estudios realizados.<sup>128-131</sup>

Otra de las variables estudiadas fue el **diagnóstico asociado a la DED**. El trabajo de Jordán-González P et al.<sup>132</sup> muestra que la condición reumatológica que más se asocia a la DED es el SS, pero no podemos olvidar los pacientes de AR y los pacientes de Lupus Eritematoso Sistémico. Song P et al.<sup>133</sup> en su estudio también encontraron mayor prevalencia de DED en mujeres mayores de 50 años, con AR y otras enfermedades inmunes.

El 25% de los pacientes de nuestro estudio presentaba una DED de grado grave, el 75% restante una DED leve o moderada. En nuestro estudio se incluyeron pacientes con DED leve-moderada, a diferencia de otros estudios de la literatura consultada,<sup>132,133</sup> en los que solo se incluyen pacientes con DED grave. Sin lugar a duda, y como veremos más adelante, el tratamiento de la DED con colirio de SA es más eficaz cuanto mayor es la gravedad de la DED, motivo por el cual encontramos diferencias en la clasificación clínica de la DED de nuestra población y la de otros artículos consultados.

En nuestro estudio, un tercio de los pacientes, tenían diagnóstico de AR y otros estaban catalogados como artrosis y dolores articulares y un cuarto de la población no tenía ninguna otra enfermedad asociada. Estos resultados son coherentes con los estudios de prevalencia publicados,<sup>134,135</sup> en los que los pacientes con enfermedades autoinmunes presentaban con mayor frecuencia síntomas de ojo seco, y de los que el 78% eran de sexo femenino.

La mayoría de los estudios contemplan **el SS como la enfermedad autoinmune que más frecuentemente se asocia a la DED**. En nuestro estudio no encontramos ningún paciente diagnosticado de SS. En el estudio de Kojima et al.<sup>106</sup> el 85% de pacientes con DED fueron diagnosticados de SS. El 80% eran mujeres, presentando los pacientes un rango de edad entre 50-75 años. Yoon et al.<sup>136</sup> encontraron que el 37% de pacientes con DED tenían también SS, como única enfermedad autoinmune. El 77% de los pacientes de su estudio eran mujeres. Sin embargo, Tsubota et al.<sup>50</sup> y Liu et al.<sup>137</sup> no especificaron variables demográficas (edad o género de los pacientes), y su población era exclusivamente de pacientes diagnosticados de SS. En los trabajos de Versura et al.<sup>138</sup> los pacientes incluidos con DED presentaban también SS, diferenciados claramente entre SS primario o secundario. En general, y aunque en nuestro estudio no se incluyó ningún paciente con DED y SS de manera concomitante, en la mayoría de los trabajos revisados se observa una alta frecuencia de la asociación entre la DED y el SS.<sup>106,135-140</sup>

## 8.2 DISCUSION DEL ESTUDIO COMPARATIVO

### 8.2.1 VARIACIÓN EN LA CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL POR TRANSFERENCIA

En nuestro estudio, la valoración histológica de la eficacia del tratamiento con colirio de SA se realizó midiendo el número, tamaño, densidad, tamaño del núcleo, tamaño del citoplasma y relación núcleo citoplasma (N/C) de las CC conjuntivales pre y post tratamiento con SA, mediante la técnica de CIC por transferencia.

La **CIC** es una técnica mínimamente invasiva que permite obtener una “biopsia” de la superficie ocular y determinar el grado de metaplasia escamosa de la superficie conjuntival.<sup>46</sup> Como ya se comentó, esta técnica ha sido empleada en el estudio de diversas enfermedades de la superficie ocular. Fue utilizada por primera vez por Egbert et al.<sup>44</sup> en 1977 siendo modificada posteriormente por otros autores de acuerdo con sus necesidades. Actualmente, no existe una técnica estandarizada de realización. La técnica empleada en nuestro estudio, es una modificación descrita por Minaya F.<sup>45</sup> y que podemos denominar **CIC por transferencia**. Esta técnica no está descrita anteriormente en la literatura. El motivo por el cual escogimos esta técnica es porque, en nuestra opinión, es la de mayor rentabilidad en cuanto a la obtención de una buena cantidad de tejido para estudio. En las técnicas de CIC sin transferencia o convencionales se procesa y se tiñe la tira de recogida de muestra con el porta, no se pierde tejido, pero se ve mucho peor al microscopio.

En nuestro estudio encontramos, una **mejoría significativa en el número, tamaño, densidad, tamaño del núcleo y relación N/C de las CC después del tratamiento con colirio de SA**. Las 3 variables que tuvieron una mejoría más significativa fueron: el tamaño, el tamaño del núcleo y el número de las CC. Esta mejoría fue **más evidente en los pacientes con DED grave**, mientras que en pacientes con DED leve y moderada, estos cambios en las CC fueron menores o no se produjeron.

Con respecto al **grado de metaplasia post tratamiento con colirio de SA**, en nuestro estudio ésta se **redujo en 1 grado, en los pacientes con DED**

**grave**, mientras que en pacientes con DED leve y moderada no se modificó. No hemos podido encontrar en la literatura estudios donde se demuestre mediante la CIC, el aumento en la densidad de las CC en pacientes con diagnóstico de DED previamente tratados con SA. Luna Martinez et al.<sup>141</sup> demostraron una disminución del grado de metaplasia escamosa y un aumento del número de CC estadísticamente significativos, mediante la toma de biopsia de conjuntiva bulbar, con el tratamiento con SA al 20% y con una dosificación de una gota, 4 veces al día, frente al tratamiento con carboximetilcelulosa ajustado a una misma dosificación.

Nuestros resultados sólo se pueden comparar en parte con los realizados por otros autores.<sup>56,141-143</sup> Los resultados obtenidos en los pacientes con DED grave fue similar en todos los estudios incluido el nuestro. Pero sólo en nuestro estudio se trataron con colirio de SA casos de DED leve, a diferencia del resto.

### **8.2.2 CAMBIOS EN LOS TESTS DIAGNÓSTICOS DE SCHIRMER Y BUT**

En nuestro estudio se emplearon el test de Schirmer, el test de BUT, y la CIC por transferencia, para evaluar el efecto del SA en la superficie ocular de los pacientes. Al igual que en otros estudios,<sup>139,143-146</sup> **el test de Schirmer y el test de But mejoraron significativamente en nuestro estudio**, tras el tratamiento con el SA durante 1 mes. Tsubota et al.<sup>50</sup> y Kojima et al.<sup>106</sup> encontraron mejoría en el test de BUT de pacientes tratados con SA al compararlos con el uso de lágrimas artificiales. Liu et al.<sup>137</sup> encontraron mejoría en el test de BUT y las tinciones con fluoresceína y el rosa de bengala. Noble et al.<sup>94</sup> en su estudio aleatorizado y prospectivo sólo encontraron mejoría en la sintomatología y en la CIC, no así en el test de Schirmer y el test de BUT. Yoon et al.<sup>136</sup> compararon el uso del colirio de SA con el uso de colirio de sangre de cordón umbilical (SCU) y describieron que ambos colirios mostraron mejoría en los síntomas, el test de BUT, la tinción corneal y la CIC. La mejoría con el colirio de SA sólo se encontró en los pacientes sin SS.

### 8.3 DISCUSIÓN DEL ESTUDIO ANALÍTICO

#### 8.3.1 DISCUSIÓN DEL ANÁLISIS DE CORRELACIÓN

En el análisis de correlación encontramos una **asociación estadísticamente significativa entre el número de CC y el tamaño, densidad, tamaño del núcleo, tamaño del citoplasma y relación N/C tras la administración del tratamiento con colirio del SA**. Estos datos no los podemos contrastar con la literatura, ya que no hemos podido encontrar estudios donde se demuestren estos datos de forma independiente mediante CIC por transferencia. Aunque en algunos estudios,<sup>94,140,147,148</sup> se observa una clara mejoría de la metaplasia escamosa de la CIC de estos pacientes, pudiéndose inferir de forma indirecta el aumento en el número y características histológicas de las CC ( ya que es un parámetro de valoración de la metaplasia).

#### 8.3.2 DISCUSIÓN DEL ANÁLISIS MULTIVARIANTE

En el **análisis multivariante** encontramos un **incremento significativo en el tamaño promedio de las CC, la densidad y el tamaño del citoplasma** de las mismas, **tras la administración del tratamiento con colirio del SA**, independientemente de la edad del paciente. No hemos podido encontrar en la literatura estudios donde se demuestre mediante CIC, el aumento en la densidad de las CC en pacientes con diagnóstico de DED previamente tratados con SA. En nuestra opinión, esto es debido al efecto trófico de los FC que posee el colirio de SA, favoreciendo la proliferación, migración y diferenciación de las células epiteliales. También se debe a la acción directa de la vitamina A sobre las CC, produciendo un aumento del número y tamaño de las mismas.

### 8.4 DISCUSIÓN DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON COLIRIO DE SA

La Medicina Basada en la Evidencia es hoy en día el criterio seguido por muchos especialistas en materia de salud, cuando no existen ensayos clínicos, para mostrar la utilidad de un tratamiento. En el caso del empleo del colirio de

SA en el tratamiento de la DED existen ensayos clínicos demostrando la eficacia del mismo.<sup>149</sup> No obstante, el empleo del colirio de SA en la DED aún no está generalizado, iniciándose su empleo cuando el tratamiento convencional con lágrima artificial no ha sido suficiente.

En el año 2004 y 2005 se empezó a hablar de la utilidad del colirio de SA en pacientes con úlceras neurotróficas y con queratitis sicca, cuando los tratamientos previamente empleados no conseguían ninguna mejoría.<sup>94-104</sup> Actualmente, el colirio de SA se emplea para el tratamiento de diversas patologías en Oftalmología, sin que exista un protocolo de su indicación, quedando ésta únicamente a criterio del Oftalmólogo.

Algunos estudios,<sup>56,94,139-148,150-153</sup> han encontrado mejores resultados con la utilización del colirio de SA en patologías como queratitis sicca, defectos epiteliales persistentes o úlceras corneales, ya que en estos casos, existe una ausencia de factores epiteliotróficos y la utilización del colirio de SA presenta clara mejoría. Tananuvat et al.<sup>139</sup> compararon el uso del colirio de SA frente al uso de lágrimas artificiales en la DED, y aun sin encontrar diferencias estadísticamente significativas, afirmaron que el grupo tratado con SA presentó una clara tendencia a la mejoría de la sintomatología, incluyendo cambios en la CIC. Noble et al.<sup>94</sup> sin embargo, utilizando el SA en 11 pacientes encontraron una mejoría significativa sólo en la CIC, no así en los otros test diagnósticos.

Tsubota et al.<sup>50</sup> señalaron que el SA al presentar características bioquímicas y biomecánicas similares a la lágrima, ser hipoalergénico y aportar factores tróficos a la superficie ocular, es el tratamiento de elección en la DED grave secundaria al SS. En esta patología, al encontrarse, tanto la producción basal como refleja de lágrima muy disminuidas, es necesario aportar exógenamente los factores tróficos contenidos en el SA para mantener la integridad de la superficie ocular.

Pflugfelder et al.<sup>154</sup> observaron que el balance de citoquinas en las lágrimas de los pacientes con SS, frente a la composición de su SA, estaba alterado a favor de un aumento de citoquinas proinflamatorias y un descenso de FC conforme a la gravedad de la DED.

Harloff et al.<sup>62</sup> encontraron que la capacidad de migración celular del SA de pacientes con AR y tratamiento inmunosupresor estaba disminuida en pacientes con DED grave frente a individuos sanos. Stenwall et al.<sup>155</sup> propusieron también que el suero de pacientes con enfermedades autoinmunes podía contener citoquinas proinflamatorias y que el uso de un suero heterólogo (SH) adaptado, seleccionado por su contenido en citoquinas antiinflamatorias, podría mejorar el efecto antiinflamatorio del SA.

En nuestra opinión, no existe ningún artículo que defina la **dosis y la concentración más adecuada del SA a utilizar en el tratamiento de la DED**. Poon et al.<sup>80</sup> demostraron que el SA en concentraciones del 50% y 100% fueron más eficaces en la resolución de la sintomatología. Cho et al.<sup>156</sup> y Gus et al.<sup>157</sup> compararon el uso de SA al 50% frente al uso de SA al 20%, sin encontrar superioridad de eficacia de uno frente al otro respectivamente. Sin embargo, encontraron que cuanto mayor era la concentración a la que se empleaba el SA, mayor era el riesgo de que aparecieran depósitos de inmunocomplejos. También por esta razón, Geerling et al.<sup>55</sup> contraindicaron el SA a altas concentraciones ( $\geq 50\%$ ), en pacientes con trasplante corneal, por presentar mayor riesgo de rechazo. Sin embargo, los mismos Poon et al.<sup>80</sup> y Geerling et al.<sup>55</sup> consideraron que la respuesta al SA en el tratamiento de las úlceras corneales era dosis dependiente, aconsejando por lo tanto extracciones de sangre con mayor frecuencia, para obtener así un SA más denso y de concentración al 50%, que permitía un mejor cierre de la úlcera corneal.

En nuestro estudio, empleamos colirio de SA al 20%, porque en la bibliografía revisada es la concentración que la mayoría de los autores recomiendan como eficaz clínicamente y bien tolerada por los pacientes, permitiéndonos así reducir la posible aparición de efectos adversos y consiguiendo por lo tanto una mayor adherencia de los pacientes al tratamiento.<sup>31,50,106,136,141,143,147</sup>

## 8.5 DISCUSIÓN DE LA PREPARACIÓN DEL COLIRIO DE SA

En la **preparación del colirio de SA** en nuestro hospital intervienen los Servicios de Hematología (Banco de Sangre) y Farmacia. Existe una gran

variabilidad en el proceso de preparación, almacenaje y dispensación del colirio de SA.

El colirio de SA, al tratarse de un producto para uso individual, se considera una **fórmula magistral**, actualmente reconocida como medicamento y en nuestro país, sus normas de elaboración están reguladas por el **Real Decreto 175/2001 de 23 de febrero**.<sup>158</sup> La distribución de productos farmacéuticos está regulada por leyes gubernamentales en la mayoría de los países. En EEUU, la Food and Drug Administration (FDA) controla la comercialización de los productos farmacéuticos. En la Unión Europea, cada país miembro es soberano a la hora de autorizar la comercialización de fármacos. En países como Alemania, el protocolo estándar de preparación sigue las directrices de la Guía del Bundesärztekammer (Colegio de Médicos) y del Instituto Paul Ehrlich para donación y uso de productos hemáticos.<sup>55,145</sup> En Inglaterra y Gales el protocolo estandarizado de preparación del colirio de SA sigue los principios recomendados por el Servicio Nacional de la Sangre y la Agencia de Control de Medicamentos de Gran Bretaña y de acuerdo con la guía para predepósito de autodonación de sangre del British Committee for Standard in Haematology.<sup>159</sup> En todos estos protocolos, al igual que en nuestro estudio, se aplicaron los mismos criterios para la preparación del colirio de SA que para la extracción de sangre destinada a donación, es decir, a los pacientes se les realizó previamente un despistaje de enfermedades infecciosas (VIH, VHB, VHC y sífilis), de tal forma que si la serología era positiva, se excluía al paciente directamente para el tratamiento con SA. En Inglaterra y Gales,<sup>159</sup> se excluyeron también, a pacientes con anemia o enfermedades cardiovasculares.

La **cantidad de sangre extraída** y el **tiempo** transcurrido **desde la extracción hasta la centrifugación**, también varía según los artículos publicados, desde 30 minutos hasta 48 horas. En nuestro estudio, se extrajeron 30 mL de sangre que se repartieron en tres tubos. Posteriormente se enviaron los tubos al Banco de Sangre, donde se centrifugaron y se enviaron al Servicio de Farmacia. El tiempo transcurrido entre la extracción de la muestra de sangre y la centrifugación de la misma, en nuestro estudio, fue de 30 minutos. Este dato es similar a los obtenidos en los estudios realizados por Noble et al.<sup>94</sup> y Liu et al.<sup>160</sup> Ambos estudios mantuvieron un tiempo de coagulación de 30 minutos,

aunque observaron que un tiempo de coagulación de al menos dos horas previas a la centrifugación estaba relacionado con un mayor efecto del SA sobre la migración y diferenciación de las células epiteliales, por lo que recomiendan dejar los tubos en una rejilla en posición vertical a 22°C durante dos horas para que la sangre coagule previo a la centrifugación. También encontraron en su estudio una mayor concentración de todos los factores relacionados en la migración y diferenciación celular.

Otra de las variaciones no estandarizadas en la preparación del SA es la diversidad en la **potencia y tiempo de centrifugación**. De ellos depende la cantidad de SA obtenido, la pureza del mismo, y la concentración de los factores relacionados en la migración y diferenciación celular. Tsubota et al.<sup>50</sup> y García et al.<sup>143</sup> centrifugaron las muestras durante 10 minutos a 5.000 rpm. Geerling et al.<sup>55</sup> centrifugaron a 3.000 rpm durante 15 minutos y consideraron que, con estas revoluciones y tiempo de centrifugación, se producía una cantidad importante de suero sin hemólisis. Igualmente, si se empleara menos fuerza de centrifugación, además de que se conseguiría menos cantidad de suero, en éste podrían quedar restos de membrana de plaquetas que podrían producir apoptosis celular e irritación durante su administración. Geerling et al.<sup>55</sup> compararon los resultados de su SA con respecto a los obtenidos por Tsubota et al.<sup>50</sup> encontrando que cuando centrifugaban a 3000 rpm durante 30 minutos el SA presentaba una mayor concentración de EGF pero una menor concentración de TGF- $\beta$ . Malavazzi et al.<sup>161</sup> centrifugaron el suero a 1.500 rpm durante una hora.

Dada esta variabilidad, algunos autores como Poon et al.<sup>80</sup> consideran que la fuerza de centrifugación no sólo depende del número de rpm, sino que también depende del diámetro del rotor y éste varía según el tipo de centrifugadora. Por lo que a la hora de centrifugar la sangre para la realización del SA, prefieren hablar de **fuerza «g»**, que englobaría tanto el número de rpm como el diámetro del rotor de la centrífuga. Esto les parece una medida más homogénea y aplicable, independientemente del modelo de la centrifugadora. Siguiendo esta consideración, Liu et al.<sup>160</sup> observaron en su estudio, que aumentando la fuerza de centrifugación de 500 a 3.000 g, aumentaba

considerablemente la concentración de EGF y Vitamina A en el SA, teniendo esto un efecto menos llamativo sobre el TGF- $\beta$ .

En nuestro estudio, las muestras fueron centrifugadas durante 10 minutos, a 3.000 rpm o (3100 g), dato que no coincidió con ninguno de los autores revisados previamente en la bibliografía. Esto es así porque el procesamiento de las muestras de suero sanguíneo destinadas a la preparación de colirio de SA se ajustó al protocolo de manejo de muestras de nuestro Banco de Sangre, procesadas con la centrifugadora Ortoalresa serie Digtor 21.

También existen discrepancias entre los autores en la **preparación del colirio de SA**, si debe realizarse con **suero fresco** o **suero congelado**. En nuestro caso, de cada tubo de 10 mL de sangre, obtuvimos aproximadamente 5 mL de suero, que posteriormente se envió al Servicio de Farmacia, donde se preparó el colirio de SA con suero fresco sin congelar.

Nosotros, al igual que Lagnado et al.<sup>162</sup> y Noble et al.<sup>94</sup> preparamos todos los envases de colirio de SA con suero fresco, dándoselos luego al paciente, e indicándole que los envases que vayan a ser utilizados deben mantenerse en la nevera a 4°C y el resto, almacenarlos en el congelador a -20°C o -30°C. Sin embargo, Tsubota et al.<sup>50</sup> refieren que los componentes del SA son estables durante un mes a temperaturas de +4°C y durante tres meses a -20°C. En esta línea, Sitaramamma et al.<sup>163</sup> analizaron el efecto en la disminución de la concentración proteica (especialmente de la IgA y la lizosima), de las muestras de lágrimas, cuando éstas eran almacenadas durante 4 meses a temperaturas de -20°C y -70°C. De ello infieren que el colirio de SA congelado no pierde sus propiedades.

Una vez en el Servicio de Farmacia, la preparación del colirio de SA, se realizó en condiciones asépticas y en una campana de flujo laminar, destinada a este fin. En nuestro estudio este paso coincidió con lo realizado por otros autores.<sup>37,55,56,94,143,156,160,164</sup> Al igual que otros autores,<sup>56,94,157,161-163</sup> no utilizamos filtro millipore en la preparación del SA. También existe controversia, en la **utilización** de estos **filtros**. Fox et al.<sup>48</sup> sí recomiendan el uso de filtros para separar del SA restos de fibrina que parecen reducir los efectos del mismo (la preparación del colirio de SA en su estudio se realizó con plasma congelado

previamente). También refieren que añade un efecto esterilizante al no dejar pasar microorganismos como bacterias.<sup>31,48</sup> López-García et al.<sup>31</sup> recomiendan la utilización de **filtros millipore** como el Durapore<sup>®</sup> o el Millipore Express<sup>™</sup>. En su estudio, observaron que estos filtros presentan un poro con un tamaño de 0,22  $\mu\text{m}$  y tienen una baja afinidad por las proteínas, siendo ambos útiles para los volúmenes que se manejan en el colirio de SA. Sin embargo destacan que el filtro Durapore<sup>®</sup> se satura y obstruye más fácilmente, y el filtro Millipore Express<sup>™</sup> presenta una membrana de poliéster sulfata, que la hace especialmente útil para el filtrado de estos productos biológicos.

Con respecto a la **dilución del suero para la preparación del colirio de SA** también existe controversia. Nosotros, al igual que la mayoría de los autores<sup>55,56,94,162,163</sup> de la bibliografía revisada, utilizamos **suero fisiológico** para hacer la dilución del suero y obtener colirio de SA. En nuestro protocolo añadimos 40 mL de suero fisiológico a 10 mL de suero sanguíneo, para conseguir una concentración final de SA al 20%. Este dato difiere de otros estudios, que para obtener una concentración final del colirio de SA al 20%, añadieron 8 mL de suero fisiológico.<sup>157,161</sup> Autores como Liu et al.<sup>160</sup> emplearon Suero Salino Balanceado (BSS) para la dilución, pues encontraron mayor proliferación de células epiteliales en los cultivos cuando el colirio de SA se realizó con BSS.

La **concentración de SA** en nuestro estudio fue del **20%**, y coincidió con la concentración utilizada por la mayoría de los autores revisados en la bibliografía.<sup>149,155,157,159,160,161,165-168</sup> Tsubota et al.<sup>50</sup> no encontraron diferencias significativas entre preparados de colirio de SA al 10% y al 20%, en la migración de células epiteliales en cultivos in vitro. En su estudio, Mukerji et al.<sup>164</sup> además de no encontrar diferencias significativas en las diferentes concentraciones del colirio de SA, observaron que la concentración al 20% parece suficiente y evita las molestias derivadas de la mayor viscosidad del SA a mayor concentración. Además resaltan la disminución considerablemente del número de extracciones de sangre y la mayor adherencia de los pacientes al tratamiento. Sin embargo, Poon et al.<sup>80</sup> Noble et al.<sup>94</sup> Cho et al.<sup>156</sup> Gus et al.<sup>157</sup> Hussain et al.<sup>165</sup> y Hwang et al.<sup>166</sup> utilizaron colirio de SA a concentraciones de 50% y 100%, y encontraron, que a estas concentraciones hay una mayor

respuesta en los efectos sobre la superficie ocular. Hay que destacar, que los pacientes que participaron en estos estudios fueron pacientes con DED grave, y SS grave, que habían agotado todas las demás formas de tratamiento convencionales.

Revisando la bibliografía, encontramos una gran variabilidad en la metodología de preparación, almacenaje y dispensación del colirio de SA. Asimismo, la mayoría de los autores coinciden en la necesidad de unificar criterios mediante estudios randomizados y multicéntricos para optimizar los resultados obtenidos con este tratamiento.<sup>94,169-172</sup> En la tabla XVIII se muestran las variaciones encontradas en la literatura referentes a las distintas fases de la preparación y aplicación del colirio de SA, mientras que en la tabla XIX se muestran de forma resumida las diferencias en la elaboración y dispensación del colirio de SA en diferentes publicaciones.<sup>55</sup> En la tabla XX se muestran los diferentes ensayos clínicos del uso del colirio de SA en el manejo de la DED.<sup>149</sup>

**TABLA XVIII. Variaciones en las distintas fases de elaboración, dispensación y almacenaje del colirio de SA. Adaptado de Geerling et al.<sup>55</sup>**

Fase de elaboración	Variaciones en artículos publicados
Fase de coagulación	0-2 días
Fuerza de centrifugación	1.500-5.000 rpm (300-4.000 g)
Tiempo de centrifugación	5-20 minutos
Dilución	20%, 33%, 50% ó 100%
Diluyente	SF, BSS
Antibióticos	Colirio de cloranfenicol
Envases	1-10 mL en jeringas de insulina o envases adaptados para uso oftálmico
Almacenamiento	-20° a +4°C
Posología	1 gota/hora a 1 gota/8 horas

*rpm: revoluciones por minuto, g: fuerza "g" de centrifugación; SF: Suero Fisiológico; BBS: Solución Salina Balanceada.*

**TABLA XIX. Diferencias en cuanto a metodología de elaboración y dispensación del colirio de SA en diferentes publicaciones. Adaptado de Geerling et al.<sup>55</sup>**

Autor	Año publicación	Concentración	Centrifugación rpm/g/minuto	Tiempo de coagulación	Frecuencia de instilación
Fox	1984	33%	500 g/10	-	2 h
Tsubota <sup>50</sup>	1999	20%	1.500 rpm/5	-	6-10 h
Rocha	2000	33%	500 g/10	-	1 h
Poon	2001	50-100%	4.000 rpm/10	2 h	3 h
Tananuvat <sup>139</sup>	2001	20%	4.200 rpm/15	-	4 h
Takamura	2002	20%	3.000 rpm/10	-	3-6 h
Ogawa	2003	20%	3.000 rpm/5	-	2 h
De Souza	2001	100%	-	-	1 h
García <sup>157</sup>	2003	20%	5.000 rpm/10	-	2 h
B. Castillo	2002	20%	1.500 rpm/5	-	8 h
Goto	2001	20%	1.500 rpm/5	-	2 h
Etchaberry	2007	20%	1.500 rpm/5	-	-
Solórzano	2008	20%	3.000 rpm/10	-	-
López García	2007/8	20%	3.000 rpm/10	2 h	4 h

*rpm: revoluciones por minuto; g: Fuerza "g" de centrifugación; -: dato no referido en el artículo.*

Tabla XX. Ensayos clínicos investigando el empleo del colirio de SA en el tratamiento de la DED <sup>149</sup>

Author	Evidence level	N	Indication	Follow-up	%Serum and diluent	Controls	Improved	No improvement
Noble et al., 2004	RCT (Level 1)	16	SS & KCS	3 M	50% (0.9 NaCl)	Crossover. Lubricants	Symptoms, GCD	
Kojima et al., 2005 <sup>106</sup>	RCT (Level 1)	10	SS & non-SS according to jap DEG	2 W	20% (0.9 NaCl)	AT upre	Symptoms, TBUT, CFS	Schirmer score
Noda-Tsuruya et al., 2006	RCT (Level 1)	12	LASIK	6 M	20% (0.9 NaCl)	AT	TBUT, CFS	Symptoms, Schirmer score
Yoon et al., 2007 <sup>136</sup>	RCT (Level 1)	41	SS, non-SS	2 M	20% (0.9 NaCl)	Umbilical cord Serum	Symptoms, TBUT, CFS, GCD; Better symptoms, CFS (at 2 M)	Schirmer score, corneal sensitivity, tear clearance.
Urzua et al., 2012	RCT (Level 1)	12	Severe non-SS based on DEWS criteria	2 W (cross over after 7 day washout)	20% AS	AT	Symptoms (OSDI)	Fluorescein staining, TBIJT
Celebi et al., 2014 <sup>147</sup>	Double-masked RCT (Level 1)	20	Schirmer <5 mm, TBUT <5s, OSDI >40, CFS >1	1 M	20% (0.9 NaCl)	Cross-over, Refresh upre	Symptoms, TBUT	Schirmer score, CFS
Husain et al., 2014	Retrospective chart review	63	Any patient using AS between June 2008 and January 2013 for at least 3 months	Up to 48 M	50% (0.9 NaCl)	None	Schirmer score, OSDI, CFS	
Hwang et al., 2014	Cohort comparison (Level 2)	20	1° SS"	1 M	50%	2° SS"	1° SS": Symptoms, CFS, TBUT	2° SS", possibly due to increased pro-inflammatory cytokine levels TBUT, TMH, dryness, discomfort
Jirsova et al., 2014	Interventional (Level 2)	17	Schirmer 1 < 5 mm/5 min; TBUT < 5 s; severe symptoms as defined in DEWS	3 M	20%	None	Schirmer score, various symptoms, CFS, Impression cytology	
López-García et al., 2014	RCT (Level 1)	26	SS	2 M	20% (0.9 NaCl)	AS 20% diluted with HA in contralateral eye	Symptoms, TBUT, CFS, GCD; Improved in both, but better in HA-AS	Schirmer score, VA
Semerano et al., 2014	Cohort comparison (Level 2)	26	Acute OSD (Dry eye, neurotrophic keratitis, Recurrent erosion)	16-31 W	50% (0.9 NaCl)	Chronic OSD	Epithelial defects all healed	18% recurrence in cronic OSD after cessation of AS
Aggarwal et al., 2015	Interventional (Level 2)	16	Photoallodynia (excluded those with OSD)	3 M	20% AS	None	Subbasal corneal nerve density & morpholgy, symptoms of photophobia	GCD density
Li et al., 2015	RCT (Level 1)	18	SS Chimer < 5mm, TBUT <5 s, CFS >5	6 W	50% (0.9 BSS)	Silicone hydrogel contact lenses	Symptoms, TBUT, CFS, but symptoms and CFS better in control	Schirmer score, BCVA
Mukhopadhyay et al., 2015	RCT (Level 1)	52	Chimer < 5mm	18 W – 6 on and 12 off (treatment)	20% (0.9 NaCl)	(1) AT (2) cord blood serum	Symptoms, TBUT, CFS	Schirmer score

1°/2° - primary/secondary (\*historical classification); 2 M – 2 months; AS – autologous serum; AT – Artificial tears; CFS – corneal fluorescein straining; CL – contact lens; GCD – Goblet cell density; GVHD – Graft versus host disease; HA – Hyaluronic acid; KCS – Keratoconjunctivitis sicca; Jap DEG – Japanese Dry Eye Group; LASIK – laser in-situ keratomileusis; M – Months; N – number of subjects treated with serum; NaCl – saline; OSD – Ocular surface disease; OSDI – ocular surface disease index; Oxford-punctate epitheliopathy score; RCT – Randomized controlled trial; s – seconds; SS – Sjögren syndrome; TBUT – tear breakup time; upre – unpreserved; VA – visual acuity; W – Weeks.

Con respecto al **envasado del colirio de SA**, en nuestro estudio el colirio de SA al 20% se envasó en frascos estériles especiales para colirios, con un volumen de 5 mL en cada frasco. Se identificó con el nombre y apellidos del paciente, lote del SA y fecha de elaboración, para luego congelarlo y posteriormente entregárselo al paciente. En el Servicio de Farmacia se lleva un registro del colirio de SA preparado, para poder tener una buena trazabilidad del producto (Anexo V). Coincidimos con otros autores en el envasado del colirio de SA.<sup>144,149,161,165,173-175</sup> En aquellos estudios en los que se utilizó plasma congelado para preparar el colirio de SA,<sup>31,143,161,163</sup> las muestras una vez envasadas fueron envueltas en papel aluminio, para proteger el contenido de la luz.

Previamente a la entrega del colirio de SA en Farmacia, el paciente recibió una **hoja de información** (Anexo VI) con las medidas de conservación e higiene a la hora de aplicar las gotas de colirio de SA, así como la manipulación del mismo por otras personas. No olvidemos que el colirio de SA es un fluido parenteral y por tanto puede transmitir enfermedades infecciosas. Poon et al,<sup>80</sup> utilizaron el colirio de SA junto con la instilación de colirio de antibiótico, como el cloranfenicol al 0,5%. Nakamura et al.<sup>167</sup> pusieron de manifiesto que el uso de antibióticos reducía los efectos del SA sobre el epitelio conjuntival. En nuestro estudio no administramos antibióticos junto con el colirio de SA y no encontramos ningún caso de infección en su utilización.

Con respecto a la aparición de **efectos tóxicos con el uso del colirio de SA**, en nuestro estudio no se presentó ningún efecto tóxico. Fox et al.<sup>48</sup> en 1984, reportaron la aparición de depósitos de IgA a nivel corneal en un paciente tratado con colirio de SA al 100%, con aplicación diaria con diagnóstico de DEP. En la literatura se describe que en pacientes con DED y AR, puede existir alguna relación entre la actividad del factor reumatoide y la existencia de anticuerpos en el SA, que podrían causar depósitos de inmunocomplejos, y éstos a su vez, generar una reacción inflamatoria secundaria.<sup>176</sup> Sin embargo, en nuestro estudio, los pacientes diagnosticados de AR que fueron tratados con colirio de SA no presentaron ningún efecto tóxico, ni reacción inflamatoria. Harloff et al.<sup>62</sup> en 2008, demostraron que el SA

de los pacientes que presentaban AR en fase activa y que estaban sometidos a tratamiento inmunosupresor, presentaba menor concentración de fibronectina y de TGF beta. Sin embargo Pasukijwatama et al.<sup>52</sup> en 2011, compararon los efectos epiteliotróficos del SA de pacientes con DED autoinmune, frente al SA de pacientes con DED no autoinmune. No encontraron diferencias significativas entre ambos grupos. Por lo tanto concluyen que el uso del colirio de SA no está contraindicado en pacientes con enfermedades autoinmunes, como la AR.

En cuanto a la **frecuencia de aplicación del colirio de SA**, también existe variabilidad entre los estudios. El número de gotas instiladas varía desde la aplicación horaria hasta la aplicación 3 veces al día. Algunos autores utilizan un frasco de colirio de SA para cada día de tratamiento. Otros utilizan cada frasco durante 7-10 días. Esta variabilidad también depende de la concentración de colirio de SA utilizado en los diferentes estudios. Aquellos autores que utilizaron concentraciones mayores de SA, la frecuencia de administración fue mas espaciada, cada 12 horas.<sup>156,157,165,166</sup> Los autores que emplearon concentraciones menores del colirio de SA (10 y 20%), la frecuencia de administración de éste varió desde cada hora, hasta cada 3 ó 4 horas.<sup>50,55,142-145,161</sup>

En nuestro estudio, al igual que López-García et al.,<sup>31</sup> utilizamos instilaciones de **1 gota de colirio de SA cada 6 horas**, utilizando el **mismo frasco durante una semana**. Además indicamos a los pacientes que los frascos vacíos, una vez utilizados y terminado su contenido, debían depositarse en un contenedor de residuos biológicos de los que había en el hospital.

## 8.6 NUEVAS PERSPECTIVAS DE TRATAMIENTO DE LA DED

El mecanismo fisiopatológico por el cual el colirio de SA es eficaz en el tratamiento de la DED está basado en la capacidad de regeneración del epitelio conjuntival inducido por los diferentes componentes del mismo, entre ellos el EGF, PDGF, FGF, Fibronectina, etc. Pero existen otros productos derivados de la sangre que también poseen capacidades regenerativas del epitelio conjuntival. Estos productos al poseer tantos o más FC y proteínas que el SA también se han empleado en el tratamiento de la DED en Oftalmología. Hablaremos a continuación, por orden de aparición en la literatura, del colirio de SH, colirio de plasma rico en plaquetas (PRP), colirio de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), colirio de SCU y colirio de membrana amniótica (MA) como aplicabilidad y perspectivas futuras en el tratamiento de la DED.

### 8.6.1 COLIRIO DE SUERO HETERÓLOGO (SH)

El SH es el suero obtenido de donantes sanos que se emplea en aquellos pacientes que no pueden beneficiarse de su propio SA por presentar serologías positivas para VIH, VHB, VHC y sífilis. La utilización de SH para el tratamiento de enfermedades oculares no está aprobado en nuestro país. Algunos países han diseñado un método estandarizado para la producción de SH,<sup>177-179</sup> que incluye como donantes potenciales varones sin medicación sistémica, que no hayan recibido transfusión de hemoderivados previamente, y con serologías negativas para VIH, VHB, VHC y sífilis. En estos casos, se extraen 450 mL de sangre total, de los cuales se obtienen 15 frascos de 5 mL de suero. Las muestras se conservan a -30°C durante más de 12 meses.

### 8.6.2 COLIRIO DE PRP

El PRP es un tipo de plasma que se obtiene de nuestra propia sangre separando los glóbulos rojos y los glóbulos blancos de las plaquetas. El proceso de separación del material sobrante para conseguir un PRP se realiza mediante la centrifugación de la sangre extraída al paciente. Es un producto obtenido del concentrado de **plaquetas NO activadas**, que al ser aplicado directamente sobre el tejido dañado libera altas cantidades de FC de forma

mantenida. Es por lo tanto una fuente principal de FC autólogos. El papel fisiológico esencial de las plaquetas en la cicatrización de heridas y en la reparación de tejidos, constituye la razón para el uso de derivados de plaquetas humanas en la MR. Los abundantes FC y las citoquinas almacenadas en los gránulos de las plaquetas pueden liberarse naturalmente mediante la activación de trombina y la coagulación, o artificialmente mediante la lisis plaquetaria mediada por congelación/descongelación, ultrasonidos o tratamiento químico. Existen cada vez más estudios que utilizan productos derivados de plaquetas para inducir la proliferación y diferenciación de células humanas.<sup>170-172</sup> Aunque también existe mucha variabilidad en las preparaciones del lisado de las plaquetas humanas que limitan la comparabilidad de los resultados.

El uso de los preparados ricos en plaquetas ha experimentado un aumento significativo en los últimos años debido a su papel en la reparación y regeneración tisular. Su uso en Oftalmología comenzó utilizando el PRP como un coágulo. Alio et al.<sup>171</sup> encontraron buenos resultados de la aplicación del coágulo de PRP en problemas refractarios de la superficie ocular. Su uso en Oftalmología como colirio comenzó en el tratamiento de enfermedades de la superficie ocular como la DED o los DEP. Actualmente su uso es limitado, por producir molestias y síntomas inflamatorios, al presentar el colirio de PRP elementos proinflamatorios, como membranas plaquetarias y leucocitos.<sup>172</sup>

### 8.6.3 COLIRIO DE PRGF

El **PRGF** se puede considerar como un paso o etapa más del PRP, ya que se trata de un plasma rico en plaquetas en el que se han liberado los gránulos alfa, **activando** así las **plaquetas** del PRP y obteniendo un plasma rico en FC. Esta activación plaquetaria del PRP para convertirlo en PRGF se realiza mediante cloruro cálcico. La ventaja de este colirio frente al de PRP es la ausencia de elementos proinflamatorios como son leucocitos o membranas plaquetarias.

El PRGF representa una alternativa terapéutica eficaz para el tratamiento de la DED resistente a los tratamientos convencionales. Constituye a priori, una alternativa terapéutica eficiente, fácil de aplicar en la práctica ambulatoria y

hospitalaria y con la capacidad potencial de reducir costes en cuanto al número de consultas y procedimientos quirúrgicos requeridos por el paciente. Sin embargo, no existe una estandarización al establecer la concentración y pauta idónea del colirio de PRGF, no sólo en función de la patología ocular a tratar, sino también teniendo en consideración aquellos factores individuales que pudieran afectar a la composición del mismo, como la edad, estado de salud general del paciente, etc. El colirio de PRGF parecen ser una opción terapéutica segura y efectiva en pacientes con estadios II-III de queratopatía neurotrófica por: virus herpes simple, distrofias corneales, cirugías corneales, parálisis del V par craneal, infección por virus de herpes zoster, quemaduras oculares por cáusticos,<sup>180</sup> ya que se ha observado que estimula la proliferación y migración de queratocitos y fibroblastos conjuntivales y reduce e inhibe la diferenciación a miofibroblastos inducida por TGFβ1.<sup>173-175,177</sup>

Freire et al.<sup>178</sup> realizaron un estudio in vitro, comparando la concentración de los diferentes FC en los diferentes SA utilizados a nivel ocular, y encontraron, que el **PRGF**, presentaba niveles significativamente mayores de **EGF** (tabla XXI).

**Tabla XXI. Concentraciones de los principales FC y proteínas de adhesión en voluntarios sanos entre SA, PRP y PRGF.**

Preparados hemáticos	EGF (pg/mL)	PDGF (ng/mL)	FGF (pg/mL)	Fibronectina (µg/mL)
Suero autólogo	417,9 ± 82,6	17,3 ± 3,7	58,5 ± 54,6	31112 ± 6758
PRP	279,8 ± 78,1	18,2 ± 6,4	57,0 ± 44,4	30547 ± 5104
PRGF	<b>489,1 ± 95,4*</b>	15,5 ± 4,6	58,2 ± 41,2	31832 ± 3563

\*Estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ) entre plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) y plasma rico en plaquetas (PRP) así como entre PRGF y suero autólogo. EGF: factor de crecimiento epidérmico; FGF: factor de crecimiento de fibroblastos; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas. Adaptado de: Anitua et al.<sup>179</sup>

López-Plandolit Antolín S.<sup>181</sup> en su trabajo de tesis doctoral, estudió la seguridad y tolerancia de la utilización del PRGF a tres concentraciones distintas: 20%, 50%, 100%, en pacientes con DEP sin observar ningún caso de infección, ni incremento en la neovascularización, ni fibrosis corneal secundario a su utilización. Concluye que la aplicación del PRGF a esas tres concentraciones es seguro y tolerable.

#### **8.6.4 COLIRIO DE SCU**

Es el **colirio** obtenido del **suero de la sangre del cordón umbilical**. Se extrae sangre después del parto (entre 60-80 mL) de la vena umbilical, y se maneja igual que el SA, con una dilución al 20%. Hasta el momento se ha usado con éxito en el tratamiento de: DED grave, EICH ocular y erosión corneal recurrente.<sup>170</sup>

#### **8.6.5 COLIRIO DE MEMBRANA AMNIÓTICA (MA)**

Es el colirio obtenido del **suero de la membrana amniotica de donantes con embarazo controlado y cesárea electiva**. Previa verificación de cribado serológico negativo de: HIV, HBsAg, HBc Anticuerpos, VHB por DNA, VHC-Anticuerpos, VHC por RNA, Sífilis y anticuerpos HTLV 1 y 2, se recoge la placenta y se preserva en cuarentena a 4°C hasta su procesamiento. El procesamiento consiste en la separación de la MA del corion y la correspondiente descontaminación con antibióticos (penicilina, estreptomina y anfotericina B). Posteriormente el tejido se somete a un proceso de triturado y centrifugación para obtener el extracto. El proceso concluye con la liofilización y posterior reconstitución para obtener un colirio al 20%. Este producto, contiene factores de crecimiento como: EGF, bFGF, HGF y Endostatina.

#### **8.6.6 PERSPECTIVAS FUTURAS**

Las perspectivas futuras de los productos derivados de la sangre incluyen la introducción de **gotas oculares personalizadas**, analizadas para determinar el contenido adecuado de los FC y las citoquinas según cada paciente y enfermedad de la superficie ocular.

Sin embargo, es posible que con la extensión del empleo colirios derivados de los productos plasmáticos enriquecidos a concentraciones del 100%, puedan aumentar los efectos adversos y la intolerancia, y con ello surja la necesidad de establecer protocolos para, bien proceder a la dilución de los mismos, o a la inactivación del complemento e IG, mediante calentamiento, como recientemente publica el grupo de Anitua et al.<sup>179</sup> en el uso del PRGF.

Para el futuro, queda la posibilidad de desarrollar un PRGF recombinante, enriquecido, mediante la adición al mismo, de ciertos FC, matrices biológicas o incluso células madre. Además, sería interesante asociarlo a determinados vehículos y/o presentaciones que permitiesen aumentar su permanencia en la superficie ocular.

Finalmente, sería necesario realizar más ensayos clínicos, que comparen la efectividad y eficiencia de los distintos colirios existentes, especialmente el colirio de PRGF, con respecto al colirio de SA, por tratarse éste del producto hemoderivado más consolidado en Oftalmología.

## 8.7 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La **primera limitación** de nuestro trabajo, hace referencia al **tamaño muestral**. Aunque el tamaño de la muestra se calculó mediante un muestreo probabilístico, teniendo en cuenta la variable más representativa (número de CC conjuntivales), el número final de los pacientes de nuestro estudio fue bajo (n=24). Esto ha impedido que en el análisis estadístico de los resultados hayamos podido estratificar nuestra variable dependiente, por diferentes estratos de otras variables independientes, puesto que al estratificar el número de pacientes en cada grupo, era demasiado bajo. Aún así, la recogida de estos 24 pacientes ha supuesto 1 año de seguimiento, puesto que la indicación del colirio de SA para el tratamiento de la DED, al menos en nuestro hospital sigue siendo baja, por no ser la primera opción terapéutica que se plantea en estos pacientes.

La **segunda limitación** de nuestro estudio, fue que el 95,8% de nuestros pacientes eran mujeres, y sólo hubo un paciente varón. Es cierto que la DED es una patología más prevalente en mujeres que en hombres 2:1, pero no tan elevada, como la distribución de los pacientes de nuestro estudio. Esta distribución tampoco nos ha permitido, estudiar si existen o no diferencias en la respuesta al tratamiento de la DED con colirio de SA, relacionado con el género de los pacientes.

La **tercera limitación** es la **ausencia de un brazo control con placebo o un comparador activo**. Sin embargo los cambios en la CIC por transferencia son observables y parecen consistentes con los encontrados por otros autores.<sup>73,98,164,165</sup>

Para finalizar podemos concluir que el empleo del colirio SA en el tratamiento de la DED, es eficaz, mejorando la clínica de los pacientes, puesto que mejora la reepitelización y la densidad de las CC. No obstante, sería recomendable realizar más estudios con poblaciones más amplias e idéntica metodología de estudio en pacientes con DED, para confirmar nuestros resultados.

## ***IX. CONCLUSIONES***

## IX. CONCLUSIONES

Las conclusiones de nuestro estudio son:

1. El **tratamiento con colirio de SA para la DED**, modificó la CIC por transferencia, **aumentando el número de CC**, el **tamaño** de las mismas a expensas del aumento de **tamaño de su núcleo** y aumento en la **relación nucleo-citoplasma**. Todos los **cambios producidos en la citología de impresión conjuntival por transferencia** fueron más significativos en los pacientes con **DED grave**.
2. Los pacientes con diagnóstico de DED, tratados con SA durante 1 mes, presentaron un **aumento en la densidad de las CC conjuntivales**.
3. El tratamiento con colirio de SA en pacientes con DED **modificó el test de Schirmer** y el **test de BUT** como consecuencia del **aumento de la capacidad mucínica de la conjuntiva**, al haber un aumento significativo del número y tamaño de las células caliciformes conjuntivales.
4. El **grado de metaplasia escamosa conjuntival mejoró** en **todos los pacientes** del estudio con DED tratados con colirio de SA.
5. Más del **90% de la población** de nuestro estudio fueron **mujeres**. El 75% de los pacientes de nuestra población, tenía edades comprendidas entre la 4ª y 7ª década de la vida, siendo la edad de 50 años la más frecuente. El **75%** de los pacientes presentaban una **DED leve y moderada**; **el 25% restante presentaba una DED grave**. En el **25%** de los pacientes de nuestra población, la **DED se asoció a AR**.
6. **Todos** los pacientes presentaron una **mejoría clínica** con el tratamiento administrado de colirio de SA (1 gota de colirio de SA cuatro veces al día durante 1 mes).
7. En nuestro estudio, **no** encontramos ninguna **reacción ni efecto adverso en el tratamiento con colirio de SA** en pacientes con DED. Todos los pacientes presentaron buena tolerancia y buena adherencia al tratamiento.

## ***X. BIBLIOGRAFÍA***

**X. BIBLIOGRAFIA**

1. Lin X, Huang J, Shi Y, Liu W. Tissue engineering and regenerative medicine in applied research: a year in review of 2014. *Tissue Eng Part B Rev.* 2015;21(2):177-86.
2. Vrana NE, Hasirci V, McGuinness GB, Ndreu-Halili A. Cell/tissue microenvironment engineering and monitoring in tissue engineering, regenerative medicine, and in vitro tissue models. *Biomed Res Int.* 2014;2014:951626.
3. Hong H, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, Kanagawa O, Nakagawa M, et al. Suppression of induced pluripotent stem cell generation by the p53-p21 pathway. *Nature.* 2009;460:1132-5.
4. Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, Kokubu Y, Südhof TC, Wernig M. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature.* 2010;25;463(7284):1035-41.
5. Roberts IS, Burrows C, Shanks JH, Venning M, McWilliam LJ. Interstitial myofibroblasts: predictors of progression in membranous nephropathy. *J Clin Pathol.* 1997;50:123-7.
6. Kropp BP, Zhang Y, Tomasek JJ, Cowan R, Furness PD 3rd, Vaughan MB, et al. Characterization of cultured bladder smooth muscle cells: assessment of in vitro contractility. *J Urol.* 1999;162:1779-84.
7. Ioannidou E. Therapeutic modulation of growth factors and cytokines in regenerative medicine. *Curr Pharm Des.* 2006;12:2397-408. Review.
8. Fu X, Li X, Chen B, Chen W, Sheng Z. Engineered growth factors and cutaneous wound healing: success and possible questions in the past 10 years. *Wound Repair Regen.* 2005;13:122-30.
9. Heitland A, Piatkowski A, Noah EM, Pallua N. Update on the use of collagen/glycosaminoglycate skin substitute. Six years of experience with artificial skin in 15 German burn centers. *Burns.* 2004;30:471-5.
10. Jiménez PA, Jiménez SE. Tissue and cellular approaches to wound repair. *Am J Surg.* 2004;187: 56S-64S.
11. Caplan AI, Reuben D, Haynesworth SE. Cell-based tissue engineering therapies: the influence of whole body physiology. *Adv Drug Deliv Rev.* 1998;33:3-14.
12. Lutolf MP, Hubbell JA. Synthetic biomaterials as instructive extracellular microenvironments for morphogenesis in tissue engineering. *Nat Biotechnol.* 2005;23:47-55.
13. Ho AD. Kinetics and symmetry of divisions of hematopoietic stem cells. *Exp Hematol.* 2005;33:1-8.

14. Rao M. Conserved and divergent paths that regulate self-renewal in mouse and human embryonic stem cells. *Dev Biol.* 2004;275:269-86.
15. Stewart R, Stojkovic M, Lako M. Mechanisms of self-renewal in human embryonic stem cells. *Eur J Cancer.* 2006;42:1257-72.
16. Tsai MS, Hwang SM, Tsai YL, Cheng FC, Lee JL, Chang YJ. Clonal amniotic fluid-derived stem cells express characteristics of both mesenchymal and neural stem cells. *Biol Reprod.* 2006;74(3):545-51.
17. Miki T, Lehmann T, Cai H, Stolz DB, Strom SC. *Stem Cells.* 2005;23(10):1549-59.
18. Lavik E, Langer R. Tissue engineering: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2004;65:1-8.
19. Lysaght MJ, Hazlehurst AL. Tissue engineering: the end of the beginning. *Tissue Eng.* 2004;10:309-20.
20. Lysaght MJ, Reyes J. The growth of tissue engineering. *Tissue Eng.* 2001;7:485-93.
21. Horch RE, Kopp J, Kneser U, Beier J, Bach AD. Tissue engineering of cultured skin substitutes. *J Cell Mol Med.* 2005;9(3):592-608. Review.
22. Wan PX, Wang BW, Wang ZC. Importance of the stem cell microenvironment for ophthalmological cell-based therapy. *World J Stem Cells.* 2015;26;7(2):448-60.
23. Stewart R, Stojkovic M, Lako M. Mechanisms of self-renewal in human embryonic stem cells. *Eur J Cancer.* 2006;42(9):1257-72.
24. Alvarado Valero MC, Martínez Toldos JJ, Borrás Blasco J, Almiñana Almiñana A, Pérez Ramos JM. Treatment of persistent epithelial defects using autologous serum application. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2004;79:537-42.
25. Young AL, Cheng AC, Ng HK, Cheng LL, Leung GY, Lam DS. The use of autologous serum tears in persistent corneal epithelial defects. *Eye.* 2004;18:609-14.
26. Díaz-Valle D, Benítez del Castillo Sánchez JM, Díaz Rodríguez E, Toledano Fernández N, Arteaga Sánchez A, Sayagues Gómez O. Neurotrophic keratopathy management with cyanoacrylate tarsorrhaphy and autologous serum. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2003;78:119-22.
27. Matsumoto Y, Dogru M, Goto E, Ohashi Y, Kojima T, Ishida R, et al. Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy. *Ophthalmology.* 2004;111:1115-20.
28. Del Castillo JM, de la Casa JM, Sardina RC, Fernández RM, Feijoo JG, Gomez AC, et al. Treatment of recurrent corneal erosions using autologous serum. *Cornea.* 2002;21:781-3.

29. Tsubota K, Satake Y, Ohyama M, Toda I, Takano Y, Ono M, et al. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. *Am J Ophthalmol.* 1996;122:38-52.
30. Matsuo H, Tomidokoro A, Tomita G, Araie M. Topical application of autologous serum for the treatment of late-onset aqueous ooze or point-leak through filtering bleb. *Eye.* 2005;19:23-8.
31. López-García JS, García-Lozano I, Rivas L, Martínez-Garchitorena J. Use of autologous serum in ophthalmic practice. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2007;82(1):9-20.
32. Rocha EM, Pelegriño FS, de Paiva CS, Vigorito AC, de Souza CA. GVDH dry eyes treated with autologous serum tears. *Bone Marrow Transplant.* 2000;25:1101-03.
33. Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, Caffery B, Dua HS, Joo CK, et al. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):276-83.
34. Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, Djalilian A, Dogru M, Dumbleton K, et al. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):539-74.
35. Herrero Vanrell R, Molina Martínez I. Autologous Serum in the Treatment of Dry Eye Syndrome. . Technological Aspects. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2008. 83(9):521-3.
36. Wilson SE, Liang Q, Kim WJ. Lacrimal gland HGF, KGF and EGF mRNA levels increase after corneal epithelial wounding. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40:2185-90.
37. Gobbels M, Spitznas M. Corneal epithelial permeability of dry eyes before and after treatment with artificial tears. *Ophthalmology.* 1992;99:873-8.
38. Benítez del Castillo Sánchez JM, Durán de la Colina JA, Rodríguez Ares MT. Ocular surface. *Sociedad Española de Oftalmología* 2004, 1.ª edición. ISBN: 84-89085-25-0. 37-55.
39. Murube J, Benitez del Castillo JM, ChenZhuo L, Berta A, Rolando M The triple classification of dry eye for practical clinical use. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2003;78:587-93.
40. Behrens A, Doyle JJ, Stern L, Chuck RS, McDonnell PJ, Dimitri T, et al. Dysfunctional Tear Syndrome: A Delphi Approach to Treatment Recommendations. *Cornea.* 2006;25:900-7.
41. Berta A, Tóth-Molnár E, Csutak A. New international consensus statement about the definition, classification, etiology, diagnostics and therapy of dry eye (TFOS DEWS II). *Orv Hetil.* 2018;159(20):775-85.

42. Khanal S, Tomlinson A, McFadyen A, Diaper C, Ramaesh K. Dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:1407-14.
43. Tsubota K, Kaido M, Yagi Y, Fujihara T, Shimmura S. Diseases associated with ocular surface abnormalities: the importance of reflex tearing. *Br J Ophthalmol.* 1999;83:89-91.
44. Egbert PR, Lauber S, Maurice DM. A simple conjunctival biopsy. *Am J Ophthalmol.* 1977;84(6):798-801.
45. Minaya Martínez, Francisco. Conjunctiva impression cytology with transfer: the technique, computerized study of image and clinical application. Doctoral Thesis. Malaga University. Ophthalmology Department. December 2001. Available at: <https://www.educacion.es/teseo/mostrarRef.do?ref=265098>. Accessed on 01/05/2015.
46. Murube J, Rivas L. Impression cytology on conjunctiva and cornea in dry eye patients establishes a correlation between squamous metaplasia and dry eye clinical severity. *Eur J Ophthalmol.* 2003;13(2):115-27.
47. Deinema LA, Vingrys AJ, Wong CY, Jackson DC, Chinnery HR, Downie LE. A Randomized, Double-Masked, Placebo-Controlled Clinical Trial of Two Forms of Omega-3 Supplements for Treating Dry Eye Disease. *Ophthalmology.* 2017;124(1):43-52.
48. Fox RI, Chan R, Michelson JB, Belmont JB, Michelson PE. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum.* 1984;27(4):459-61.
49. Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J. Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology.* 1999;106(10):1984-9.
50. Tsubota K, Goto E, Fujita H, Ono M, Inoue H, Saito I, et al. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjogren's syndrome. *Br J Ophthalmol.* 1999;83:390-5.
51. Quinto GG, Campos M, Behrens A. Autologous serum for ocular surface diseases. *Arq Bras Oftalmol.* 2008;71(6 Suppl):47-54. Review.
52. Phasukkijwatana N, Lertrit P, Liammongkolkul S, Prabhasawat P. Stability of epitheliotrophic factors in autologous serum eye drops from chronic Stevens-Johnson syndrome dry eye compared to non-autoimmune dry eye. *Curr Eye Res.* 2011;36(9):775-81.
53. Hori Y, Spurr-Michaud S, Russo CL, Argüeso P, Gipson IK. Differential regulation of membrane-associated mucins in the human ocular surface epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(1):114-22.
54. López García JS, García Lozano I, Elousa de Juan I, Sanchez-Carnero F. Suero autólogo: Introducción y propiedades. En: López García JS, Murube del Castillo J. Suero autólogo y derivados hemáticos en oftalmología.

- Comunicación solicitada. 87 Congreso de la Sociedad Española de Oftalmología. Oviedo. 2011;59-69.
55. Geerling G, Maclennan S, Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004;88(11):1467-74. Review.
56. Van Setten GB, Tervo T, Tervo K, Tarkkanen A. Epidermal growth factor (EGF) in ocular fluids: presence, origin and therapeutical considerations. *Acta Ophthalmol Suppl*. 1992;(202):54-9. Review.
57. De la Parra-Colín P, Agahan AL, Pérez-Simón JA, López A, Caballero D, Hernández E, et al. Dry eye disease in chronic graft-versus-host disease: results from a Spanish retrospective cohort study. *Transplant Proc*. 2011;43(5):1934-8.
58. Collins MK, Perkins GR, Rodríguez-Tarduchy G, Nieto MA, López-Rivas A. Growth factors as survival factors: regulation of apoptosis. *Bioessays*. 1994;16(2):133-8. Review.
59. Rodeck U, Jost M, Kari C, Shih DT, Lavker RM, Ewert DL, et al. EGF-R dependent regulation of keratinocyte survival. *J Cell Sci*. 1997;110(2):113-21.
60. Nava A, Barton K, Monroy DC, Pflugfelder SC. The effects of age, gender, and fluid dynamics on the concentration of tear film epidermal growth factor. *Cornea*. 1997;16(4):430-8.
61. Yoshino K, Garg R, Monroy D, Ji Z, Pflugfelder SC. Production and secretion of transforming growth factor beta (TGF-beta) by the human lacrimal gland. *Curr Eye Res*. 1996;15(6):615-24.
62. Harloff S, Hartwig D, Kasper K, Wedel T, Müller M, Geerling G. Epitheliotropic capacity of serum eye drops from healthy donors versus serum from immunosuppressed patients with rheumatoid arthritis. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2008;225(3):200-6.
63. Geerling G, Unterlauff JD, Kasper K, Schrader S, Opitz A, Hartwig D. Autologous serum and alternative blood products for the treatment of ocular surface disorders. *Ophthalmologe*. 2008;105(7):623-31. Review.
64. Gilardetti RS, Chaibi MS, Stroumza J, Williams SR, Antoniadis HN, Carnes DC, et al. High-affinity binding of PDGF-AA and PDGF-BB to normal human osteoblastic cells and modulation by interleukin-1. *Am J Physiol*. 1991;261(1):980-5.
65. Denk PO, Knorr M. The in vitro effect of platelet-derived growth factor isoforms on the proliferation of bovine corneal stromal fibroblasts depends on cell density. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1997;235(8):530-4.
66. Andresen JL, Ehlers N. Chemotaxis of human keratocytes is increased by platelet-derived growth factor-BB, epidermal growth factor, transforming growth factor-alpha, acidic fibroblast growth factor, insulin-like growth

- factor-I, and transforming growth factor-beta. *Curr Eye Res.* 1998;17(1):79-87.
67. Pierce GF, Mustoe TA, Altrock BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J Cell Biochem.* 1991;45(4):319-26. Review.
68. Hosgood G, Wound healing. The role of platelet-derived growth factor and transforming growth factor beta. *Vet Surg.* 1993;22:490-5.
69. Pierce GF, Vande Berg J, Rudolph R, Tarpley J, Mustoe TA. Platelet-derived growth factor-BB and transforming growth factor beta 1 selectively modulate glycosaminoglycans, collagen, and myofibroblasts in excisional wounds. *Am J Pathol.* 1991;138(3):629-46.
70. Jester JV, Ho-Chang J. Modulation of cultured corneal keratocyte phenotype by growth factors/cytokines control in vitro contractility and extracellular matrix contraction. *Exp Eye Res.* 2003;77(5):581-92.
71. Kivanany PB, Grose KC, Tippani M, Su S, Petroll WM. Assessment of corneal stromal remodeling and regeneration after photorefractive keratectomy. *Sci Rep.* 2018;8(1):12580.
72. Arnaout MA, Mahalingam B, Xiong JP. Integrin structure, allostery, and bidirectional signaling. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2005;21:381-410. Review.
73. Kim A, Zhou C, Lakshman N, Petroll WM. Corneal stromal cells use both high- and low-contraction migration mechanisms in 3-D collagen matrices. *Exp Cell Res.* 2012;318(6):741-52.
74. Kim A, Lakshman N, Karamichos D, Petroll WM. Growth factor regulation of corneal keratocyte differentiation and migration in compressed collagen matrices. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51(2):864-75.
75. Kim A, Lakshman N, Petroll WM. Quantitative assessment of local collagen matrix remodeling in 3-D culture: the role of Rho kinase. *Exp Cell Res.* 2006;312(18):3683-92.
76. Kivanany PB, Grose KC, Yonet-Tanyeri N, Manohar S, Sunkara Y, Lam KH, et al. An in vitro model for assessing corneal keratocyte spreading and migration on aligned fibrillar collagen. *J Funct Biomater.* 2018;9(4).
77. Shimmura S, Ueno R, Matsumoto Y, Goto E, Higuchi A, Shimazaki J, et al. Albumin as a tear supplement in the treatment of severe dry eye. *Br J Ophthalmol.* 2003; 87(10):1279-83.
78. Unterlauff JD, Kohlhaas M, Hofbauer I, Kasper K, Geerling G. Albumin eye drops for treatment of ocular surface diseases]. *Ophthalmologie.* 2009; 106(10):932-7. Review.
79. Schargus M, Kohlhaas M, Unterlauff JD. Treatment of severe ocular surface disorders with albumin eye drops. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2015;31(5):291-5.

80. Poon AC, Geerling G, Dart JK, Fraenkel GE, Daniels JT. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol*. 2001;85(10):1188-97.
81. Kojima T, Higuchi A, Goto E, Matsumoto Y, Dogru M, Tsubota K. Autologous serum eye drops for the treatment of dry eye diseases. *Cornea*. 2008;27:25-30.
82. Fischer KR, Opitz A, Böeck M, Geerling G. Stability of serum eye drops after storage of 6 months. *Cornea*. 2012;31(11):1313-8.
83. Trowell OA, Chir B, Willmer E. Growth of tissues in vitro. The effects of some tissue extract on the growth of periosteal fibroblasts. *J Exp Biol*. 1939;16:60-70.
84. Thomas KA, Rios-Candelore M, Fitzpatrick S. Purification and characterization of acidic fibroblast growth factor from bovine brain. *Proc Natl Acad Sci*. 1984;81:357-61.
85. Bojesen KB, Clausen O, Rohde K, Christensen C, Zhang L, Li S, et al. Nectin-1 binds and signals through the fibroblast growth factor receptor. *J Biol Chem*. 2012;287(44):37420-33.
86. Joyce NC, Harris DL, Mello DM. Mechanisms of mitotic inhibition in corneal endothelium: contact inhibition and TGF-beta2. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(7):2152-9.
87. Bradley JC, Bradley RH, McCartney DL, Mannis MJ. Serum growth factor analysis in dry eye syndrome. *Clin Exp Ophthalmol*. 2008;36(8):717-20.
88. Oikawa T, Onozawa C, Sakaguchi M, Morita I, Murota S. Three isoforms of platelet-derived growth factors all have the capability to induce angiogenesis in vivo. *Biol Pharm Bull*. 1994;17(12):1686-8.
89. Knorr M, Steuhl KP, Tatje D, Hoppe J. A rabbit corneal epithelial cell line expresses functional platelet-derived growth factor beta-type receptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1992;33(7):2207-11.
90. Knorr M, Hoppe J, Steuhl KP, Dartsch PC. Effect of PDGF-AB heterodimer on a corneal epithelial cell line. *Eur J Cell Biol*. 1992;57(2):202-9.
91. Denk PO, Knorr M. The in vitro effect of platelet-derived growth factor isoforms on the proliferation of bovine corneal stromal fibroblasts depends on cell density. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1997;235(8):530-4.
92. Andresen JL, Ledet T, Ehlers N. Keratocyte Migration and Peptide Growth Factors: The Effect of PDGF, bFGF, EGF, IGF-I, aFGF and TGF-beta on Human Keratocyte Migration in a Collagen Gel. *Curr Eye Res*. 1997;16(6):605-13.
93. Andrés-Guerrero V, Herrero-Vanrell R. Ocular drug absorption by topical route. Role of conjunctiva. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2008;83(12):683-5.
94. Noble BA, Loh RS, MacLennan S, Pesudovs K, Reynolds A, Bridges LR, et al. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy

- in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol*. 2004;88(5):647-52.
95. Corrales RM, Galarreta DJ, Herreras JM, Calonge M, Chaves FJ. Normal Human Conjunctival Epithelium Expresses MUC13, MUC15, MUC16 and MUC17 Mucin Genes. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2003;78(7):375-81.
96. Pellegrini G, De Luca M, Arsenijevic Y. Towards therapeutic application of ocular stem cells. *Semin Cell Dev Biol*. 2007;18(6):805-18. Review.
97. Voytik-Harbin SL, Rajwa B, Robinson JP. Three-dimensional imaging of extracellular matrix and extracellular matrix-cell interactions. *Methods Cell Biol*. 2001;63:583-97.
98. Voytik-Harbin SL. Three-dimensional extracellular matrix substrates for cell culture. *Methods Cell Biol*. 2001;63:561-81.
99. Aboosleiman RI, Reyes Y, McFetridge P, Sikavitsas V. The human umbilical vein: a novel scaffold for musculoskeletal soft tissue regeneration. *Artif Organs*. 2008;32(9):735-42.
100. Hui JH, Ouyang HW, Hutmacher DW, Goh JC, Lee EH. Mesenchymal stem cells in musculoskeletal tissue engineering: a review of recent advances in National University of Singapore. *Ann Acad Med Singapore*. 2005;34(2):206-12. Review.
101. Warnke PH, Springer IN, Wiltfang J, Acil Y, Eufinger H, Wehmöller M, et al. Growth and transplantation of a custom vascularised bone graft in a man. *Lancet*. 2004;364(9436):766-70.
102. Hench LL, Polak JM. Third-generation biomedical materials. *Science*. 2002;295(5557):1014-7. Review.
103. Tseng SC, Tsubota K. Important concepts for treating ocular surface and tear disorders. *Am J Ophthalmol*. 1997;124(6):825-35. Review.
104. Dogru M, Tsubota K. Current concepts in ocular surface reconstruction. *Semin Ophthalmol*. 2005;20(2):75-93. Review.
105. Burstein NL. The effects of topical drugs and preservatives on the tears and corneal epithelium in dry eye. *Trans Ophthalmol Soc UK*. 1985;104(4):402-9. Review.
106. Kojima T, Ishida R, Dogru M, Goto E, Matsumoto Y, Kaido M, et al. The effect of autologous serum eyedrops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. *Am J Ophthalmol*. 2005;139(2):242-6.
107. Brown SM, Bradley JC. The effect of autologous serum eye drops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. *Am J Ophthalmol*. 2005;140(3):565-6.
108. López-García JS, García-Lozano I, Rivas L, Giménez C, Acera A, Suárez-Cortés T. Effects of Autologous Serum Eye Drops on Conjunctival Expression of MUC5AC in Patients With Ocular Surface Disorders. *Cornea*. 2016;35(3):336-41.

109. Knop E, Korb DR, Blackie CA, Knop N. The lid margin is an underestimated structure for preservation of ocular surface health and development of dry eye disease. *Dev Ophthalmol*. 2010;45:108-22.
110. Knop E, Knop N, Schirra F. Meibomian glands. Part II: physiology, characteristics, distribution and function of meibomian oil. *Ophthalmologe*. 2009;106(10):884-92.
111. Knop E, Knop N. Meibomian glands: part IV. Functional interactions in the pathogenesis of meibomian gland dysfunction (MGD). *Ophthalmologe*. 2009;106(11):980-7.
112. Knop E, Knop N, Brewitt H, Pleyer U, Rieck P, Seitz B, et al. Meibomian glands: part III. Dysfunction-argument for a discrete disease entity and as an important cause of dry eye. *Ophthalmologe*. 2009;106(11):966-79.
113. Knop E, Knop N, Claus P. Local production of secretory IgA in the eye-associated lymphoid tissue (EALT) of the normal human ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(6):2322-9.
114. Knop E, Knop N. New techniques in lacrimal gland research: the magic juice and how to drill for it. *Ophthalmic Res*. 2008;40(1):2-4.
115. Merayo Lloves J, Benítez del Castillo Sánchez JM, Montero Iruzubieta J, Galarreta Mira D, Alejandro Alba N. Guías Españolas para el tratamiento de la enfermedad de ojo seco (SESOC). Documento de consenso. 2019;22-56.
116. Tau J, Márquez I, Berra A, Iribarren R. Los síntomas de ojo seco y la citología de impresión conjuntival. *Oftalmol Clín Exp*. 2018;11(4):114-24.
117. Calculadora de tamaño muestral GRANMO versión 7. 12 Abril 2012; Available at: <https://www.imim.cat/ofertadeserveis/software-public/granmo/>. Accessed on 15/08/2017.
118. Yeo AC, Carkeet A, Carney LG, Yap MK. Relationship between goblet cell density and tear function test. *Ophthalmic Physiol opt*. 2003;23(1):87-94.
119. Paschides CA, Petroustos G, Psilas K. Correlation of conjunctival impression cytology results with lacrimal function and age. *Acta Ophthalmol* 1991;69(4):422-5.
120. De Rojas MV, Rodríguez MT, Ces Blanco JA, Salorio MS. Impression cytology in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Cytopathology* 1993;4(6):347-55.
121. Midena E, Segato T, Blarzino MC. Effects of ionizing radiation on human conjunctival epithelial cells: a clinical and cytologic study. *Ophthalmologica* 1991;203(2):75-81.
122. Weber SP, Hazarbassanov RM, Nasaré A, Gomes JÁP, Hofling-Lima AL. Conjunctival impression cytology evaluation of patients with dry eye disease using scleral contact lenses. *Cont Lens Anterior Eye*. 2017;40(3):151-6.

123. Meller D. The fine structure of chromatin alterations in conjunctival epithelial cells in keratoconjunctivitis sicca. *Cornea*. 1999;18(2):225-32.
124. Barboza MN, Barboza GN, de Melo GM, Sato E, Dantas MC, Dantas PE, et al. Correlation between signals and symptoms of dry eye in Sjögren's syndrome patients. *Arq Bras Oftalmol*. 2008;71(4):547-52.
125. Thulasi P, Djalilian AR. Update in Current Diagnostics and Therapeutics of Dry Eye Disease. *Ophthalmology*. 2017;124(11):27-33.Review.
126. Dana R, Bradley JL, Guerin A, Pivneva I, Stillman IÖ, Evans AM, et al. Estimated prevalence and incidence of dry eye disease based on coding analysis of a large, all-age United States Health Care System. *Am J Ophthalmol*. 2019;(19):30047-9.
127. Hashemi H, Khabazkhoob M, Kheirikhah A, Emamian MH, Mehravaran S, Shariati M, et al. Prevalence of dry eye syndrome in an adult population. *Clin Exp Ophthalmol*. 2014;42(3):242-8.
128. Viso E, Rodríguez-Ares MT, Gude F. Prevalence of and associated factors for dry eye in a Spanish adult population (the Salnes Eye Study). *Ophthalmic Epidemiol*. 2009;16(1):15-21.
129. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol*. 2003;136:318-26.
130. Farrand KF, Fridman M, Stillman IÖ, Schaumberg DA. Prevalence of diagnosed dry eye disease in the United States among adults aged 18 years and older. *Am J Ophthalmol*. 2017;182:90-8.
131. Caffery B, Srinivasan S, Reaume CJ, Fischer A, Cappadocia D, Siffel C, et al. Prevalence of dry eye disease in Ontario, Canada: A population-based survey. *Ocul Surf*. 2019;17(3): 526-31.
132. Jordán-González P, Gago-Piñero R, Vázquez-Sanabria I, Pérez-Ríos N, Vilá LM. Factors Associated With Disease Damage in Puerto Ricans With Primary Sjögren Syndrome. *J Clin Rheumatol*. 2019;Mar12.doi: 10.1097/RHU.0000000000001023.
133. Song P, Xia W, Wang M, Chang X, Wang J, Jin S, et al. Variations of dry eye disease prevalence by age, sex and geographic characteristics in China: a systematic review and meta-analysis. *J Glob Health*. 2018;8(2):020503.
134. Matossian C, McDonald M, Donaldson KE, Nichols KK, MacIver S, Gupta PK. Dry Eye Disease: Consideration for Women's Health. *J Womens Health*. 2019;(28):502-14.
135. Gayton JL. Etiology, prevalence, and treatment of dry eye disease. *Clinical Ophthalmology*. 2009;3:405-12.
136. Yoon KC, Heo H, Im SY, You IC, Kim YH, Park YG. Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol*. 2007;144:86-92.

137. Liu Y, Hirayama M, Cui X, Connell S, Kawakita T, Tsubota K. Effectiveness of Autologous Serum Eye Drops Combined With Punctal Plugs for the Treatment of Sjögren Syndrome–Related Dry Eye. *Cornea* 2015;34:1214–20.
138. Versura P, Profazio V, Buzzi M, Stancari A, Arpinati M, Malavolta N, et al. Efficacy of standardized and quality-controlled cord blood serum eye drop therapy in the healing of severe corneal epithelial damage in dry eye. *Cornea*. 2013;32:412–8.
139. Tananuvat N, Daniell M, Sullivan LJ, Yi Q, McKelvie P, McCarty DJ, et al. Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients. *Cornea*. 2001;20(8):802-6.
140. Akpek EK, Klimava A, Thorne JE, Martin D, Lekhanont K, Ostrovsky A. Evaluation of patients with dry eye for presence of underlying Sjögren syndrome. *Cornea*. 2009;28(5):493-7.
141. Luna Martínez I, Aguilar Montes G, Estrada Hernández MR, Reyes Castro MM. Histopathologic findings in patients with dry eye syndrome due to autoimmune disease treated with autologous serum. *Rev Mex Oftalmol*. 2015;89(1):37-42.
142. Creuzot-Garcher C, Lafontaine PO, Brignole F, Pisella PJ, d'Athis P, Bron A, et al. Treating severe dry eye syndromes with autologous serum. *J Fr Ophthalmol*. 2004;27(4):346-51.
143. García Jiménez V, Veiga Villaverde B, Baamonde Arbaiza B, Cahue Carpintero I, Celemín Viñuela ML, Simó Martínez RM. The elaboration, use and evaluation of eye-drops with autologous serum in corneal lesions. *Farm Hosp*. 2003;27(1):21-5.
144. Ali TK, Gibbons A, Cartes C, Zarei-Ghanavati S, Gomaa M, Gonzalez I, et al. Use of autologous serum tears for the treatment of ocular surface disease from patients with systemic autoimmune diseases. *Am J Ophthalmol*. 2018;189:65-70.
145. Pan Q, Angelina A, Marrone M, Stark WJ, Akpek EK. Autologous serum eye drops for dry eye. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;2:CD009327.
146. Yılmaz U, Küçük E, Koç Ç, Gökler E. Comparison of autologous serum versus preservative free artificial tear in patients with dry eyes due to systemic isotretinoin therapy. *Curr Eye Res*. 2017;42(6):827-31.
147. Celebi AR, Ulusoy C, Mirza GE. The efficacy of autologous serum eye drops for severe dry eye syndrome: a randomized double-blind crossover study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2014;252(4):619-26.
148. Babić GS, Cekić S. Autologous serum in treatment of dry eye. *Med Pregl*. 2012;65(11-12):511-5.
149. Jones L, Downie LE, Korb D, Benitez-Del-Castillo JM, Dana R, Deng SX, et al. TFOS DEWS II Management and Therapy Report. *Ocul Surf*. 2017;15(3):575-628.

150. Shen EP, Hu FR, Lo SC, Chen YM, Sun YC, Lin CT, et al. Comparison of corneal epitheliotrophic capacity among different human blood-derived preparations. *Cornea*. 2011;30:208-14.
151. Jeng BH. Use of autologous serum in the treatment of ocular surface disorders. *Arch Ophthalmol*. 2011;129(12):1610-2.
152. Arellanes-García L, Padilla-Aguilar G, Navarro-López P, Espinoza-Martínez C. Efficacy of prednisolone and rimexolone in HLA-B27 positive patients with acute anterior uveitis]. *Gac Med Mex*. 2005;141(5):363-6.
153. Alió AB, Bird LM, McClellan SD, Cunningham BB. Sjögren-Larsson syndrome: a case report and literature review. *Cutis*. 2006;78(1):61-5.
154. Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, Afonso A, Monroy D. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res*. 1999;19(3):201-11.
155. Stenwall PA, Bergström M, Seiron P, Sellberg F, Olsson T, Knutson F, et al. Improving the antiinflammatory effect of serum eye drops using allogeneic serum permissive for regulatory T cell induction. *Acta Ophthalmol*. 2015; 93:654-7.
156. Cho YK, Huang W, Kim GY, Lim BS. Comparison of autologous serum eye drops with different diluents. *Curr Eye Res*. 2013;38(1):9-17.
157. Gus PI, Marinho D, Zelanis S, Belló-Klein A, Locatelli C, Nicola F, et al. A Case-Control Study on the Oxidative Balance of 50% Autologous Serum Eye Drops. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:9780193.
158. Real Decreto 175/2001, de 23 de febrero, por el que se aprueban las normas de correcta elaboración y control de calidad de fórmulas magistrales y preparados oficinales. Ministerio de Sanidad y Consumo «BOE» núm. 65, de 16 de marzo de 2001 Referencia: BOE-A-2001-5185. Última modificación: 12 de julio de 2003.
159. Voak D, Cann R, Finney RD, Fraser ID, Mitchell R, Murphy MF, et al. Guidelines for administration of blood products: transfusion of infants and neonates. British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force. *Transfus Med*. 1994;4(1):63-9.
160. Liu L, Hartwig D, Harloff S, Herminghaus P, Wedel T, Geerling G. An optimised protocol for the production of autologous serum eyedrops. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243:706-14.
161. Malavazzi GR, Lake JC, Dantas PE. Effect of honey and autologous serum on corneal epithelial healing in rabbits. *Arq Bras Oftalmol*. 2005;68: 347-51.
162. Lagnado R, King AJ, Donald F, Dua HS. A protocol for low contamination risk of autologous serum drops in the management of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004;88:464-5.
163. Sitaramamma T, Shivaji S, Rao GN. Effect of storage on protein concentration of tear samples. *Curr Eye Res*. 1998;17:1027-35.

164. Mukerji N, Sinha R, Vajpayee RB. Role of autologous serum in persistent epithelial defects. *Br J Ophthalmol*. 2002;86:832.
165. Hussain M, Shtein RM, Sugar A, Soong HK, Woodward MA, DeLoss K, et al. Long-term use of autologous serum 50% eye drops for the treatment of dry eye disease. *Cornea*. 2014;33(12):1245-51.
166. Hwang J, Chung SH, Jeon S, Kwok SK, Park SH, Kim MS. Comparison of clinical efficacies of autologous serum eye drops in patients with primary and secondary Sjögren syndrome. *Cornea*. 2014;33(7):663-7.
167. Nakamura M, Nishida T, Mishima H, Otori T. Effects of antimicrobials on corneal epithelial migration. *Curr Eye Res*. 1993;12:733-40.
168. Marks DC, van der Meer PF. Serum eye drops: a survey of international production methods. *Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. Vox Sang*. 2017;112(4):310-17.
169. Espinosa A, Hjorth-Hansen H, Aasly K, Teigum I, Sivertsen G, Seghatchian J. Implementation of a standardised method for the production of allogeneic serum eye drops from regular blood donors in a Norwegian University Hospital: Some methodological aspects and clinical considerations. *Transfus Apher Sci*. 2015;53(1):88-91.
170. Giannaccare G, Versura P, Buzzi M, Primavera L, Pellegrini M, Campos EC. Blood derived eye drops for the treatment of cornea and ocular surface diseases. *Transfus Apher Sci*. 2017; 56(4):595-604.
171. Alio JL, Arnalich-Montiel F, Rodriguez AE. The role of "eye platelet rich plasma" (E-PRP) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012;13(7):1257-65. Review.
172. Burnouf T, Strunk D, Koh MB, Schallmoser K. Human platelet lysate: Replacing fetal bovine serum as a gold standard for human cell propagation? *Biomaterials*. 2016;76:371-87.
173. Anitua E, Sanchez M, Merayo-Llodes J, De la Fuente M, Muruzabal F, Orive G. Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates proliferation and migration of primary keratocytes and conjunctival fibroblasts and inhibits and reverts TGF-beta1-Induced myodifferentiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011; 52(9):6066-73.
174. Anitua E, Muruzabal F, Alcalde I, Merayo-Llodes J, Orive G. Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates corneal wound healing and reduces haze formation after PRK surgery. *Exp Eye Res*. 2013;115:153-61.
175. Anitua E, de la Fuente M, Muruzabal F, Riestra A, Merayo-Llodes J, Orive G. Plasma rich in growth factors (PRGF) eye drops stimulates scarless regeneration compared to autologous serum in the ocular surface stromal fibroblasts. *Exp Eye Res*. 2015;135:118-26.
176. Fernández García AI, Balado Vasquez P. Queratopatía neurotrófica y suero autólogo. Nuevas perspectivas en su tratamiento. *Boletín de la Sociedad Oftalmológica de Madrid*. 2006; Nº46.

177. Lopez-Plandolit S, Morales MC, Freire V, Etxebarria J, Duran JA. Plasma rich in growth factors as a therapeutic agent for persistent corneal epithelial defects. *Cornea*. 2010; 29: 843-8.
178. Freire V, Andollo N, Etxebarria J, Durán JA, Morales MC. In vitro effects of three blood derivatives on human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(9):5571-8.
179. Anitua E, Muruzabal F, De la Fuente. Effects of heat-treatment on plasma rich in growth factors derived autologous eye drop. *Exp Eye Res*. 2014;119:27-34.
180. Sanchez-Avila RM, Merayo-Llolves J, Riestra AC, Fernandez-Vega Cueto L, Anitua E, Begoña L, et al. Treatment of patients with neurotrophic keratitis stages 2 and 3 with plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) eye-drops. *Int Ophthalmol*. 2018; 38(3):1193-204.
181. López-Plandolit Antolín S. El plasma rico en factores de crecimiento como alternativa terapéutica en el ojo seco y defectos epiteliales persistentes. Tesis Doctoral.2015; 9-59.Available at <https://www.educacion.es/Teseo/mostrarRef.do?ref=361197>. Accessed on May 2017.

***XI. DIVULGACIÓN CIENTÍFICA  
RELACIONADA CON EL  
ESTUDIO***

## XI. DIVULGACIÓN CIENTÍFICA RELACIONADA CON EL ESTUDIO

### 11.1 COMUNICACIONES A CONGRESOS Y REUNIONES CIENTÍFICAS

**De:** SUSANA MARTÍN <[comunicaciones@sehseth.es](mailto:comunicaciones@sehseth.es)>

**Enviado:** domingo, 10 de noviembre de 2019 23:28

**Para:** Valencia Castillo, Sandra Liliana

<[svalencia@saludcastillayleon.es](mailto:svalencia@saludcastillayleon.es)>

**Asunto:** LXI CONGRESO NACIONAL SEHH-XXXV CONGRESO NACIONAL SETH CERTIFICADO COMUNICACIÓN



Estimado/a. Dr./a. Valencia Castillo,

Adjunto remitimos certificado de presentación de su trabajo titulado: **SUERO AUTÓLOGO AL 20% EN EL SINDROME DEL OJO SECO**, dentro del "LXI CONGRESO NACIONAL SEHH-XXXV CONGRESO NACIONAL SETH", celebrado en Valencia los días 24 al 26 de octubre de 2019.

Atentamente,

[Susana Martín Gujarro](#)

Departamento de Congresos SEHH-SETH

C/ Aravaca nº 12, 1º B

28040 Madrid

Tel.: + 34 91 319 19 98 - 628 92 34 14

Correo electrónico: [congresos@sehseth.es](mailto:congresos@sehseth.es)



**SUERO AUTÓLOGO AL 20% EN EL SÍNDROME DEL OJO SECO**

Valencia Castillo SL; García Frade JA; Sáez Martín E; Torres Tienza A; Díaz Valdés J; Olivier Cornacchia C; García Mateo A; Marcellini Antonio S; Zato Hernández E; Queizán Hernández J.A  
 Servicio de Hematología y Hemoterapia del Complejo Hospitalario de Segovia  
 \*Jefe de Servicio Hematología y Hemoterapia. Hospital Río Hortega Valladolid

**Introducción:** El colirio de suero autólogo (SA), es un producto obtenido de la separación de los diferentes componentes sanguíneos del propio paciente. Posee muchos factores de crecimiento que ayudan a regenerar ciertas patologías oculares como el Síndrome del Ojo Seco (SOS). El SOS es una enfermedad multifactorial muy frecuente caracterizada por una cantidad y calidad deficiente de lágrima. Los tratamientos convencionales con lágrimas artificiales carecen de muchos de los componentes activos de las lágrimas naturales. Existen diversos estudios con SA al 20% valorando la mejoría clínica de estos pacientes, pero son muy pocos los que valoran de forma cuantitativa el grado de mejoría y los cambios metaplásicos a nivel de la conjuntiva ocular.

El **objetivo** de este estudio fue analizar los cambios histológicos de la conjuntiva, mediante la citología conjuntival por transferencia y la modificación de los test de Schirmer y de BUT tras el tratamiento con colirio de SA al 20% en pacientes con SOS.

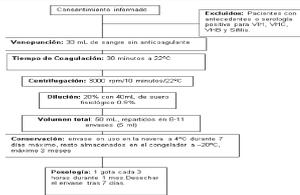


Figura 1: Esquema de elaboración, dispensación y posología del colirio de Suero Autólogo en el Complejo Hospitalario de Segovia.



Figura 2: Recogida de muestras de conjuntiva mediante citología de impresión y preparación del colirio de Suero Autólogo al 20%.

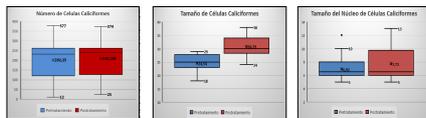
**Material:** El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Complejo Asistencial de Segovia en Septiembre del 2015. Se realizó un estudio **descriptivo, prospectivo y analítico cuasi-experimental** en pacientes adultos con diagnóstico de SOS a los que se les inició un tratamiento con colirio de SA al 20%. Se excluyeron pacientes con serología positiva para infección por el virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis C (VHC), el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), sífilis, presencia de sueros hemolizados, y/o lipémicos. La muestra de sangre total fue centrifugada en el Servicio de Banco de Sangre a 3000 rpm durante 10 minutos y el suero obtenido fue enviado al Servicio de Farmacia para su preparación a la concentración del 20% (Figura 1). Cada paciente fue sometido a una **primera citología de impresión conjuntival** antes del tratamiento con colirio de SA al 20% (Figura 2). El paciente se administró una gota de colirio de SA al 20%, 4 veces al día en ambos ojos durante un mes. Al finalizar el tratamiento se realizó una **segunda citología de impresión**. Las citologías de impresión siempre las realizó el investigador principal en la región temporal superior del ojo derecho. Se determinó el **número, tamaño, densidad, tamaño del núcleo, relación núcleo/citoplasma (N/C) y grado de metaplasia escamosa de las células calcificadas (CC) conjuntivales**. El flujo y la estabilidad lagrimal se midieron por medio de los **test de Schirmer y BUT**.

Tabla I. Comparación de las principales variables de interés, obtenidas en la citología de impresión, antes y después del tratamiento.

VARIABLE	PRETRATAMIENTO Media (DT)	POSTTRATAMIENTO Media (DT)	DIFERENCIA	VALOR P*
Número de CC <sup>o</sup>	202,3 (107,5)	210,1 (100,9)	-6,2	<0,01
Tamaño de CC (µm)	24,5 (3,3)	30,8 (3,7)	-6,3	<0,001
Densidad de CC	2,39 (0,91)	2,59 (0,72)	-0,2	<0,05
Tamaño núcleo CC (µm)	6,91 (1,69)	7,71 (2,33)	-0,8	<0,01
Tamaño citoplasma CC (µm)	26,29 (4,52)	26,62 (4,40)	-0,33	>0,05
Relación N/C CC <sup>o</sup>	0,27 (0,08)	0,29 (0,1)	-0,02	<0,01

\* Desviación Estándar. P Valor de P calculado mediante la Prueba de los Rangos con Signo de Wilcoxon. C. Células Calcificadas. ° Relación Núcleo / Citoplasma Células Calcificadas

Figura 3: Comparación del número, tamaño y tamaño del núcleo de las células calcificadas, respectivamente, antes y después del tratamiento con Suero Autólogo.



**Resultados:** Se incluyeron 24 pacientes, 23 eran mujeres (95,8%). La edad media fue 53,8 ± 12,6 años. El 41,7% presentaba SOS moderado y el 25% SOS severo. El 21% de los pacientes (n=5) presentaba artritis reumatoide (AR). En la citología de impresión aumentó significativamente el número de CC, su tamaño, relación N/C, densidad de las CC y mejoró el grado de metaplasia (Tabla I). Los test de Schirmer y BUT mejoraron de manera significativa tras el tratamiento. En el estudio multivariante, el incremento de células calcificadas conjuntivales se asoció de manera inversa con el resultado del test de Schirmer y de manera directa con la densidad de CC conjuntivales antes del tratamiento con SA al 20%.

**Conclusiones:** El colirio de SA al 20% modificó la citología de impresión en pacientes con SOS, aumentando significativamente el número, tamaño, densidad y relación N/C de la CC, mejorando el grado de metaplasia escamosa. No aparecieron reacciones adversas.

## 95 CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE OFTALMOLOGÍA.

95 Congreso Sociedad Española  
de Oftalmología

Madrid,  
del 25 al 28 de septiembre de 2019



### **PRESIDENTE**

Prof. Dr. D. José Manuel Benítez del  
Castillo Sánchez

### **VICEPRESIDENTE**

Dr. D. Alfonso Arias Puente

### **SECRETARIO GENERAL**

Prof. Dr. D. Julián García Feijoo

### **VOCALES**

Dr. D. Félix Armadá Maresca

Dr. D. Carlos Cortés Valdés

Dr. D. José Luis Encinas Martín

Dr. D. Agustín Fonseca Sandomingo

Prof. Dr. D. Julián García Sánchez

Dr. D. José Antonio Gegúndez Fernández

Prof. Dr. D. Francisco Muñoz Negrete

Prof. Dr. D. Juan Murube del Castillo

Dr. D. José Luis Urcelay Segura

D. José Manuel Benítez del Castillo Sánchez, como Presidente del  
Comité Organizador, certifica que:

Las Dras. **Esther SÁEZ MARTÍN** (como autora),  
**Sandra L. VALENCIA CASTILLO** (como 1ª coautora),  
**Francisco MINAYA MARTÍNEZ** (como 2º coautor),  
**Sara DÍEZ ARANDILLA** (como 3ª coautora)

Han presentado en el 95 Congreso de la Sociedad Española de  
Oftalmología, celebrado en Madrid, del 25 al 28 de septiembre de  
2019, la Comunicación de Investigación:

### **CAMBIOS EN LA CITOLOGÍA DE IMPRESION EN OJO SECO TRATADO CON SUERO AUTÓLOGO**

Y para que conste donde proceda firma el presente certificado en  
Madrid, a veintiocho de septiembre de dos mil diecinueve.

Prof. José Manuel Benítez del Castillo Sánchez  
Presidente del Comité Organizador

## 11.2 PUBLICACIONES A REVISTAS CIENTÍFICAS

### **Blood Transfusion Art. n° 009-20**

luisa.stea@bloodtransfusion.it <luisa.stea@bloodtransfusion.it>

Mar 14/04/2020 12:37

**Para:** Valencia Castillo, Sandra Liliana  
<svalencia@saludcastillayleon.es>

**CC:** luca.mascaretti@bloodtransfusion.it  
<luca.mascaretti@bloodtransfusion.it>



*Impact Factor (2018): 3.352*

Dear **Ms. Sandra Liliana Valencia Castillo,**

I am pleased to inform you that your manuscript **009-20** entitled **AUTOLOGOUS SERUM EYE DROPS IMPROVE TEAR PRODUCTION, BOTH LACRIMAL FLOW AND STABILITY TESTS AND CONJUNCTIVA IMPRESSION CYTOLOGY WITH TRANSFER IN DRY EYE DISEASE.** has been accepted on **14/04/2020** for publication in Blood Transfusion.

Your manuscript will now be edited by our scientific editor and you will then be sent the galley proofs for your approval.

Your work will be first pre-published on our web site and afterwards published in the printed issue of the Journal.

Thank you for your collaboration.

Yours sincerely,

Luca Giovanni Mascaretti

Editor in Chief

Blood Transfusion

CELLULAR THERAPY AND  
REGENERATIVE MEDICINE

Original Article

## Autologous serum eye drops improve tear production, both lachrymal flow and stability tests and conjunctival impression cytology with transfer in dry eye disease

Sandra L. Valencia Castillo<sup>1</sup>, Esther Sáez Martín<sup>2</sup>, Luis J. García Frade<sup>3</sup>, E. Javier García-Miguel<sup>4</sup>



1175-5420/2020/271-1175-11

**Background** - Autologous serum eye drops, produced by separation of liquid and cellular components of the patient's blood, contain biological nutrients present in natural tears. The aim of this study was to analyse changes in conjunctival impression cytology with transfer and both lachrymal stability and flow tests in patients with dry eye disease after treatment with autologous serum eye drops.

**Materials and methods** - Conjunctival impression cytology and lachrymal flow and stability tests, namely Schirmer's and tear break-up time, were prospectively studied in patients with dry eye disease before and 1 month after treatment with autologous serum eye drops.

**Results** - Twenty-four patients (23 women, mean age 53.8±12.6 years) were included in the study. Ten patients (41.7%) had moderate and six (25.0%) had severe dry eye disease. Five patients had rheumatoid arthritis. After treatment, the number and density of conjunctival goblet cells, their size, the size of their nuclei and the nucleus/cytoplasm ratio increased significantly (202.3±107.5 vs 210.1±100.9 cells/mm<sup>2</sup>, p<0.01). Seven of ten patients with grade 3 or 4 metaplasia had an improvement in the degree of metaplasia. Both Schirmer's test and tear break-up time improved significantly in this subgroup of patients. In the multivariate study, the increase in conjunctival goblet cells was associated with the number of goblet cells and the size of the cytoplasm at baseline. No adverse reactions were noted.

**Discussion** - Treatment with autologous serum eye drops for 1 month was well tolerated and improved tear production, lachrymal flow and stability tests and conjunctival impression cytology with transfer, increasing the density of the goblet cells.

**Keywords:** dry eye disease, autologous serum, conjunctival impression cytology, goblet cells, squamous metaplasia.

Arrived: 12 January 2020  
Revision accepted: 14 April 2020  
Correspondence: Sandra L. Valencia Castillo  
e-mail: svalencia@saludcastillayleon.es

tear film instability and hyperosmolarity, ocular surface inflammation and damage,

Blood Transfus 2020; DOI 10.2450/2020.0009-20  
© SIMTIPRO Srl

1

Imagen de las galeradas del artículo relacionado con el estudio.

## ***XII. ANEXOS***

## XII. ANEXOS

### 12.1 ANEXO I. RESOLUCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE CLASIFICACIÓN DE ESTUDIO CLÍNICO O EPIDEMIOLÓGICO



DEPARTAMENTO  
DE MEDICAMENTOS  
DE USO HUMANO

**ASUNTO:** RESOLUCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE CLASIFICACIÓN DE ESTUDIO CLÍNICO O EPIDEMIOLÓGICO

**DESTINATARIO:** D<sup>a</sup> SANDRA LILIANA VALENCIA CASTILLO

Vista la solicitud-propuesta formulada con fecha **16 de marzo de 2015**, por D<sup>a</sup> SANDRA LILIANA VALENCIA CASTILLO, para la clasificación del estudio titulado **“EMPLEO DEL SUERO AUTÓLOGO EN EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE OJO SECO.”** con código **SVC-SUE-2015-01**, y cuyo promotor es D<sup>a</sup> SANDRA LILIANA VALENCIA CASTILLO., se emite resolución.

Se han tenido en cuenta en la presente resolución las respuestas remitidas por el solicitante con fecha **17 de marzo de 2015**, en contestación a las aclaraciones solicitadas el **16 de marzo de 2015**.

El Departamento de Medicamentos de Uso Humano de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), de conformidad con los preceptos aplicables, <sup>(1)</sup> **RESUELVE** clasificar el estudio citado anteriormente como **“Estudio Posautorización de seguimiento prospectivo** (abreviado como EPA-SP).

El promotor del estudio deberá remitir solicitud de autorización del mismo <sup>(2)</sup> a todas aquellas Comunidades Autónomas en las que se pretenda llevar a cabo, incluyendo la siguiente documentación (una copia en papel y otra en formato electrónico) y enviando una copia de la misma (papel y formato electrónico) a la AEMPS en el momento de la primera solicitud de autorización:

- Carta de presentación dirigida a los responsables de esta materia en la Comunidad Autónoma<sup>(3)</sup> en la que se solicite la autorización del estudio e indique la dirección y contacto del solicitante y la relación de documentos que se incluyen<sup>(4)</sup>.
- Resolución de la AEMPS sobre la clasificación del estudio
- Protocolo completo, incluidos los anexos, y donde conste el número de pacientes que se pretenden incluir en España, desglosado por Comunidad Autónoma.
- Dictamen favorable del estudio por un CEIC acreditado en España.
- Listado de Centros Sanitarios donde se pretende realizar el estudio, desglosado por Comunidad Autónoma
- Listado de investigadores participantes en la Comunidad Autónoma.
- Si el estudio se pretende realizar en otros países, situación del mismo en éstos

CORREO ELECTRÓNICO

ENCUADRE 4. EFECTOS



DEPARTAMENTO  
DE MEDICAMENTOS  
DE USO HUMANO

- Documento acreditativo de haber satisfecho las tasas correspondientes, en aquellas CC.AA. donde se exijan.

El plazo máximo establecido para emitir resolución por parte de cada CC.AA. será de 90 días naturales. Si transcurrido el mismo la CC.AA. no se hubiese pronunciado, se entenderá autorizado el estudio en esa CC.AA.

Contra la presente resolución que pone fin a la vía administrativa podrá interponerse Recurso Potestativo de Reposición, ante la Directora de la Agencia, en el plazo de un mes a contar desde el día siguiente a aquel en que tenga lugar la notificación de la presente resolución.<sup>(5)</sup>

Madrid, a 18 de marzo de 2015

EL JEFE DE DEPARTAMENTO DE  
MEDICAMENTOS DE USO HUMANO

César Hernández García

<sup>1</sup> Son de aplicación al presente procedimiento la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del Procedimiento Administrativo Común; la Ley 12/2000, de 29 de diciembre, de medidas fiscales, administrativas y de orden social; la Ley 29/2006, de 26 de julio, de Garantías y Uso Racional de los Medicamentos y Productos Sanitarios; el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos; el Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal "Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios" y se aprueba su estatuto; el Real Decreto 577/2013, de 26 de julio, por el que se regula la farmacovigilancia de medicamentos de uso humano y la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las directrices sobre estudios posautorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano.

<sup>2</sup> De acuerdo con la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre.

<sup>3</sup> Directorio disponible en la página web de la AEMPS (<http://www.aemps.es/actividad/invClinica/estudiosPostautorizacion.htm>)

<sup>4</sup> En el caso de que el promotor no sea quien presente la documentación, se deberá incluir en la misma un documento que indique las responsabilidades delegadas por el promotor a la persona o empresa que actúa en su nombre.

<sup>5</sup> De conformidad con lo dispuesto en los artículos 116 y 117 de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, o Recurso Contencioso-Administrativo ante el Juzgado Central de lo Contencioso-Administrativo de Madrid, en el plazo de dos meses contados desde el día siguiente al de la notificación de la presente resolución, de conformidad con la Ley 29/1998, de 13 de Julio, reguladora de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa, sin perjuicio de poder ejercitar cualquier otro recurso que se estime oportuno. En caso de interponerse recurso de reposición no podrá interponerse recurso contencioso-administrativo hasta la resolución expresa o presunta del primero.

CORREO ELECTRÓNICO

C/ CAMPEZO, 1 - EDIFICIO 8



MINISTERIO  
DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES  
E IGUALDAD



agencia española de  
medicamentos y  
productos sanitarios

DEPARTAMENTO  
DE MEDICAMENTOS  
DE USO HUMANO

DESTINATARIO:

D<sup>a</sup> SANDRA LILIANA VALENCIA CASTILLO  
C/ SANTA ISABEL, 11. PORTAL 2. 3<sup>o</sup>F  
40001 - SEGOVIA

Fecha: 18 de marzo de 2015

REFERENCIA: ESTUDIO SUERO AUTÓLOGO

ASUNTO: NOTIFICACIÓN DE RESOLUCIÓN DE CLASIFICACIÓN DE ESTUDIO CLÍNICO O EPIDEMIOLÓGICO

Adjunto se remite resolución de clasificación sobre el estudio titulado "EMPLEO DEL SUERO AUTÓLOGO EN EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE OJO SECO." con código SVC-SUE-2015-01.

CORREO ELECTRÓNICO



MINISTERIO DE SANIDAD, SERVICIOS  
SOCIALES E IGUALDAD  
REGISTRO AUXILIAR  
AGENCIA E. DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS  
SANITARIOS  
SALIDA  
N.º de Registro: 5914 / DC 13652

C/ CAMPEZO, 1 – EDIFICIO 8

## 12.2 ANEXO II. HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

### HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL EN EL ESTUDIO: Empleo del Suero Autólogo en el tratamiento de paciente con diagnóstico de “ojo seco”.

El síndrome del ojo seco, también conocido como enfermedad del ojo seco o queratoconjuntivitis seca, es un desorden producido por múltiples causas que se caracteriza porque el ojo no es capaz de producir suficiente lágrima, ó ésta es de calidad deficiente, lo que produce una alteración de la película lagrimal que recubre la superficie del ojo. Esto provoca mayor sequedad e irritación del ojo, pudiendo causar incluso daños a nivel de la córnea y la conjuntiva.

Se estima que el síndrome del ojo seco lo padece entre un 5 y un 30% de la población, siendo más frecuente en personas de edad avanzada. Este síndrome es uno de los principales motivos de consulta de Oftalmología, ya que hasta un 30-35% de las consultas pueden guardar relación con esta patología.

El diagnóstico del ojo seco se basa en la presencia de síntomas y de una exploración física compatible, y en los resultados de diferentes pruebas diagnósticas como la citología de impresión conjuntival.

El tratamiento del síndrome del ojo seco, además de tratar la causa que lo produce, suele ser gotas de lágrima artificial, y cuando las molestias no responden a las gotas de lágrima, se puede emplear el tratamiento con suero autólogo.

Usted padece un síndrome de ojo seco y su oftalmólogo ha indicado tratamiento con gotas de suero autólogo. Le invitamos a que participe en el estudio “**Empleo del suero autólogo en el tratamiento de pacientes con diagnóstico de ojo seco**” que se está llevando a cabo en el Complejo Asistencia de Segovia. Si usted decide participar en el estudio, se realizarán dos citologías de impresión conjuntival, una al principio del tratamiento y otra al final con el objetivo de ver la eficacia del mismo. Las muestras serán empleadas en estudios médicos con estos propósitos únicamente en este estudio.

Usted debe saber que el estudio no está financiado por ninguna institución médica ni farmacéutica, los investigadores principales no tienen remuneración alguna y tampoco los paciente participantes. En caso de decidir no participar en este estudio, su tratamiento, cuidados y seguimiento, no se verán modificados ni afectados.

#### **Citología de impresión conjuntival. Consentimiento informado**

La citología de impresión de la conjuntiva es una técnica no invasiva que permite determinar el grado de metaplasia escamosa de la superficie conjuntival (alteración de las células de la conjuntiva).

El examen citológico de la superficie ocular permite evaluar la capa superficial de células de la conjuntiva. Esta prueba permite conocer la morfología celular y las alteraciones que en ella acontecen durante las enfermedades.

La citología de impresión conjuntival es una técnica que permite obtener una fina lámina de la superficie de la conjuntiva del ojo (la capa más superficial, no relacionada con la visión, que cubre la parte blanca del ojo). Se realiza posando el extremo de una tira fina de papel de celulosa sobre la conjuntiva, para a continuación levantarla de ella. De esta manera, podemos recoger generalmente una capa superficial de células de la conjuntiva, que luego pueden ser analizadas para averiguar características normales de la superficie del ojo (en personas sanas), o bien consecuencias relacionadas con tratamientos que el paciente pueda estar tomando o con enfermedades que pueda tener.

La citología de impresión conjuntival es un procedimiento de toma de muestras de células que se considera no invasivo e inofensivo, es decir, generalmente no acarrea ningún daño para el sujeto al que se le hace. Puede notar, al levantar el papel de la conjuntiva, un leve tirón o una sensación de que se queda algo pegado al papel. Casi nunca deja molestia y es excepcional que el ojo se enrojezca o tenga algún otro problema. No existe perjuicio significativo para el ojo, por la utilización de la técnica explicada. En los trabajos científicos revisados acerca de la citología de impresión conjuntival, se describe un efecto adverso leve por cada cien mil (100.000) citologías realizadas.

**Todos sus datos personales y los datos recogidos en el estudio serán tratados conforme a lo establecido en la LOPD.**

Yo, D./Dña..... Con DNI .....

He leído esta hoja de información y consiento libre y voluntariamente en que se me realice la citología de impresión conjuntival según se me ha explicado.

He podido hacer cuantas preguntas he querido, en relación con ello, y me han sido contestadas satisfactoriamente.

También estoy informado de que puedo revocarlo en cualquier momento, si cambio de opinión.

Segovia, a ..... de ..... De 2017

Firma del Paciente o Representante legal

Firma del médico que informa

**REVOCACIÓN**

Yo, D/D<sup>a</sup> ..... con DNI .....

REVOCO el consentimiento prestado en fecha ..... y no deseo continuar con el estudio, que doy con esta fecha por finalizado.

En Segovia, a ..... de ..... de 20

Firma del Paciente o Representante legal

Firma del médico que informa



- 10-50 células caliciformes
- <10 células caliciformes

8. Densidad de células caliciformes conjuntivales:

9. Índice de la capacidad mucínica de las células conjuntivales

10. Grado de metaplasia escamosa

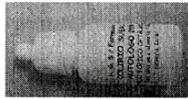
- Grado 0
- Grado 1
- Grado 2
- Grado 3
- Grado 4
- Grado 5

## 12.4 ANEXO IV. FICHA TÉCNICA DE ELABORACIÓN DEL COLIRIO DE SA.

FICHA TÉCNICA DE ELABORACIÓN		
<b>NOMBRE: SUERO AUTOLOGO 20%</b>		
<b>FORMA FARMACÉUTICA:</b> Colirio.		Preparación de riesgo medio.
<b>Datos</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Utillaje</b>
SUERO DEL PACIENTE	1 mL	Jeringas de 2 y 50 mL. Filtro esterilizante (0,22 micras).
SUERO FISIOLÓGICO 0,9%	4 mL	<b>Material de acondicionamiento</b> Frasco estéril para colirios. Etiquetas autoadhesivas. Bolsas con autocierre y bolsas para sellar
<b>USO TERAPEUTICO:</b> Keratoconjuntivitis sicca grave.		
<b>MÉTODO ELABORACIÓN:</b> Todas las manipulaciones se realizan en la cabina de Flujo Laminar Horizontal. Se prepararan tantos colirios como cantidad de suero se obtenga: en el caso de 10 mL de suero: <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Partimos de 10 mL de suero del propio paciente tratado por el Servicio de hematología, se diluye con 40 mL de Suero Fisiológico 0,9%.</li> <li>2. A continuación se reparten los 50 mL en frascos estéril especial para colirios con un volumen de 5 mL en cada frasco.</li> <li>3. Etiquetamos y lo introducimos en una bolsa con autocierre. Cuando elaboremos lotes, introduciremos posteriormente todos los colirios (en su bolsa autocierre) en una bolsa para sellar y sellaremos.</li> <li>4. Tomamos una muestra (aprox. 1 mL) para control microbiológico con una jeringa de 2 mL. La introducimos en una bolsa para sellar, sellamos y etiquetamos.</li> </ol>		
<b>CARACTERÍSTICAS:</b> Solución clara. Sin partículas en suspensión.		
<b>CONSERVACIÓN:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 7 días en nevera</li> <li>• 3 meses en congelador</li> </ul>		<b>MUESTRA ETIQUETA:</b> H. G. S / Farmacia <b>COLIRIO SUERO</b> <b>AUTOLOGO 20%</b> USO TÓPICO OFTÁLMICO Lote: CAD iniciado: 7 días CAD a -20°C: Nombre del paciente
<b>INFORMACIÓN AL PACIENTE</b> Uso tópico oftálmico. Conservar en nevera entre 2 y 8° C, desechar el colirio una vez pasada la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Este colirio está preparado a partir de suero de su sangre y no contiene ningún conservante para evitar problemas de toxicidad sobre la superficie ocular. Por ello es importante que siga las siguientes instrucciones para evitar su contaminación: <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Debe conservar el colirio en la nevera.</li> <li>2. Debe aplicarse el colirio de 6 a 10 veces al día, una gota cada vez.</li> <li>3. Previamente se lavará las manos y al instilarlo tendrá cuidado de no tocar el extremo del dosificador con los dedos o la superficie del ojo o pestañas.</li> <li>4. Cada frasco se empleará solo durante 5 días tras los cuales se desechará en contenedor de material biológico.</li> </ol>		
<b>BIBLIOGRAFÍA:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Farmaciahospitalaria 2003.</li> <li>• Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J. Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. <i>Ophthalmolgy</i> 1999; 106: 1984-1989.</li> <li>• Tsubota K, Goto E, Fujita H, et al.(1999) Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjogren's syndrome. <i>Br J Ophthalmol</i> 83:390-395.</li> </ul>		
VALIDACIÓN DEL FARMACÉUTICO	FIRMA	FECHA.....



12.6 ANEXO VI. INFORMACIÓN DEL EMPLEO DEL COLIRIO DE SA



**Colirio de Suero Autólogo al 20%**

ES SU RESPONSABILIDAD VELAR POR UNA ADECUADA CUSTODIA, CONSERVACIÓN Y ADMINISTRACIÓN DE SU TRATAMIENTO.

LA EFICACIA DE SU TRATAMIENTO DEPENDE DE USTED

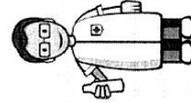
- Su médico ya le ha diagnosticado su enfermedad y le ha indicado los medicamentos que mejor pueden aliviarle. Ahora es imprescindible que usted cumpla correctamente el tratamiento.
- Disponer de información suficiente y veraz sobre su tratamiento le ayudará a cumplirlo mejor, a lograr el máximo beneficio y a reducir riesgos.
- En el Servicio de Farmacia estamos a su disposición para completar la información facilitada por su médico.

NO SE QUEDE CON DUDAS!

Para que su tratamiento sea eficaz y bien tolerado, usted debe comprender bien:

- ◆ Qué medicamentos toma.
- ◆ Para qué los toma.
- ◆ Cómo debe tomarlos.
- ◆ Qué efectos producen.

Si hay algo que no entiende, no dude en solicitarnos más información.



**Importante!!!**

Cuando le quede 1 colirio y deba continuar el tratamiento, pase por la Consulta de Oftalmología para que le extraigan sangre.

**¿Cuándo me lo debo poner?**



En su consulta le entregarán una hoja con los días y las horas en las que debe aplicarse su colirio

**UNIDAD DE ATENCIÓN FARMACÉUTICA A PACIENTES EXTERNOS**  
 Servicio de Farmacia. Complejo Asistencial de Segovia  
 Tel.: 921 41 91 00 Ext: 59165 Horario de Lunes a Viernes de 10:00 a 13:30

### ¿Qué es el colirio de suero Autólogo?

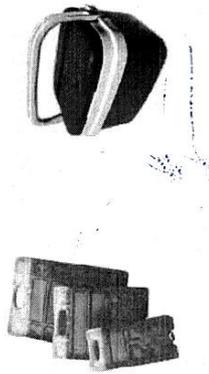
- ✦ El colirio que le ha recetado su médico está preparado a partir del suero de su sangre y está indicado en el tratamiento del ojo seco.
- ✦ Su colirio es de uso personal y **NO DEBE COMPARTILO**.

### ¿Cuándo puedo recoger el colirio al Servicio de Farmacia?

- ◆ Una vez que se haya extraído la sangre para hacer el colirio, tiene que esperar **4 días** hasta poder venir al Servicio de Farmacia.

### ¿Cómo debo recoger el colirio en el Servicio de Farmacia?

- ✘ El colirio de Suero Autólogo se conserva a **-20°C**.
- ✘ **Para que el colirio funcione, es imprescindible que no se rompa la cadena de frío.**
- ✘ **Cuando venga a recoger su tratamiento, debe traer una nevera o bolsa isotérmica con muchos acumuladores de hielo congelados para garantizar la conservación del producto durante el transporte.**



### ¿Cómo guardo el colirio en casa?

- En casa debe guardar todos los colirios en el **congelador** a **-20°C**, EXCEPTO el que vaya a utilizar que lo conservará en **nevera** entre **2-8°C**.

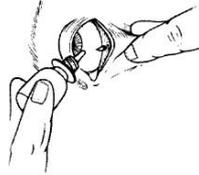
### ¿Qué caducidad tiene?

- ◆ La estabilidad del colirio **CONGELADO** es de **3 meses**.
- ◆ Una vez descongelado y conservado en **NEVERA** entre **2-8°C** puede utilizarse durante **7 DÍAS**.

### ¿Cómo me lo aplico?



- Este colirio no tiene ningún tipo de conservante, por lo que es importante que se **lave bien las manos** y mantenga unas condiciones higiénicas durante todo el proceso de administración.
- Si lleva lentillas, quíteselas **5 min.** antes de la aplicación del colirio y no se las ponga hasta **10 min.** después.
- Si se administra más de un colirio, espere **5 min.** entre cada aplicación.
- Siga las siguientes instrucciones:
  - 1.- Agite bien el envase.
  - 2.- Quite el tapón del colirio.
  - 3.- Eche la cabeza hacia atrás. Con un dedo, tire del párpado inferior hacia abajo y deje caer las gotas de colirio entre el párpado inferior y el ojo (**SIN QUE EL APLICADOR TOQUE EL OJO**).
  - 4.- Suelte el párpado despacio y parpadee varias veces.
  - 5.- Vuelva a guardar el colirio en la nevera. Recuerde que caduca a los **7 días**.



### ¿Qué hago con el colirio gastado?

- ✦ Cuando el bote del colirio se haya gastado o esté caducado, lo debe de tirar en el punto **SIGRE** de su oficina de farmacia, nunca en la basura de su casa.

## 12.7 ANEXO VII. APROBACIÓN POR EL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL AREA DE SEGOVIA (CEIC)

 COMPLEJO HOSPITALARIO  
HOSPITAL GENERAL  
C/ Miguel Servet, s/n.  
40002 - Segovia  
Fax: 921 44 05 32  
Teléf. 921 41 91 00



Comité Ético De Investigación Clínica  
del Área de Segovia (CEIC)

D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> BELEN CANTÓN ÁLVAREZ, COMO PRESIDENTA DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL AREA DE SEGOVIA.

### CERTIFICA

Que este Comité ha ponderado y evaluado en sesión celebrada el 10 de septiembre de 2015 (Acta 07/2015), y a propuesta del Investigador del estudio Dra. Sandra Valencia Castillo, sobre el estudio titulado:

**“EMPLEO DEL SUERO AUTÓLOGO EN EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE OJO SECO”.**

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

**Dr. Martín L. Vargas Aragón.- (Psiquiatría)**  
**Dr. D. Francisco Javier García de Miguel.- (Anestesia)**  
**Dr. Ángel Luis Fuentes de Frutos.- (Anestesiología y Reanimación).**  
**D. Jesús M<sup>a</sup> Esteban Tinaquero.- (Licenciado en Derecho).**  
**D. Enrique Vicente Yubero.- (Enfermero)**

Que dicho Comité, está constituido y actúa de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica.

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del Estudio en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.

El procedimiento para obtener el consentimiento informado y el plan de reclutamiento de sujetos previstos son adecuados y tiene el Vº Bº de CEIC.

La capacidad del investigador y sus colaboradores y las instalaciones y medios disponibles son apropiados para llevar a cabo este Estudio.

Por tanto, este Comité Ético de Investigación Clínica, ante el Estudio presentado y habiendo tenido en cuenta el cumplimiento de la legislación vigente, acepta que dicho Estudio sea realizado en el Hospital, por el investigador que lo propone.

Lo que firmo en Segovia, a catorce de septiembre de dos mil quince



Fdo.: Dr. Martín Vargas Aragón  
Presidente del CEIC en funciones

 **Junta de  
Castilla y León**  
Consejería de Sanidad

## INDICE ANALÍTICO

### #

$\alpha$ 2 macroglobulina.....27, 33

### A

Albumina.....28, 32

Alogénico.....7

Análisis .....69

Comparativo..... 50, 54, 64, 72, 80, 91

Correlación.....64, 93

Estadístico..... 3, 5, XII, 64, 66, 110

Multivariante.....51, 65, 85, 93

Artritis reumatoide .....XIX, 71

Autólogo .....8, 73, 74, 75, 116

### B

Banco de Sangre.....6, 57, 95, 96, 98

### C

Capacidad mucínica..... XII, 46, 112, 129

Células caliciformes .. 39, 46, 51, 57, 73, 74

Densidad.....13, 51

Relación núcleo/citoplasma .....23

Tamaño ..... XII, 38, 51

Tamaño del núcleo.....82, 83

Células madre .....6

Activación.....2

Adultas .....2, 6

Clasificación.....5

Embrionarias..... Véase

Gonadales.....6

Centrifugación ..... 58, 96, 97, 101, 105, 108

Citología de impresión conjuntival 5, XII, 22,

44, 48, 50, 52, 54, 55, 91, 92, 110, 112,

122

Clasificación clínica .....70

Coefficiente de correlación de Sperman ..64,

65, 82, 83

Colágeno .....3, 29, 31

Colirio de membrana amniótica.....105

Colirio de plasma rico en factores de

crecimiento..... 105

Colirio de plasma rico en plaquetas ..... 105

Colirio de sangre de cordón umbilical .....92

Colirio de suero autólogo .....46, 110

Colirio de suero heterólogo ..... 105

Comité de Ética .....66

Complemento .....29, 36

Composición.....13

Conjuntiva bulbar .....21, 54, 92

córnea.....XIX, 8, 9, 13, 14, 24, 38

### D

Definición.....26

Densidad..... 51, 53, 72, 129

Desdiferenciación celular..... 2

Diagnóstico ..... 19

### E

Efectos bactericidas..... 41

Elastina ..... 3

Enfermedad del ojo seco

Dignóstico ..... 46

Patología..... 71

Signos y Síntomas..... 10

Tratamiento ..... 116, 124

Estudio

Correlación ..... 51

Estudio cuasi-experimental..... 50

Etiología ..... 128

Evaporativo ..... 15

### F

Factores de crecimiento. XX, 105, 107, 108,

127

Fibroblastos ..... XIX, 3

Fibroцитos ..... 3

Fibronectina ..... 28, 32, 105, 107

### G

glándulas lagrimales ..... 11, 13

Gotas oculares personalizadas ..... 108

Grados de metaplasia escamosa ..... Véase

metaplasia escamosa

### H

Higiene palpebral ..... 25

Hiperplasia ..... 2

### I

Inmunoglobulinas (IG)..... XIX, 15, 29, 35

### L

Lágrima ... 13, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 34,

35, 36, 37, 38, 39, 40, 43, 94

Artificial ..... 9, 25

Capas ..... 13

Composición...XII, 12, 13, 15, 21, 25, 27,

29

Función ..... 8, 14, 15

homeostasis ..... 10, 11

Limitaciones del estudio..... 110

Lisozima ..... 28, 29, 36

### M

Matriz extracelular.. 2, 3, 4, 6, 28, 29, 31, 32

Medicina regenerativa..... XIX

Metaplasia escamosa..... XII, 22, 23, 24, 28, 31, 39, 40, 53, 54, 91, 92, 93, 129

Miofibroblastos .....3

Mucinas .....27, 37, 39, 40

**O**

Osmolaridad lagrimal ..... XII

**P**

Película lagrimal ..XIX, 9, 10, 14, 15, 21, 39, 40, 41

Población diana .....51

Prueba de la Suma de Rangos de Wilcoxon.....64

Prueba de Schirmer .....21

**Q**

Queratoconjuntivitis seca ..... XII

**R**

Regeneración tisular .....1, 2, 106

Regresión lineal múltiple .....66

Relación núcleo/citoplasma.....53

Reparación tisular .....2, 4, 28, 31, 32

**S**

Servicio de Farmacia.....6, 58, 96, 98, 103

Síndrome de Sjögren..... XX, 12

Superficie ocular ....XII, XV, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 20, 22, 26, 27, 28, 31, 32, 33, 34, 37, 38, 39, 40, 41, 43, 91, 92, 94, 100, 106, 108, 109, 116, 126

Hiperosmolaridad ..... 10

Inestabilidad ..... 10, 21, 25, 40

**T**

Tablas de contingencia..... 64, 78

Tamaño ..... 51, 53, 72, 74, 75, 86

Tamaño muestral ..... 52, 64, 110, 122

Tamaño núcleo ..... 72

Test de Schirmer..... 53, 78

Test exacto de Fisher ..... 64

Tiempo de ruptura lagrimal (BUT) ..... 21

Trasplante de tejidos..... 6

Tratamiento ..... 2, 9, 25

**V**

Variables XII, 51, 52, 53, 64, 65, 72, 78, 79, 80, 81, 85, 86, 89, 90, 91, 110

Vitamina A..... 26, 28, 30, 98

**X**

Xeroftalmia..... 31