



Universidad de Valladolid



PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA VISION

TESIS DOCTORAL

**EFICACIA DEL SUERO AUTÓLOGO *VERSUS* VEHÍCULO EN LA
ENFERMEDAD DE OJO SECO INDUCIDA POR CIRUGÍA
REFRACTIVA CORNEAL: ESTUDIO PROSPECTIVO,
RANDOMIZADO Y DOBLE-ENMASCARADO**

Presentada por **Giovana Melvi Murillo Paz**
para optar al grado de
Doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

Prof. Dra. Margarita Calonge Cano
Prof. Dr. Miguel J. Maldonado López

UVa

Secretaría Administrativa. Escuela de Doctorado. Casa del Estudiante. C/ Real de Burgos s/n. 47011-Valladolid. ESPAÑA
Tfno.: + 34 983 184343; + 34 983 423908; + 34 983 186471 - Fax 983 186397 - E-mail: seccion.tercer.ciclo@uva.es

INDICE

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS DOCTORAL.....	1
FINANCIACION	2
DIVULGACIÓN CIENTÍFICA.....	2
PUBLICACION DE LA TESIS DOCTORAL.....	2
BREVE CURRICULUM VITAE.....	3
AGRADECIMIENTOS	5
I. INDICE DE ABREVIATURAS	8
II. RESUMEN y ABSTRACT	10
III. INTRODUCCIÓN.....	12
1. Cirugía refractiva corneal (CRC).....	15
1.1. Técnicas con colgajo o “flap” corneal	17
1.2. Técnicas de superficie	18
2. Enfermedad de ojo seco (EOS)	22
2.1. Definición y epidemiología	22
2.2. Clasificación.....	25
2.3. Métodos diagnósticos	27
2.4. Manejo terapéutico general.....	34
3. EOS tras CRC	37
3.1. Tipos de EOS tras CRC y teorías etiopatogénicas	38
3.2. Inervación corneal: tipos de fibras y receptores	46
3.3. Medida de la sensibilidad corneal	58
3.4. Manejo terapéutico de la EOS post-CRC	61
4. Productos derivados del plasma humano y su uso en Oftalmología	63
4.1. Tipos de derivados hemáticos.....	66
4.2. Uso terapéutico en patologías diferentes de la EOS	71
4.3. Uso en la EOS	74
IV. JUSTIFICACIÓN	78
V. HIPOTESIS DE TRABAJO	81
VI. OBJETIVOS	82
VII. METODOLOGÍA.....	84
1. Descripción del estudio.....	84
2. Pacientes y visitas del estudio	85
2.1. Criterios de inclusión.....	85

2.2. Criterios de exclusión	86
2.3. Visitas del estudio	87
3. Administración de los productos	87
4. Procedimiento quirúrgico	88
5. Pruebas diagnósticas	91
6. Resumen de las visitas del estudio	98
7. Criterios de evaluación de eficacia	101
8. Análisis estadístico	102
VIII. RESULTADOS	104
1. Agudeza visual (AV)	105
2. Osmolaridad lagrimal.....	107
3. Cuestionario OSDI.....	109
4. Hiperemia conjuntival bulbar.....	111
5. Tiempo de ruptura de la película lagrimal (TBUT).....	113
6. Tinción corneal con fluoresceína	114
7. Tinción conjuntival con verde de lisamina.....	116
8. Estesimetría corneal mecánica y térmica.....	117
8.1. Estesimetría corneal mecánica	117
8.2. Estesimetría corneal térmica: calor	120
8.3. Estesimetría corneal térmica: frío	121
9. Test de Schirmer I con anestesia tópica	123
10. Criterios de evaluación de eficacia	124
IX. DISCUSION	126
X. CONCLUSIONES.....	139
XI. BIBLIOGRAFIA.....	142
XII. ANEXOS	170
ANEXO I. Aprobación del estudio por el Comité Ético	171
ANEXO II. Información al paciente sobre el estudio	172
ANEXO III. Consentimiento informado.....	175
ANEXO IV. Información al paciente sobre el suero autólogo.....	176
Anexo V. Información al paciente sobre el preoperatorio.....	178
Anexo VI. Información al paciente sobre el postoperatorio	179
ANEXO VII. Cuaderno de recogida de datos	181
ANEXO VIII. Escala para la toma de agudeza visual.....	185

ANEXO IX. Cuestionario enfermedad de la superficie ocular (OSDI)	186
ANEXO X. Valoración de la Hiperemia de la Superficie Ocular	188
ANEXO XI. Valoración de la tinción corneal (fluoresceína) y conjuntival (verde de lisamina) según el esquema de Oxford.....	189

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS DOCTORAL



Universidad de Valladolid



impreso 1T

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR/A DE TESIS

(Art. 7.2 de la Normativa para la presentación y defensa de la Tesis Doctoral en la UVa)

D. MIGUEL JOSÉ MALDONADO LÓPEZ con D.N.I. 25149971T,
Profesor del departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia
Centro: Facultad de Medicina
Dirección a efecto de notificaciones: Edificio IOBA, Campus Miguel Delibes, 47011 Valladolid
e-mail: maldonado@ioba.med.uva.es

y

Dª MARGARITA CALONGE CANO con D.N.I. 09255952Q
Profesor del departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia
Centro: Facultad de Medicina
Dirección a efecto de notificaciones: Edificio IOBA, Campus Miguel Delibes, 47011 Valladolid
e-mail: calonge@ioba.med.uva.es

Como directores de la Tesis Doctoral titulada: EFICACIA DEL SUERO AUTÓLOGO *VERSUS* VEHÍCULO EN LA ENFERMEDAD DE OJO SECO INDUCIDA POR CIRUGÍA REFRACTIVA CORNEAL: ESTUDIO PROSPECTIVO, RANDOMIZADO Y DOBLE-ENMASCARADO, realizada por Dª GIOVANA MELVI MURILLO PAZ, alumna del Programa de Doctorado: CIENCIAS DE LA VISION **autoriza** su presentación, considerando que: **ES APTA PARA SU DEFENSA.**

MIGUEL MALDONADO LÓPEZ y MARGARITA CALONGE CANO (*Directores de la tesis doctoral*)¹:
X Declaran que cumple los requisitos para poder ejercer la dirección de la tesis doctoral que establecen el RD 99/2011 (modificado por el RD 195/2016) y el Acuerdo del Comité de Dirección de la Escuela de Doctorado de la Universidad de Valladolid del 17 de febrero de 2014, es decir, que posee "al menos un período de actividad investigadora reconocido de acuerdo con las previsiones del RD 1086/1989 de 28 de agosto"².

Valladolid, 1 de diciembre de 2020

Los directores de la Tesis

MALDONADO LOPEZ MIGUEL JOSE - DNI 25149971T
Firmado digitalmente por MALDONADO LOPEZ MIGUEL JOSE - DNI 25149971T
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, o=UNIVERSIDAD DE VALLADOLID, ou=CERTIFICADO ELECTRONICO DE EMPLEADO PUBLICO, serialNumber=IDCES-25149971T, sn=MALDONADO LOPEZ, givenName=MIGUEL JOSE, cn=MALDONADO LOPEZ MIGUEL JOSE - DNI 25149971T
Fecha: 2020.11.28 11:21:27 +01'00'

SR/SRA. PRESIDENTE/A DE LA COMISIÓN DE DOCTORADO

CALONGE CANO MARGARITA - 09255952Q
Firmado digitalmente por CALONGE CANO MARGARITA - 09255952Q
Fecha: 2020.11.27 18:43:48 +01'00'

¹ Esta declaración deben realizarla todos los codirectores de la tesis, en el caso de que haya más de un director.

² En el caso de que la figura contractual no sea evaluable por tramos o se trate de un profesor de una universidad extranjera, deberá haber aportado a la Comisión académica del Programa de doctorado un CV u otro documento acreditativo de poseer méritos equivalentes a un tramo de actividad investigadora.

FINANCIACION

Este trabajo de investigación ha sido posible gracias al apoyo económico recibido de diferentes organismos que han financiado los proyectos de investigación en el Grupo de Investigación de Superficie Ocular del IOBA (grupo de investigación reconocido -GIR- de la Universidad de Valladolid) y Unidad de Investigación Consolidada de Castilla y León.

La Fundación Carolina, Ministerio de Asuntos Exteriores del Gobierno de España, financió parcialmente el Máster Universitario en Inmunología y Superficie Ocular en el IOBA, Universidad de Valladolid que la doctoranda realizó durante los años 2010-2011. El trabajo fin de máster constituyó, de hecho, el inicio de este trabajo, que completó con una estancia posterior en el IOBA en junio de 2014.

DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

09/09/16. González-García MJ, Murillo G, Pinto-Fraga J, García-Sánchez N, Calonge M, Maldonado MJ. Use of Autologous Serum in Advanced Surface Ablation Corneal Refractive Surgery. Comunicación en póster. 8th International Conference on the Tear Film & Ocular Surface (TFOS). Montpellier, Francia.

PUBLICACION DE LA TESIS DOCTORAL

González-García MJ, Murillo GM, Pinto-Fraga J, García-Sánchez N, Fernández I, Maldonado MJ, Calonge M, Enríquez-de-Salamanca A.

Clinical and tear cytokine profiles after advanced surface ablation refractive surgery: a six-month follow-up. Exp Eye Res. 2020.

Apr;193:107976. doi: 10.1016/j.exer.2020.107976. Epub 2020 Feb 17. PMID: 32081669

BREVE CURRICULUM VITAE



I. Datos Personales

- Nombre: Giovana Melvi Murillo Paz
- Domicilio: Av. Ballivián 514, Edificio Flor de Loto, Piso 10-A, Zona Calacoto. La Paz, Bolivia
- Teléfono domicilio: 591-2-2242641
- Celular: 591-75851458 / 591-70595631
- Correo electrónico: melvipaz@yahoo.com / melvipaz@gmail.com
- Cédula de identidad: N° 4758995 L.P.
- Fecha de nacimiento: 3 de Abril de 1979 - La Paz – Murillo, Bolivia

II. Formación Académica

- Médico – Cirujano, Título Académico, otorgado por la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA), Bolivia, el 19 de febrero de 2002.
- Médico – Cirujano, Título en Provisión Nacional, otorgado por la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA), Bolivia, el 17 de mayo de 2002.
- Título de Médico - Cirujano Homologado - al título universitario oficial español de Licenciada en Medicina. Expedido por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte de España. Madrid, 15 de marzo de 2012.
- Certificado de Especialista en “Oftalmología”, otorgado por el Colegio Médico de Bolivia y la Sociedad Boliviana de Oftalmología, expedido en Tarija- Bolivia, el 27 de octubre de 2006.
- Diplomado en “Educación Superior”, expedido por la Unidad de Postgrado de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA). La Paz – Bolivia, septiembre de 2008.
- 09/2009-09-2011. Máster Oficial profesionalizador en “Inmunología y Superficie Ocular”. Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), Universidad de Valladolid, Valladolid, España.
- 1/06/2014-30/06/2014. Estancia en el IOBA, Universidad de Valladolid, para completar recogida de datos para la tesis doctoral.
- 11/2011-presente. Doctorado en “Ciencias de la Visión”. IOBA, Universidad de Valladolid, Valladolid – España.

III. Experiencia Profesional

- Médico Cirujano Oftalmólogo, Hospital Municipal Boliviano Holandés, desde el 1 de noviembre de 2006 a julio de 2007.
- Jefe de la Unidad de Oftalmología en el Hospital Municipal Boliviano Holandés, desde el 5 de noviembre de 2006 a 2007.
- Cirujano Oftalmólogo en la “Fundación Adolfo Kolping”, desde noviembre de 2006 a diciembre de 2013.
- Médico Oftalmólogo, en el Hospital Militar Central N°1, desde el 01 de agosto de 2008 al 31 de diciembre de 2012.

- Médico Oftalmólogo, Jefe del Gabinete de Exámenes Complementarios- I y II; en el Hospital Otorrino- Oftalmológico; desde Octubre de 2012 Octubre a la fecha. La Paz– Bolivia.
- Médico Oftalmólogo – Inmunóloga Ocular, Centro de Diagnóstico Ocular “CDO”. La Paz- Bolivia, marzo de 2012 a la fecha.
- Docente Titular Contratada en la asignatura - Cátedra de Oftalmología de la Carrera de Medicina – Facultad de Medicina, Universidad Pública de El Alto, febrero de 2006 a la fecha.

IV. Publicaciones Científicas

Indexadas:

- Murillo G, Ramírez B, Romo LA, Muñoz-Sanz A, Hileeto D, Calonge M. Oculopalpebral borreliosis as an unusual manifestation of Lyme disease. *Cornea*. 2013;32:87-90.
- Ramírez BE, Victoria DA, Murillo GM, Herreras JM, Calonge M. In vivo confocal microscopy assessment of the corneoscleral limbal stem cell niche before and after biopsy for cultivated limbal epithelial transplantation to restore corneal epithelium. *Histol Histopathol*. 2015;30:183-92.
- González-García MJ, Murillo GM, Pinto-Fraga J, García-Sánchez N, Fernández I, Maldonado MJ, Calonge M, Enríquez-de-Salamanca A. Clinical and tear cytokine profiles after advanced surface ablation refractive surgery: a six-month follow-up. *Exp Eye Res*. 2020. Apr;193:107976.

No indexadas:

- Murillo G, Buitrago F. Patología de los anexos oculares. En: Guiones de Oftalmología. Aprendizaje basado en competencias. Editores: Maldonado MJ, Pastor JC. McGraw-Hill/Interamericana de España. 2012. Segunda edición. Capítulo 12; 139-152. ISBN:978-84-481-7539-9.
- Murillo G, Ruiz L, Arze X. Normas de Diagnóstico y Tratamiento en Oftalmología. Instituto Nacional de Seguros de Salud (INASES), Ministerio de Salud y Deportes. Diciembre de 2012. La Paz- Bolivia. Depósito legal: 4-1-445-12-P.O.
- Murillo G, Alavia G. Guiones Prácticos en Oftalmología. Editorial Don Bosco. 2015. La Paz – Bolivia. Depósito legal 1-1674-2015.
- Murillo G, Ayllón W, Chiri M. Normas de Diagnóstico y Tratamiento de Oftalmología. Autoridad de Supervisión de la Seguridad Social de Corto Plazo (ASUSS), Ministerio de Salud y Deportes. Editorial Indupress S.R.L. 1ª Edición. Diciembre 2019. La Paz- Bolivia. Depósito legal: 4-1-493-19-P.O.

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar un trabajo tan arduo y lleno de dificultades como el desarrollo de una tesis doctoral es inevitable el egocentrismo que te lleva a concentrar la mayor parte del mérito en el aporte que has hecho. Sin embargo, el análisis objetivo te muestra inmediatamente que la magnitud de ese aporte hubiese sido imposible sin la participación de personas e instituciones que han facilitado las cosas para que este trabajo llegue a un feliz término. Por ello, es para mí un verdadero placer utilizar este espacio para ser justa y consecuente con ellas, expresándoles mis agradecimientos.

Debo agradecer de manera especial y sincera a la profesora Dra. Margarita Calonge por aceptarme para realizar esta tesis doctoral bajo su dirección. Su apoyo, confianza y paciencia en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigadora. Las ideas propias, siempre enmarcadas en su orientación y rigurosidad, han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado juntas, el cual no se puede concebir sin su siempre oportuna participación. Le agradezco también el haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta tesis y, además, ha significado el surgimiento de una sólida amistad. Muchas gracias profesora y espero verla pronto en La Paz - Bolivia.

Quiero expresar también mi más sincero agradecimiento al profesor Dr. Miguel Maldonado por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de esta tesis. Debo destacar, por encima de todo, su disponibilidad y paciencia que hizo que

nuestras discusiones redundaran benéficamente tanto a nivel científico como personal. No cabe duda de que su participación ha enriquecido el trabajo realizado. A Ud. también espero verle en mi ciudad muy pronto.

Agradezco de manera especial a la profesora Dra. María Jesús González por su amabilidad y disponibilidad durante mis estancias en su grupo, durante las cuales tuve todo el soporte profesional y logístico para alcanzar los objetivos perseguidos. Muchas gracias por permitirme vivir una experiencia tan importante para mi formación como investigadora.

Para todos los miembros del GRUPO DE SUPERFICIE OCULAR (GSO) del IOBA profesores, doctorandos, posdoctorales, predoctorales y personal administrativo, vayan también mis más sinceros agradecimientos. Debo agradecer de manera especial a la Dra. Itziar Fernández por su colaboración y valiosos aportes realizados durante las innumerables sesiones de estadística para el GSO que lleva a cabo. Su paciencia y experiencia nos permitió obtener resultados *a priori* difícilmente alcanzables.

Agradecimiento especial a Dr. Roberto Reinoso director del Laboratorio de Biología Molecular del IOBA, por la elaboración de los productos, su aleatorización, su entrega y recogida del suero autólogo a los pacientes.

A todos los doctorandos de los demás grupos de investigación y de manera especial a los Dres. Fernando Ussa y Amalia Enríquez de Salamanca, por su colaboración en diversos aspectos en el campo de la investigación.

A mis padres, Teresa y René, por su ejemplo de lucha y honestidad; a mis hermanos Wilson, Milenka y Pamela por su paciencia, inteligencia, generosidad, valentía, capacidad y superación ... por ellos y para ellos!.

A mí amado esposo y mis bellas niñas por estar siempre y confiar en mí plenamente.

Finalmente, debo agradecer al Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) por haber financiado gran parte de mis estudios doctorales.

I. INDICE DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
AEMPS	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
ASA	Ablación de superficie avanzada
AV	Agudeza visual
BPA-LH	Biomicroscopía de polo anterior con lámpara de hendidura
BSS	“Buffer saline solution”; solución salina tamponada
CELab	“Controlled Environment Laboratory”; laboratorio de ambiente controlado
CGRP	“Calcitonin gene-related peptide”; péptido relacionado con el gen de la calcitonina
CRC	Cirugía refractiva corneal
D	Dioptría
DEWS	“Dry Eye WorkShop”; taller internacional sobre ojo seco
EGF	“Epidermal growth factor”; factor de crecimiento epidérmico
EOS	Enfermedad de ojo seco
EudraCT	“European Union Drug Regulating Authorities Clinical Trials Database”; base de datos de ensayos clínicos de las autoridades reguladoras de medicamentos de la Unión Europea
FDA	“Food and Drug Administration”; Agencia de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos de América

IC 95%	Intervalo de confianza del 95%
IOBA	Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada
LASEK	“Laser assisted subepithelial keratomileusis”; queratomileusis subepitelial asistida por láser
LASIK	“Laser assisted in situ keratomileusis”; queratomileusis <i>in situ</i> asistida por láser
NGF	“Nerve growth factor”; factor de crecimiento nervioso
OD	Ojo derecho
OI	Ojo izquierdo
OMS	Organización Mundial de la Salud
OSDI	“Ocular surface disease index”; índice de enfermedad de la superficie ocular
PRK	“Photorefractive keratectomy”; queratectomía fotorrefractiva
PRP	“Platelet-rich plasma”; plasma rico en plaquetas
PRGF	“Plasma rich in growth factors”; plasma rico en factores de crecimiento
RGP	“Rigid gas permeable”; rígida permeable al gas
rpm	Revoluciones por minuto
SAT	Suero autólogo tópico al 50%
TBUT	“Tear break-up time”: tiempo de ruptura lagrimal
USA	Estados Unidos de América
UVa	Universidad de Valladolid

II. RESUMEN y ABSTRACT

Objetivo. Determinar la eficacia de la instilación de suero autólogo tópico (SAT) comparada con la de su vehículo, solución salina tamponada (BSS) en la intensidad de los potenciales síntomas y/o signos relacionados con la enfermedad de ojo seco (EOS) que pueden aparecer en el post-operatorio de pacientes sometidos a cirugía refractiva corneal (CRC) de tipo ablación de superficie avanzada (ASA).

Métodos. Se diseñó un ensayo clínico de fase IV, aleatorizado, doble enmascarado y controlado con vehículo, que fue aprobado por el comité ético correspondiente. Todos los pacientes recibieron el mismo tratamiento médico protocolizado (antibióticos, antiinflamatorios y lágrimas artificiales) y, de forma aleatorizada, un ojo recibió SAT y el ojo contralateral BSS, desde el momento tras la CRC y durante 6 meses. Se evaluaron síntomas mediante el cuestionario de enfermedad de la superficie ocular (OSDI) y los siguientes signos: agudeza visual (AV), osmolaridad lagrimal, tiempo de ruptura lagrimal (TBUT), tinciones vitales en córnea y conjuntiva, estesiometría corneal mecánica y térmica (calor y frío) y producción lagrimal (test de Schirmer). Se analizó estadísticamente el efecto de la evolución temporal y del tratamiento, comparando los valores pre-CRC con los del 1º, 3º y 6º mes. Se definió como variables primarias de éxito una mejor evolución en la osmolaridad o la estesiometría corneal en el grupo SAT.

Resultados. Se incluyeron 36 ojos de 18 pacientes (11 mujeres, 7 hombres; edad media 34,6 años). La AV mejoró post-operatoriamente, siendo una línea significativamente mayor al mes en el grupo BSS e igualándose después. La osmolaridad lagrimal estaba anormalmente elevada pre-CRC y fue normalizándose, haciéndolo antes en el grupo SAT, donde fue ya normal y significativamente menor en el grupo SAT al 1º mes, mientras que el grupo BSS no se normalizó hasta el 3º mes. Los valores de OSDI fueron anormalmente elevados pre-CRC, mejorando progresivamente sin diferencias entre grupos. La hiperemia conjuntival, el TBUT, las tinciones vitales y la estesiometría térmica (calor y frío) fueron siempre normales y sin que influyera el tiempo o el tratamiento. La sensibilidad mecánica y el test de Schirmer, siempre en límites normales, aumentaron significativamente a los 6 meses y en ambos grupos por igual.

Conclusiones. Ningún paciente desarrolló EOS en el postoperatorio y, de hecho, todos los parámetros estuvieron dentro de la normalidad, salvo aquellos previamente alterados, OSDI y osmolaridad, que fueron normalizándose en el post-operatorio. Se cumplió uno de los dos criterios de éxito, al ser la osmolaridad más ventajosa con SAT que con BSS, sin diferencias en los demás parámetros. Teniendo en cuenta que estos pacientes ya recibían tratamiento antiinflamatorio, la diferencia en el comportamiento de la osmolaridad garantiza el que se prescriba suero autólogo en el postoperatorio de la CRC de tipo ASA.

PURPOSE. To determine the efficacy of topical autologous serum (SAT) compared to its vehicle, balanced saline solution (BSS) in the intensity of the potential symptoms and signs related to the dry eye disease (DED) that patients can suffer in the postoperative period after corneal refractive surgery (CRC), specifically after advanced surface ablation (ASA).

METHODS. A phase IV, randomized, double-masked and vehicle-controlled clinical trial was designed and approved by the corresponding Ethics Committee. All patients had the same protocolized treatment (antibiotics, antiinflammatories, and artificial tears). The trial treatment was randomized so that one eye received SAT and the contralateral eye from the same patient, BSS from the time after CRC and for 6 months. Symptoms were evaluated using the ocular surface disease questionnaire (OSDI). The following signs were also evaluated: visual acuity (VA), tear osmolarity, tear break-up time (TBUT), cornea and conjunctiva vital staining, mechanical and thermal (heat and cold) corneal esthesiometry, and tear production using the Schirmer test. The effect of time course and treatment was statistically analyzed, comparing pre-CRC values with those at month 1, 3, and 6 post-CRC. A better outcome for the SAT group in tear osmolarity or corneal sensitivity was defined as the primary evaluation endpoints.

RESULTS. 36 eyes of 18 patients (11 women, 7 men; mean age 34.6 years) were included. VA improved significantly, being a line significantly higher at one month in the BSS group and equalizing afterwards. Tear osmolarity was abnormally high pre-CRC and was decreasing post-CRC, doing so significantly earlier in the SAT group, where it was already normal and significantly lower than that of BSS after the 1st month, while in the BSS group did not decrease to normal values until the 3rd month. OSDI values were abnormally high pre-CRC, progressively improving without differences between groups. Conjunctival hyperemia, TBUT, ocular surface vital staining, and thermal (hot and cold) esthesiometry were always within normal limits and without influence by time or treatment. Mechanical corneal sensitivity and Schirmer test, always within normal limits, increased significantly at 6 months in both groups equally.

CONCLUSIONS. No patient developed DED in the postoperative period and, in fact, all the parameters were within a normal range, except those previously altered, OSDI and osmolarity, which normalized in the postoperative period. One of the two success criteria was met, as tear osmolarity was more advantageous with SAT than with BSS, with no differences in the other parameters. Taking into account that these patients were already receiving anti-inflammatory treatment, the difference in the behavior of tear osmolarity guarantees that autologous serum is prescribed in the postoperative period of ASA-type CRC.

III. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en sus datos publicados del año 2017, refiere que la cifra estimada de personas con discapacidad visual es de 253 millones. De ellos, 36 millones son ciegos y 217 millones tienen deficiencia visual moderada o grave, siendo el 81% de ellos mayores de 50 años (Bourne y cols 2017; **who.int: ceguera y discapacidad visual**).

Mientras las enfermedades oculares crónicas son la principal causa mundial de pérdida de visión, los errores de refracción no corregidos y las cataratas no operadas son las dos causas principales de discapacidad visual. Pero, lamentablemente, las cataratas no operadas siguen siendo la principal causa de ceguera en los países de ingresos medios y bajos. Sin embargo, la prevalencia de enfermedades oculares infecciosas como el tracoma y como la oncocercosis ha disminuido de forma significativa en los últimos 25 años (Bourne y cols 2017).

Según estimaciones más recientes del año 2017 (Bourne y cols 2017), más del 80% del total mundial de casos de discapacidad visual se pueden evitar o curar. Y así, según dichas estimaciones, las principales causas mundiales de discapacidad visual moderada a grave son los errores de refracción no corregidos (53%), las cataratas no operadas (25%), la degeneración macular asociada a la edad (4%) y la retinopatía diabética (1%). Según esa misma fuente, las principales causas de ceguera son las cataratas no operadas (35%), los errores de refracción no corregidos (21%) y el glaucoma (8%).

Se estima que el número de niños con discapacidad visual asciende a 19 millones, de los cuales 12 millones la padecen debido a errores de refracción.

Aproximadamente, 1,4 millones de menores de 15 años sufren ceguera irreversible y necesitan acceso a servicios de rehabilitación visual para optimizar su funcionamiento y reducir la discapacidad (World Health Organization, Global data on Visual Impairment 2010, 2012).

En términos generales, la prevalencia de la discapacidad visual ha disminuido desde comienzos de los años noventa. Esa disminución se asocia al desarrollo socio-económico en general, a una actuación concertada de salud pública, a un aumento de los servicios de atención oftalmológica disponibles y al conocimiento por parte de la población general de las soluciones a los problemas relacionados con la discapacidad visual (por ejemplo, cirugía o dispositivos correctores).

Sin embargo, se calcula que el número de personas con discapacidad visual podría triplicarse debido al crecimiento de la población y a su envejecimiento. Por ejemplo, en el año 2050, podría haber 115 millones de personas ciegas, en comparación con los 38,5 millones previstos para el año 2020 (Bourne y cols 2017).

Aproximadamente, 145 millones de personas (54,6% de la población de USA) dependen de lentes correctoras para lograr una calidad de visión que sea satisfactoria para sus necesidades diarias (Nakagawara 2006). Existen varias formas de corregir los defectos refractivos, como se comentan a continuación

Las lentes correctoras montadas en gafas son la forma más antigua, lográndose con ello desviar el trayecto de los rayos de luz, de tal forma que pueden compensar el defecto y enfocar adecuadamente la imagen sobre la retina. Es la forma más universal de corregir defectos refractivos. El uso de gafas se vuelve más incómodo para el paciente cuando se deben usar para distintas distancias (bifocales o multifocales) o cuando se desean realizar actividades que suponen un riesgo de

caída o rotura de las gafas limitando, por ejemplo, la actividad deportiva. También limitan el campo visual, sobre todo en las refracciones más altas. Las lentes de contacto, en cambio, corrigen todo el campo visual. La corrección es también más precisa, porque la lentilla está en contacto directo con la superficie ocular. Requieren un adecuado y minucioso mantenimiento y atención, tanto de las lentes de contacto como del propio ojo, que se torna más sensible a irritaciones e infecciones.

La cirugía refractiva con láser cuenta con técnicas avanzadas para la corrección de los defectos refractivos como la miopía, la hipermetropía y el astigmatismo, mediante un preciso moldeado de la córnea del paciente con el láser excímer. Cuando el láser impacta sobre la córnea, elimina capas de forma selectiva, permitiendo realizar un esculpido de la córnea con el que se intenta corregir la miopía, la hipermetropía, el astigmatismo o bien defectos combinados, incluso hasta grados elevados de dioptrías prismáticas (DP).

Las opciones de cirugía refractiva que existen hoy en día varían entre moldear la córnea con rayos láser hasta la implantación de lentes intraoculares fáquicas que están diseñadas para defectos refractivos elevados que no pueden corregirse de forma segura con una cirugía refractiva que actúe sólo sobre la córnea. Durante el procedimiento de implante de la lente intraocular, ésta se coloca en frente o detrás del iris y por delante del cristalino, pretendiendo así proporcionar la corrección necesaria para reorientar los rayos de luz directamente sobre la retina; en la implantación de estas lentes intraoculares fáquicas, cristalino no se elimina, por lo que los pacientes pueden conservar su capacidad pre-existente de enfoque. También puede realizarse cirugía refractiva extrayendo el cristalino transparente o moderadamente opaco, con lente intraocular, dejado así al ojo pseudofáquico.

La historia de la cirugía refractiva ocular es relativamente reciente y, además, ha avanzado tecnológicamente de manera considerable en los últimos años. Hoy en día, la cirugía refractiva con láser está ganando popularidad rápidamente entre la población miope, con más de un millón de procedimientos realizados cada año en USA, por ejemplo. La cirugía con láser es sólo la última en una larga línea de ayudas de corrección de la visión que se remonta muchos siglos atrás (Fong 2007; Solomon y cols 2009; Li y cols 2016; Kuryan y cols 2017).

Es importante entender que, en esta tesis doctoral, no se pretende debatir o emitir juicios de valor sobre las cuestiones éticas relacionadas con la cirugía refractiva.

Y así, este trabajo de investigación versa sobre la sequedad ocular reportada como una de las complicaciones más frecuentes de la cirugía refractiva y su posible manejo médico mediante suero autólogo, por lo que, a continuación, se detallarán los aspectos necesarios para justificar la realización de esta investigación.

1. Cirugía refractiva corneal (CRC)

La cirugía refractiva corneal (CRC) es el término que define los procedimientos quirúrgicos que, actuando sobre la córnea, cambian el poder refractivo del sistema óptico del ojo para corregir una ametropía o defectos refractivos como la miopía, el astigmatismo y la hipermetropía, pretendiendo reducir la dependencia de gafas y lentes de contacto (Sandoval y cols 2016). La CRC alterará la curvatura de la córnea, pretendiendo que los rayos de luz se enfoquen en la retina y mejorando así, teóricamente, la visión sin corrección.

En la miopía, se aplanan la curvatura central; en la hipermetropía, se acentúa esta curvatura; y en el astigmatismo, la córnea se intenta hacer aproximadamente esférica (Huang y cols 2008; Li y cols 2016; Kuryan y cols 2017).

El láser excímer fue aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) de USA en 1995 (Sakimoto y cols 2006). Hoy en día, se considera un método eficaz de CRC y aceptado para la corrección de defectos refractivos bajos y medianos, dada la capacidad de esta tecnología de ablacionar tejido con un alto grado de precisión y mínimo daño a las estructuras adyacentes (Trokel y cols 1983). Como ya se ha comentado, aunque existe controversia actualmente sobre algunas técnicas de CRC, en esta tesis no se aborda esta problemática.

Existen dos técnicas quirúrgicas mediante las que realizar CRC, con diversos subtipos en cada una de ellas, tal y como se detalla en la figura 1.

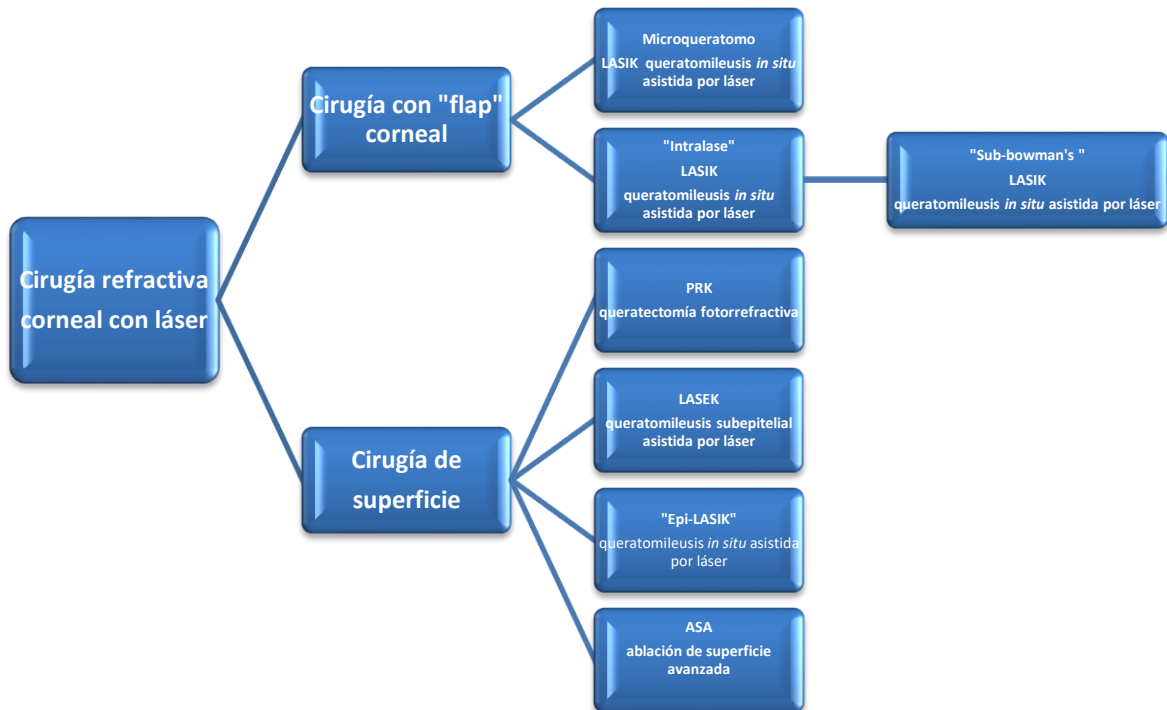


FIGURA 1. Tipos de cirugía refractiva corneal. Todas las cirugías se pueden realizar de manera personalizada (guiada por frente de onda) o no personalizada (no guiada por frente de onda). Cirugía con “flap”: LASIK y cirugía de superficie. PRK: desepitelización corneal de forma mecánica, LASEK: repone el epitelio corneal.

Modificación personal de la figura tomada de la página web: expandingknowledge.com: Cirugía láser/selección del procedimiento.

1.1. Técnicas con colgajo o “flap” corneal

Estas técnicas de CRC tienen en común el hecho de que antes de aplicar el láser en la córnea, se crea un colgajo o “flap” corneal, siendo la más conocida la **queratomileusis in situ asistida por láser (LASIK)**. Esta técnica no fue aprobada formalmente por la FDA hasta 1999 pero, hoy en día, una amplia gama de avances hacen que este procedimiento sea más sencillo y relativamente seguro. Es una técnica que revolucionó la CRC y es una de las cirugías más frecuentemente realizadas en el mundo, con más de 16 millones de procedimientos realizados hasta la fecha (medicapage.com: **Historia de LASIK**).

En EE.UU, el número de cirugía ha disminuido en los últimos años, pero se espera que aumente nuevamente en el futuro cercano. Las estimaciones actuales sugieren que hubo 596 mil cirugías en 2015, la mitad del número que ocurrió en 2007. Las estimaciones futuras indican que puede haber hasta 718 mil cirugía anuales para 2020. (**statista.com: número de cirugías LASIK en los Estados Unidos**)

El LASIK consiste en la modificación de la forma de la córnea mediante la aplicación del láser excímer en el estroma corneal tras haber levantado previamente una fina capa de tejido corneal, colgajo o “flap” que, posteriormente, tras la aplicación de láser, es recolocada y se adhiere sin necesidad de suturas (Huang y cols 2008). La creación de “flaps” corneales con un epitelio intacto pretende disminuir las complicaciones en el postoperatorio relacionadas con la respuesta de cicatrización, tales como la inflamación y el “haze” (cicatrización superficial del estroma corneal visible en lámpara de hendidura como una opacidad). (Huang y cols 2008).

1.2. Técnicas de superficie

Estas técnicas aplican el láser excímer directamente sobre la superficie de la córnea, no existiendo así colgajo o “flap”. Incluyen la queratectomía fotorrefractiva (PRK), la queratomileusis subepitelial asistida por láser (LASEK), la queratomileusis epitelial *in situ* asistida por láser (Epi-LASIK) y la técnica de ablación de superficie avanzada (ASA) (Randleman y cols 2007; O'Keefe y cols 2010; Taneri y cols 2011)

La **PRK** consiste en desepitelizar de forma mecánica una zona central de la córnea y aplicar el láser excímer directamente en el estroma corneal anterior, modificando así la curvatura corneal central. En este procedimiento, se produce la ablación de la capa de Bowman y el estroma corneal superficial, por lo que ambos desaparecen. En los pacientes con miopía, el objetivo es aplanar una córnea demasiado curva, mientras que en la hipermetropía se pretende lograr una córnea más curva. Asimismo, el excímer láser puede corregir astigmatismo aplanando una córnea irregular e intentando proporcionar una forma más regular. Aunque esta técnica pretendía evitar los problemas derivados de tener que realizar y reponer un colgajo corneal, sin embargo, fue perdiendo predicamento por el dolor postoperatorio que origina, por la aparición más frecuente de “haze” corneal y, finalmente, por una recuperación visual más lenta (Seiler y cols 1994; Li y cols 2016).

En la técnica denominada **LASEK**, descrita por Camellin en 1999 sólo se anestesia la córnea con un colirio de proparacaína al 5% (al igual que en las otras técnicas) y, a continuación, por medio de un trépano de 8,0 mm, se crea una incisión corneal circular de 270° para dejar una bisagra en el meridiano de las 12 horas. Se coloca un recipiente de 8,5 mm sobre la incisión corneal previa y, a continuación, se llena con una solución de alcohol etílico al 20%, permaneciendo esta solución en contacto con la córnea durante 35-45 segundos. De esta manera, se consigue debilitar las adherencias del epitelio corneal a su membrana basal y a la capa de Bowman, creándose un colgajo o “flap” epitelial anclado a las 12 horas (aunque esta localización podrá variar). A continuación, se aplica el láser excímer para tratar el defecto refractivo. Al finalizar su aplicación, se recoloca el colgajo epitelial sobre el

estroma corneal y se termina la intervención colocando una lente de contacto terapéutica (Gabler y cols 2002).

Es un método ampliamente aceptado para corregir defectos refractivos, dada la capacidad de esta tecnología de ablacionar tejido con un alto grado de precisión y, teóricamente, con un mínimo daño a las estructuras adyacentes. Esta técnica, además, intenta preservar mejor la estructura corneal. Asimismo, se disminuyen los inconvenientes de la PRK, existiendo menos dolor, mejor transparencia corneal y una recuperación visual más rápida (Trokel y cols 1983; O'Keefe y cols 2010; Li y cols 2016; Kuryan y cols 2017).

El procedimiento denominado **Epi-LASIK** consiste en retirar la capa de epitelio que cubre la córnea mediante un instrumento llamado epiqueratomo, sin que exista colgajo o “flap”. A continuación, se utiliza el láser excímer para la ablación del tejido corneal que es necesario eliminar para corregir el defecto de refracción y, seguidamente, el epitelio de la córnea se vuelve a colocar en su posición original. Las ventajas de esta técnica son la reducción en el riesgo de complicaciones asociadas con la cicatrización del colgajo corneal, reduciéndose el tiempo de recuperación y ocasionando menores molestias postoperatorias (O'Keefe y cols 2010).

Las técnicas denominadas **ablación de superficie avanzada (ASA)** buscan disponer de una superficie corneal limpia para recibir un tratamiento personalizado y surge como evolución de las técnicas anteriores. En esta técnica, se aplica etanol al 20% durante 30 segundos en los 8,0 mm de la córnea central, tras los cuales simplemente se elimina el epitelio. A continuación, se aplica el láser excímer (figura 2), colocándose finalmente una lente de contacto terapéutica (figura 2). Al quedar

un rodete periférico de epitelio intacto y viable, se produciría una re-epitelización y recuperación visual más rápidas (Randleman y cols 2007). Con esta técnica, se pueden tratar defectos refractivos mayores con córneas relativamente más finas. Además, la colaboración del paciente, aun siendo importante, no es tan crítica. La recuperación visual suele durar 3-4 días, precisando un seguimiento más estricto durante esos primeros días; en determinados casos hay una mejor calidad visual a medio y largo plazo (Randleman y cols 2007; Trattler y cols 2008).

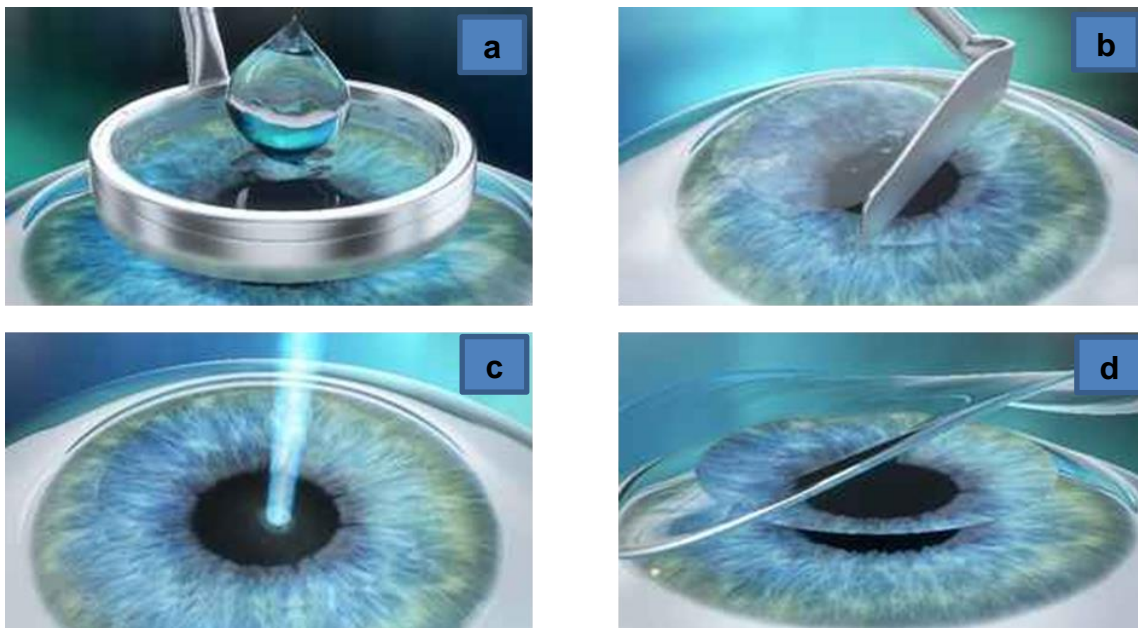


FIGURA 2. Ablación de superficie avanzada (ASA). Primero se coloca alcohol diluido (a), luego el epitelio es retirado con espátula (b) e inmediatamente se aplica el láser directamente sobre el estroma corneal (c); finalmente, se aplica una lente de contacto terapéutica (d) que se retira en unos días. Tomada de doughertylaservision.com: ¿Qué es la queratectomía fotorrefractiva o PRK?

Las complicaciones de las técnicas ASA incluyen la presencia de dolor, sequedad ocular y la formación de “haze” (neblina, enturbiamiento) corneal. Frecuentemente, se presenta una sensación pasajera o permanente de cuerpo

extraño, deslumbramiento, visión de halos y sequedad, sobre los que se profundizará más adelante. Otras posibles complicaciones comprenden la hipocorrección y la hipercorrección, la queratitis microbiana, el denominado “glare” (deslumbramiento), el astigmatismo irregular y las ectasias corneales. Aunque la tasa de complicaciones es pequeña, el paciente debe ser exhaustivamente informado de todos los posibles riesgos y beneficios de la cirugía, para no crear falsas expectativas (Randleman y cols 2007; Trattler y cols 2008; Sobas y cols 2015).

2. Enfermedad de ojo seco (EOS)

La EOS es un trastorno inflamatorio muy prevalente y de origen multifactorial, que conduce a una inestabilidad de la película lagrimal y a una enfermedad crónica de la superficie ocular. Provoca problemas de calidad de visión y un gran número de posibles complicaciones, que producen con el tiempo una reducción de la calidad de vida (Stapleton y cols 2017).

2.1. Definición y epidemiología

La definición de EOS, según el “Dry Eye Workshop” (DEWS) II, recientemente publicada, es la siguiente: “el ojo seco es una enfermedad multifactorial de la superficie ocular caracterizada por una pérdida de homeostasis de la película lagrimal, acompañada de síntomas oculares, en los que la inestabilidad de la película lagrimal, la hiperosmolaridad, la inflamación, el daño de la superficie ocular y las anomalías neurosensoriales desempeñan papeles etiológicos”. (Nelson y cols 2017).

Merece la pena recordar, aunque solo sea superficialmente, que la EOS se produce por una pérdida del mecanismo homeostático de la llamada “unidad funcional lagrimal (figura 3). Dicha unidad lagrimal funcional es un sistema integrado que comprende todas las glándulas lagrimales productoras de todos los componentes de la lágrima, la superficie ocular (córnea, conjuntiva, limbo y la película lagrimal suprayacente), los párpados que distribuyen la película lagrimal, el sistema de drenaje que elimina la lágrima, la regulación hormonal y la innervación senso-motora que conecta estos tejidos con los centros nerviosos (Stern y cols 1998; Stern y cols 2004).

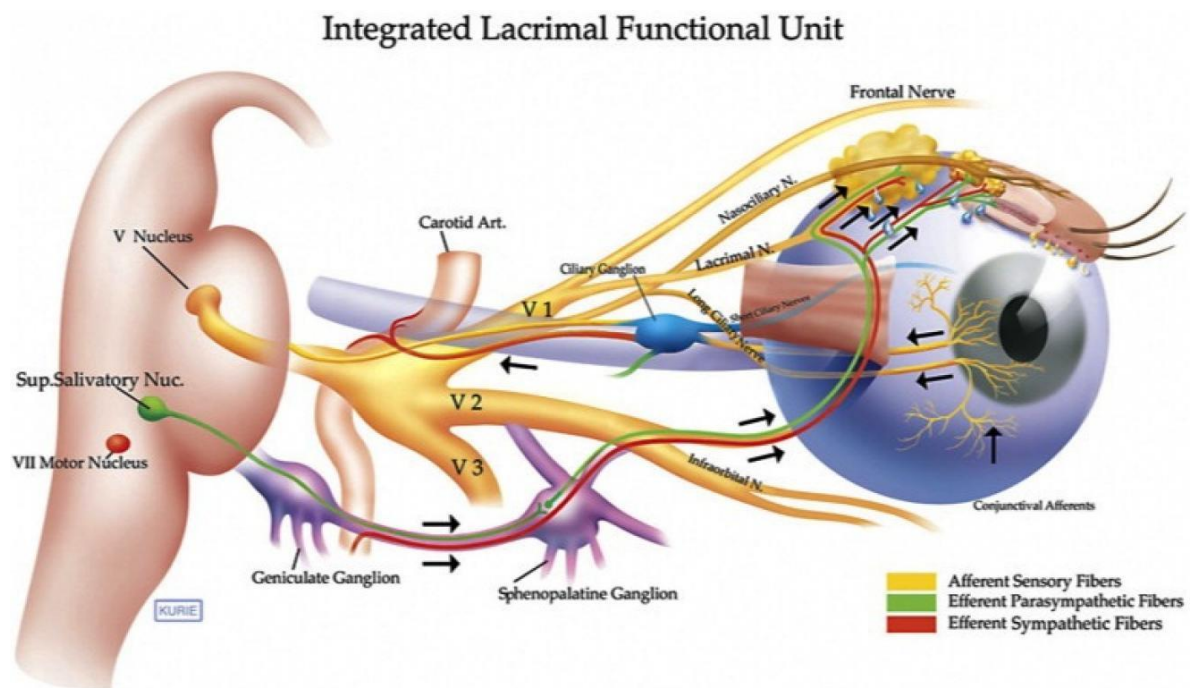


FIGURA 3. Unidad funcional lagrimal. Tomada de Pflugfelder SC; Beuerman RW; Stern ME, eds. Dry Eye and Ocular Surface Disorders. New York, NY: Marcel Dekker, Inc.; 2004.

Dicha unidad controla la mayoría de los componentes de la película lagrimal de una forma regulada y responde a factores ambientales, endocrinos y nerviosos,

teniendo como misión principal el mantenimiento de la transparencia y salud corneal para permitir una visión nítida (Pflugfelder y cols 2004).

Por lo tanto, basándose en los conocimientos actuales y sobre este nuevo concepto de unidad lagrimal funcional, se puede considerar que la EOS es una enfermedad inflamatoria inmune, crónica, de origen multifactorial que podría originarse en cualquiera de los componentes de dicha unidad funcional y que, en algún momento, provocaría los daños de la superficie ocular y la película lagrimal. Este daño podría detectarse con las pruebas correspondientes pero además, se estarían produciendo daños celulares y moleculares más difíciles de evidenciar mediante los diversos tests clínicos.

El EOS es uno de los trastornos oculares más frecuentes por los que la población adulta busca atención oftalmológica y su prevalencia e incidencia varían dependiendo de los criterios utilizados para su diagnóstico y el tipo de EOS considerado. Así, la prevalencia reportada oscila entre el 3,9% entre una población masculina de los EE.UU. (Schaumberg y cols 2009) y el 33,7% en población asiática mayor, tanto hombres como mujeres (Lin y cols 2003). En general, afecta más a menudo a las mujeres y a la población adulta. La prevalencia parece ser mayor en las poblaciones asiáticas que en las caucásicas, aunque los estudios no se han realizado en las principales regiones geográficas.

Este incremento se considera debido al aumento global de la población mayor y también por el aumento de la incidencia de algunos de los factores de riesgo, que son numerosos. Los factores desencadenantes más relevantes son: menopausia, niveles bajos de andrógenos, enfermedades autoinmunes, trasplante de médula ósea alogénica (enfermedad de injerto contra huésped), enfermedades crónicas de

la superficie ocular, síndromes de sensibilización central (depresión, síndrome de dolor generalizado crónico, sensibilidad química múltiple, fibromialgia, síndrome de fatiga crónica), uso crónico de ciertos fármacos sistémicos o tópicos con conservantes, exposición a irritantes químicos, abuso prolongado de lentes de contacto, alteración de la inervación corneal (infecciones virales, traumatismos, químicos, cirugías oculares) y exposición prolongada a ambientes adversos (Stapleton y cols 2017). En el último de los factores mencionados, la exposición a ambientes adversos, nuestro grupo de trabajo tiene una amplia experiencia (Calonge y cols 2017) y, de hecho, ha demostrado como la exposición a un ambiente adverso controlado, en solo 2 horas, es capaz de incrementar los signos clínicos de EOS y demostrar una reacción inflamatoria a nivel molecular en el fluido lagrimal (Tesón y cols 2013; López-Miguel y cols 2014; Lopez-Miguel y cols 2016; Pinto-Fraga y cols 2016; Nättinen y cols 2018; Pinto-Fraga y cols 2018).

Existen abundantes revisiones publicadas que ahondan en múltiples aspectos del EOS como su incidencia y prevalencia, el predominio de la enfermedad en varias poblaciones, sus factores de riesgo, la morbilidad de la enfermedad o el impacto del EOS sobre la calidad de vida y la función visual (Brewitt and Sistani 2001; Stapleton y cols, 2017) y sobre los que no se profundizará en esta memoria de tesis.

2.2. Clasificación

La clasificación del EOS puede volverse excesivamente compleja (Craig y cols 2017) o entender que sigue siendo simple siempre que se comprenda que, como toda enfermedad, hay solapamientos entre las diversas categorías y que, además,

la evolución puede hacer que el EOS se inicie como una forma concreta y evolucionar hacia otra, o sumarse otra categoría (figura 4).



FIGURA 4. Principales etiologías de la enfermedad de ojo seco (EOS). La EOS puede deberse a una de las dos causas señaladas, hiposecretor o evaporativo que, muchas veces, se superponen. Mientras que la EOS hiposecretora puede o no estar en el contexto de un síndrome de Sjögren, la principal causa de EOS evaporativa es la blefaritis posterior (disfunción de las glándulas de Meibomio y meibomitis) Tomada de Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop (2007). Ocul Surf.2007;5:75-92.

Esta clasificación es antigua (2007) y el nuevo DEWS II no ha aportado nada nuevo, aunque sí es cierto que ha añadido, ya en la definición, un componente neurológico al que, hasta hace unos años, no se le había prestado la suficiente atención y que será crucial en la EOS objeto de esta memoria y que se comentará más adelante, la EOS post-CRC.

2.3. Métodos diagnósticos

Los tests diagnósticos para captar los signos de esta enfermedad son muy numerosos. Varios de ellos se usan rutinariamente en la clínica diaria, otros se reservan para los ensayos clínicos y otros, finalmente, aún están en fase más experimental.

A continuación, se comentarán someramente los diferentes tests diagnósticos que se han elegido como más idóneos en este trabajo de investigación.

Test de Schirmer. Esta prueba fue descrita por Otto Schirmer en 1903, mide la producción de la capa acuosa de la lágrima, valor directamente relacionado con el flujo lagrimal.

Este test ha sufrido numerosas modificaciones y, junto con la evaluación de la sintomatología, estabilidad lagrimal y tinción de la superficie ocular, está considerado como una de las pruebas oftalmológicas tradicionales para el diagnóstico de EOS (Wolffsohn y cols 2017).

El test de Schirmer I consiste en insertar en el tercio externo de la conjuntiva bulbar inferior el extremo de una tira de papel secante de 5 mm de ancho y 30 mm de longitud, dejando que se impregne de lágrima durante 5 minutos. Pasando ese tiempo, se retira y se mide en mm la longitud de la tira humedecida con la lágrima. Esta modalidad de test evalúa la secreción total (basal y refleja), puesto que la propia inserción de la tira provoca lagrimeo reflejo. El punto de corte del test Schirmer I está entre 5 y 15 mm, dependiendo de los autores (Cho 1993; Khanal y

cols 2008). Utilizando 5 mm como criterio de corte, se han descrito para este test una sensibilidad del 47,2% y una especificidad del 100% (Yokoi y cols 2004).

Esta prueba también puede realizarse con anestesia tópica, pasando a denominarse Schirmer I modificado (Hanson y cols, 1975); en este caso, el punto de corte es de 5 mm y proporciona una sensibilidad del 60,9% en grupos con EOS asociado a síndrome de Sjögren, y del 37,5% en grupos con EOS de otra etiología. Su especificidad es del 83,6% (Xu y cols 1995).

El test Schirmer II se realiza con anestésico tópico y con estimulación de la mucosa nasal, provocando así el reflejo nasolagrimal (Doughman 1973); la lectura se realiza a los 5 minutos y el punto de corte en este caso es de 15 mm (Tsubota y cols 1999).

Todas las modalidades del test de Schirmer deben realizarse con los ojos cerrados para evitar la interferencia de factores ambientales (Serin y cols 2007).

Se ha comunicado una amplia gama de valores en el rango de sensibilidad (77-85%) y especificidad (70-83%) para la prueba de Schirmer, que se cree debida al contacto del papel con las pestañas, lo que provoca el arco reflejo fisiológico que no puede ser suprimido por los anestésicos tópicos (Wolffsohn y cols 2017). Además, el cambio en la luz, la humedad, la temperatura y la ansiedad del paciente pueden interferir con el arco reflejo. Estos factores ayudan a explicar de manera similar las grandes discrepancias en la repetitividad de la prueba de Schirmer (Masmali y cols 2014).

Tiempo de ruptura de la película lagrimal o TBUT (“Tear break-up time”). El TBUT sigue siendo una de las pruebas diagnósticas más comúnmente utilizadas y

trata de reflejar la estabilidad de la película lagrimal. Una película lagrimal inestable es uno de los hallazgos más comunes en pacientes con irritación ocular y está causada, bien por la disminución en la producción de la porción acuosa de la lágrima, o bien por un aumento en la evaporación, como en el caso de la disfunción de las glándulas de Meibomio. Esta prueba mide el intervalo de tiempo entre un parpadeo completo y la primera aparición de una mancha seca en la superficie corneal después de la instilación de fluoresceína (Liu y cols 2006; Lam y cols 2009). El valor de referencia para el diagnóstico de EOS puede considerarse de 10 segundos o menos de 5 segundos cuando se utilizan volúmenes más pequeños y más controlados de fluoresceína. La sensibilidad del T-BUT reportada es de un 72,2% y la especificidad de un 61,6% en individuos con síndrome de Sjögren (Wolffsohn y cols 2017).

Tiempo de Ruptura Lagrimal No Invasivo o NIBUT “Non Invasive Break-Up Time”. Este test, descrito por primera vez en 1985 (Mengher y cols 1985), pretende evitar los inconvenientes de la fluoresceína y consiste en proyectar una imagen en la superficie de la córnea y medir el tiempo que tarda ésta en deformarse desde el último parpadeo (ruptura de la película lagrimal), utilizando diferentes instrumentos o miras proyectadas. Los valores de corte para el NIBUT oscilan entre los 10 y 15 segundos (Ousler y cols 2008). Este test alcanza una sensibilidad del 82% y una especificidad del 86% para el diagnóstico de la EOS cuando se utilizan 10 segundos como criterio de corte (Mengher y cols 1986). Por otro lado, según Wang y cols, utilizando un punto de corte de 5 segundos, se consiguen mejores valores de sensibilidad y especificidad (95,9 y 90,8%, respectivamente) (Wang y

cols 2005). Aunque se puede considerar el NIBUT como un método más fiable, el BUT se ha propuesto como único test clínico para decidir si un problema visual está relacionado o no con la película lagrimal (Elliott 1998).

Tinciones vitales de la superficie ocular. El uso de tinciones vitales diagnósticas es uno de los medios objetivos más eficientes, no invasivos y directamente visibles para la identificación y seguimiento de los cambios de la superficie ocular y de alteraciones a nivel celular. Aunque son particularmente útiles en el diagnóstico del EOS y para ensayos clínicos, la utilidad de estos colorantes también se extiende a numerosas alteraciones de la superficie ocular que afectan a las células corneales y conjuntivales.

Las tres tinciones de mayor utilidad en la práctica oftalmológica son la fluoresceína, el rosa de Bengala y el verde de lisamina. A continuación, se analizarán cada uno de estos tres colorantes, sus ventajas e inconvenientes.

La fluoresceína sódica se ha utilizado para detectar defectos epiteliales corneales desde finales del siglo XIX y, en la actualidad, es uno de los colorantes vitales más utilizados para el estudio de la superficie ocular y, en especial, del EOS. Carece de toxicidad celular intrínseca y acción fotodinámica. La fluoresceína se puede instilar por medio de una tira de papel impregnada (humedecida con una gota de solución salina) o en concentraciones del 1-2% en unidosis sin conservantes (Bandamwar y cols 2014); este último método permite administrar una cantidad más precisa de colorante sobre la superficie ocular y se usa sobre todo en el contexto de ensayos clínicos.

La fluoresceína es muy soluble en agua a pH fisiológico y, por tanto, penetra mal en la capa lipídica del epitelio y no tiñe la córnea normal. Las superficies corneales y conjuntivales se tiñen fácilmente cada vez que hay una interrupción de las uniones intercelulares. El aspecto clínico de la tinción de fluoresceína en el EOS incluye una amplia gama de patrones de distribución epitelial. En principio, estos patrones se observan generalmente en el tercio inferior de la córnea y, luego, pueden extenderse a toda la superficie ocular. La detección de alteraciones epiteliales de la conjuntiva también es posible con esta tinción; sin embargo, suele ser más difícil debido al contraste escleral. La intensidad de la tinción puede apreciarse mejor si se utiliza un filtro azul-amarillo. Esta tinción se ha establecido como la más útil para valorar la integridad corneal (revisado en Wolffsohn y cols 2017).

El rosa de Bengala se ha utilizado profusamente para detectar daños en el epitelio de la superficie ocular. Esta tinción fue pensada para teñir las células epiteliales muertas o descamadas, según propuso Sjögren en la década de 1930 y cuyo uso reiteró posteriormente Passmore. Los estudios *in vitro* de células epiteliales de la córnea humana a nivel límbico han demostrado el importante papel de la mucina en el bloqueo de la tinción de rosa de Bengala. Los métodos de instilación de esta tinción van desde el uso de gotas hasta tiras impregnadas; este último es el más utilizado e, incluso, se sugiere realizar un breve enjuague con solución salina antes de la observación de la superficie ocular en la lámpara de hendidura porque este colorante puede ser ligeramente citotóxico. Este colorante se utiliza para valorar la conjuntiva más que la córnea. Pero debido a la gran

irritación y dolor que produce, es mal tolerado por los pacientes y su uso está, por ello, limitado (revisado en Wolffsohn y cols 2017).

El verde de lisamina es un tinte ácido orgánico sintético que tiñe la superficie ocular, no causa dolor y está disponible en tiras impregnadas. Muestra áreas con daño de las células epiteliales que han perdido la capa mucínica normal de la superficie.

La tinción depende de la dosis; en este sentido, la dosis mínima recomendada es 10-20 μ l puesto que en un volumen inadecuado puede pasarse por alto o subestimar los hallazgos clínicos. Teóricamente, la evaluación se debe realizar entre 1 y 4 minutos tras la tinción. Para una mejor exploración es esencial no utilizar un haz de iluminación intensa, que puede reducir el contraste. En el ámbito clínico, la tinción con verde de lisamina es casi idéntica a la de rosa de Bengala y se consideran intercambiables (Hamrah y cols 2011). Esta tinción se utiliza para valorar la conjuntiva (revisado en Wolffsohn y cols 2017).

Las tinciones con fluoresceína, rosa de bengala o verde de lisamina realizadas con las concentraciones de colorantes apropiadas y tiempos de exploración adecuados evalúan la alteración de la superficie de la conjuntiva y de la córnea al permitir al colorante teñir en las zonas donde la capa mucosa más pegada al epitelio (glicocalix) se encuentra dañada. Estas tinciones son un indicador de la gravedad del EOS y pueden servir para monitorizar la repuesta al tratamiento (Stern y cols 1998; Bron 2003; Wolffsohn y cols 2017).

Osmolaridad lagrimal. La osmolaridad se define como la cantidad de solutos disueltos por volumen de muestra. La medida de la osmolaridad de la película lagrimal es un indicador indirecto de la dinámica de la lágrima. Si se produce una elevada evaporación de la lágrima o una baja secreción de ésta, se encontrarán valores de osmolaridad elevados, puesto que al haber menos disolvente la concentración de solutos aumentará. Por otro lado, la osmolaridad disminuirá si hay una elevada secreción de lágrima o una disminución en el drenaje de la misma. De esta manera, se puede ver que la osmolaridad de la película lagrimal varía en función de la secreción, drenaje, absorción y evaporación lagrimal. (Tomlinson 2005). Aunque existen diferentes métodos para detectarla, el realizado en la clínica hoy en día se lleva a cabo con el nano-osmómetro TearLab (Ocusense, San Diego, CA, USA) que utiliza sólo 50 nl de lágrima de cada ojo. (Tomlinson y cols 2006; Jacobi y cols 2011; Lemp y cols 2011).

El equilibrio entre la lágrima y la superficie ocular hace que se mantenga una osmolaridad constante e isotónica; sin embargo, en los casos de EOS donde existe una deficiencia o aumento de la evaporación, existe un aumento en la concentración de solutos que provoca una hiperosmolaridad. Dicho estado condiciona una deshidratación celular que, si no se restablece en cierto periodo de tiempo, provoca muerte de las células superficiales. Su cronicidad puede agravar el proceso inflamatorio existente de la superficie ocular. La osmolaridad generalmente aumenta con la severidad de la enfermedad y, así, se ha propuesto como valor normal $302,2 \pm 8,3$ mOsm/L, como marcador de EOS leve a moderado $315,0 \pm 11,4$ mOsm/L y como EOS grave $336,4 \pm 22,3$ mOsm/L. Los sujetos más gravemente afectados exhiben tanto un aumento del promedio como un aumento de la

variabilidad entre los ojos y entre las visitas. Se han propuesto varios valores de corte para el EOS entre 305 mOsm/L y 316 mOsm/L, con sensibilidades reportadas entre un 64% y un 91%, especificidades del 78% al 96%; estos datos apoyan el límite de 316 mOsm/L como umbral específico DEWS II (Wolffsohn y cols 2017).

Aunque el valor de corte para la osmolaridad lagrimal anormal puede variar según los autores, los valores superiores a 308 mOsm/L se consideraron más altos de lo normal siguiendo las indicaciones del fabricante (Sullivan y cols 2010; Wolffsohn y cols 2017).

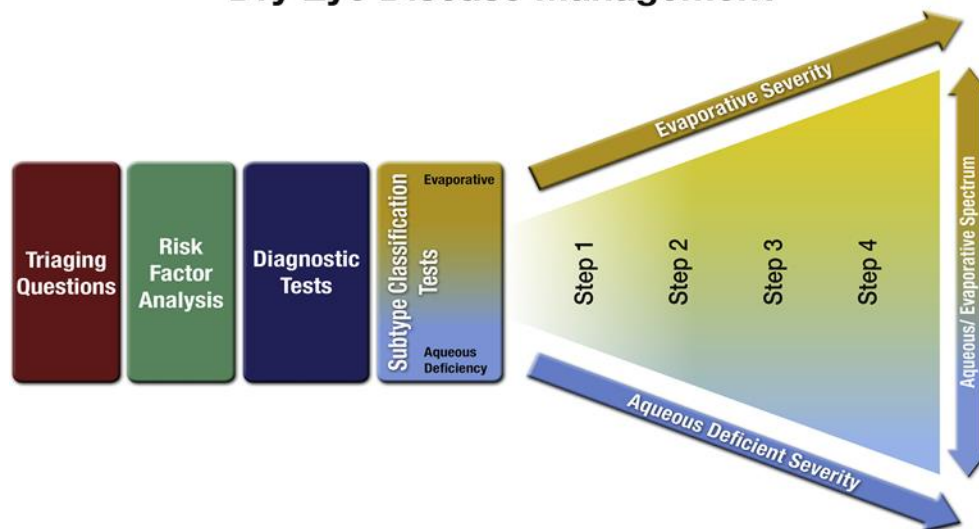
De hecho, se ha recomendado que la variabilidad de la osmolaridad sea una característica que se deben buscar específicamente al tratar de identificar pacientes con EOS (Lemp y cols 2011). Sullivan defiende que las diferencias entre los ojos más allá del umbral de 8 mOsm/L deben considerarse una indicación de la pérdida de la homeostasis de la película lagrimal que ocurre con la DED (Sullivan 2014).

Estesiometría corneal. La estesiometría es la medida de la sensibilidad, en este caso, corneal. Con ello, se evalúa la rama oftálmica del nervio trigémino o V par craneal (Martin y cols 1988). Como este método será especialmente utilizado en este trabajo de investigación, se hablará más extensamente sobre ello en el capítulo 3.

2.4. Manejo terapéutico general

En la figura 5, se detalla el esquema terapéutico general para la EOS como ha sido publicado en el más reciente DEWS II (Jones y cols 2017).

Dry Eye Disease Management



Gravedad	Signos y Síntomas	Orientación Terapéutica
Nivel 1	<ul style="list-style-type: none"> - Síntomas leves o moderados. No signos corneales. - Síntomas leves o moderados en conjuntiva/ tinción conjuntival - Inestabilidad de la película lagrimal 	<ul style="list-style-type: none"> - Medidas preventivas/ Cambio en la dieta (Omega 3) - Lágrimas artificiales en gotas, geles y pomadas. - Control ambiental - Productos hipoalérgicos - Beber líquidos - Higiene palpebral
Nivel 2	<ul style="list-style-type: none"> - Síntomas moderados a graves - Alteración de la visión - Tinción corneal moderada/Queratitis punteada superficial leve - Tinción conjuntival 	<ul style="list-style-type: none"> - Anti-inflamatorios - Tetraciclinas y derivados (oral) - Secretagogos - Oclusión de puntos lagrimales - Gafas especiales
Nivel 3	<ul style="list-style-type: none"> - Síntomas graves - Queratitis punteada superficial marcada - Tinción corneal central - Queratitis filamentosa 	<ul style="list-style-type: none"> - Suero autólogo/ sueros enriquecidos - Lentes de contacto - Oclusión permanente de puntos lagrimales
Nivel 4	<ul style="list-style-type: none"> - Síntomas graves - Tinción corneal severa - Erosiones corneales - Cicatrización conjuntival 	<ul style="list-style-type: none"> - Tratamiento anti-inflamatorio sistémico - Cirugía (cirugía palpebral, tarsorrafia, membrana mucosa, glándulas salivares, trasplante de membrana amniótica).

FIGURA 5. Manejo terapéutico actual de la enfermedad de ojo seco. Tomada de Lyndon Jones, TFOS DEWS II Management and Therapy Report, 2017 y Report of the International Dry Eye Workshop (DEWS) modified from TF Delphi Panel, 2007.

Las terapias más tradicionales para la EOS se encuentran destinadas únicamente a provocar un aumento de la humedad de la superficie ocular, es decir, a la mejora exclusivamente de los signos y síntomas, pero no es capaz de modificar el curso natural de la enfermedad, debido a que no tienen en cuenta los mecanismos subyacentes que inician y mantienen el proceso de la enfermedad.

Hasta ahora, ninguna medicación ha demostrado que cure la enfermedad, aunque las pocas terapias anti-inflamatorias existentes han demostrado poder para detener la progresión de la EOS. Actualmente, la elección del agente terapéutico para el tratamiento de la EOS suele basarse en la gravedad del mismo, siguiendo el esquema mostrado más arriba, en la figura 5 DEWS II (Jones y cols 2017).

En los casos leves de EOS, cuando el paciente presenta síntomas pero hay ausencia de tinciones vitales en córnea o conjuntiva, el único tratamiento que se ofrece al paciente suele ser lágrimas artificiales. Muchos autores consideran que las lágrimas artificiales pueden llevar conservantes si no se aplican más de cuatro veces al día; sin embargo, otros autores opinan que las lágrimas aplicadas en una superficie ocular enferma deben ser formuladas siempre sin conservantes.

En el caso de EOS moderada, con presencia de signos en córnea y/o conjuntiva, los pacientes incrementan la demanda de uso de las lágrimas artificiales (siendo ya incuestionable el uso sin conservante) hasta 1 gota cada 1-2 horas o, incluso, con mayor frecuencia; además, suele emplearse una pomada o gel lubricante más denso y sin conservantes durante el sueño nocturno. En esta etapa, aunque está bajo debate, también se considera la oclusión de los puntos lagrimales u otro método de conservación lagrimal. Ya en estas etapas, ha de empezarse el uso de medicación antiinflamatoria y, sin ninguna duda, en la EOS más grave.

En la EOS severa, que presentan una tinción extensa de la superficie ocular y complicaciones tales como defectos epiteliales persistentes, filamentos o infecciones secundarias que suponen un riesgo más grave, se consideran además de las estrategias anteriormente mencionadas, todos los tratamientos disponibles actualmente para aumentar la producción lagrimal natural.

Finalmente, y a pesar de haberse producido un cambio sustancial con el uso de medicación antiinflamatoria, sin embargo, estos fármacos son escasos y no están disponibles en todos los países por lo que, todavía a día de hoy, las opciones terapéuticas para la EOS son limitadas.

3. EOS tras CRC

La EOS ha sido reconocida, ya desde hace tiempo, como una de las complicaciones más frecuentes tras la CRC (Campos y cols 1992; Toda 2004; Salomon y cols 2005; Noda-Tsuruya y cols 2006; Pan y cols 2017).

Recientemente, sin embargo, ha cobrado incluso una mayor relevancia debido a varios hechos como es el reconocimiento, cada vez mayor, de la gran importancia de esta patología como causa de disminución de la calidad de vida debido a su naturaleza crónica y el escaso número de terapias que existen comercializadas para su manejo médico (Salomon y cols 2005; Pan y cols 2017).

La relación entre estas dos entidades, CRC y EOS, es doble. Por un lado, se sabe que los resultados de la CRC van a verse afectados por las enfermedades pre-existentes de la superficie ocular, siendo la EOS la más frecuente y, por otro lado,

la CRC puede desencadenar, en algunos casos, enfermedad de la superficie ocular y, de nuevo, la más frecuente será una EOS (Pan y cols 2017).

3.1. Tipos de EOS tras CRC y teorías etiopatogénicas

Se cree que la EOS post-CRC ocurre por la asociación de dos factores: la hipoestesia causada por la lesión de los nervios aferentes corneales con el corte del “flap” y la acción del láser excímer sobre los tejidos corneales, incluyendo los propios nervios. Pero, en realidad se desconoce el por qué, ante la misma lesión, unas personas lo desarrollan y otras no (Pan y cols 2017).

Aunque generalmente son transitorios, los signos y síntomas de la EOS después de la CRC ocurren en casi todos los pacientes. Esta es la llamada EOS aguda o sub-aguda y es considerado “pasajera” ya que suele durar sólo unos meses (entre 3 y 6) y luego ceden (Theophanous y cols 2015).

Sin embargo, algunos pacientes pueden desarrollar EOS crónica, más allá de los 6 meses, pudiendo llegar a ser permanente e incluso asociada a dolor crónico neuropático, conocido como neuralgia corneal o queratoneuralgia (Theophanous y cols 2015).

La córnea es el órgano más innervado del cuerpo humano, es decir, donde más terminaciones nerviosas existen y forman parte de la rama oftálmica del nervio trigémino o V par craneal). Cualquier procedimiento refractivo corta o altera esas terminaciones, que deben regenerar con el tiempo. Sin embargo, nunca regeneran al nivel pre-operatorio, haya o no síntomas. Si una o varias terminaciones regeneran de forma aberrante, se podrán producir descargas “eléctricas” en esa zona con la aparición del tan temido dolor neuropático y/o síntomas de sequedad ocular

(Rosenthal y cols 2013; Rosenthal y Borsook 2016; Galor y cols 2018). Por ello, algunos pacientes reportan dolor ocular grave persistente después de cirugía refractiva, CRC, tras el LASIK (Levitt y cols 2015) e incluso intraocular.

La enfermedad puede aparecer inmediatamente como dolor agudo después de la operación que no cede a los pocos días, como está descrito en el trabajo de Sobas (Sobas y cols 2017) o puede aparecer después de un tiempo libre de dolor (Rosenthal 2013; Rosenthal y Borsook 2016). El circuito del nervio trigémino con frecuencia está involucrado, lo que resulta, además, en fotofobia severa, cefalea y dolor facial (Rosenthal 2013; Aggarwal y cols 2015; Theophanous y cols 2015)

Esta neuralgia corneal o queratoneuralgia puede estar asociada o no con síntomas típicos de EOS como alteración de la cantidad y/o calidad de la película lagrimal y alteración de la integridad de la superficie ocular. El dolor se cree que está provocado por las aberraciones producidas en la regeneración nerviosa tras la cirugía refractiva y, como se ha comentado, en realidad se desconoce su etiología y fisiopatogenia exactas, habiendo quien considera que puede estar encuadrados en los llamados “síndromes de sensibilización central” (Aggarwal y cols 2015; Galor y cols 2018; Aggarwal y cols 2019).

La técnica del LASIK se ha extendido como el procedimiento estándar para la corrección de defectos refractivos en los últimos años; por ello, se ha ganado gran experiencia en su práctica y el número de complicaciones intra- y post-operatorias se ha ido reduciendo con el paso del tiempo. Sin embargo, los síntomas de ojo seco y la queratitis punctata superficial, es decir, los síntomas y signos más clásicos de EOS son en la actualidad las complicaciones post-operatorias más frecuentes. Los síntomas de sequedad ocular suelen aparecer en los primeros 6 meses tras un

LASIK, y los presenta hasta un 80% de los pacientes (Wilson y cols 2001). Algunos autores han sugerido que la probabilidad de desarrollar EOS tras una intervención de LASIK depende, por un lado, de la edad del paciente intervenido y de la existencia previa de ojo seco, y por otro lado, del número de dioptrías que corregir (Goren 2002).

Y, así, se ha descrito “síndrome post-LASIK”, caracterizado por sequedad ocular, queratitis micropunctata, lágrima escasa e inestable y una disminución de la agudeza visual probablemente causadas por el daño inducido en la inervación corneal. Una de las principales funciones de los nervios en la córnea es la regulación de la actividad secretora de las glándulas lacrimales y de Meibomio, por lo que su lesión causaría epitelopatía neurotrófica y afectaría también a la composición de la lágrima (Rajan y cols 2004; Dohlman y cols 2016).

Los estudios realizados muestran que, aunque hay diferencias entre los signos y síntomas que presentan los pacientes post-LASIK y post-PRK (tabla 1), no hay diferencia en la incidencia y severidad de EOS entre las dos técnicas (Rajan y cols 2004; Dohlman y cols 2016)

Tabla 1. Incidencia de los síntomas de ojo seco crónico después de la cirugía refractiva corneal (LASIK y PRK). Tomado de Levitt y cols 2015.

Study	Procedure	N	Design	Definition	Incidence
Denoyer 2014 [18]	LASIK	60	Prospective series	Use of eye drops at 6 months	43%
De Paiva 2006 [19]	LASIK	35	Prospective randomized (nasal vs. superior hinge)	Fluorescein staining score of 3 or more at 6 months	36.4% (overall)
Shoja 2007 [14]	LASIK	95	Retrospective series	Subjective symptoms at 6 months	20%
Donnenfeld 2003 [20]	LASIK	52	Prospective randomized (nasal vs. superior hinge)	Patients reporting eyes drier than before LASIK at 6 months	31% (overall)
Tuisku 2007 [13]	LASIK	20 cases	Retrospective case-control	Subjective symptoms at 2 - 5 years	55%
Hovanesian 2001 [16]	LASIK and PRK	781	Mailed questionnaire	Subjective symptoms at 6 months or more	44%

LASIK = laser in-situ keratomileusis, PRK = photorefractive keratectomy.

No existe unanimidad en cuanto a si la EOS producida por la PRK es más leve que la producida por LASIK. Tampoco existe unanimidad en cuanto a cuál de las dos técnicas permite recobrar más rápidamente la sensibilidad corneal.

Por ejemplo, Pérez-Santonja y cols observaron que la sensibilidad corneal a los 3 meses tras una cirugía LASIK para la corrección de baja miopía estaba más deprimida que tras PRK (Pérez-Santonja y cols 1999). En el caso de la PRK, Campos y cols vieron que tras una pérdida temporal de la sensibilidad, ésta se recuperaba en 3 meses (Campos y cols 1992), mientras que Ishikawa y cols encontraron una rápida recuperación a los 5 días de la intervención así como la persistencia de una hipersensibilidad durante 7 meses (Ishikawa y cols 1994).

Por su parte, Lee y cols, vieron que a los 3 meses de la cirugía existía una disminución significativa en la secreción lagrimal y en la estabilidad de la película lagrimal en los pacientes intervenidos de LASIK comparado con los intervenidos de PRK; esto lo cuantificaron con el test de Schirmer, la osmolaridad y el tiempo de rotura de la película lagrimal. A los 6 meses, estos parámetros estaban disminuidos en el grupo de LASIK respecto al otro, aunque de forma no significativa, y no alcanzaron los valores preoperatorios. Concluyeron que esta diferencia entre las dos técnicas se debía a que, en el LASIK, además de las terminaciones nerviosas dañadas por la ablación láser, también se destruían fibras centrales con el microqueratomo (Lee y cols 2000).

Otra posible explicación defendida por aquellos que apoyan el comportamiento más traumático del LASIK y, por lo tanto, su mayor alteración de la sensibilidad corneal es que esta técnica actúa sobre el tejido corneal más profundo, por lo que hay más riesgo de dañar las fibras nerviosas del colgajo formado. Asimismo, dado

que queda temporalmente un espacio entre el colgajo y el lecho corneal, la transferencia de células y otras sustancias se ve dificultada. Esta barrera en la difusión es probable que afecte a la recuperación de las fibras nerviosas y del tejido corneal (Lee y cols 2000).

Existe gran discrepancia entre los diferentes trabajos publicados en cuanto al tiempo que se tarda en recobrar la sensibilidad corneal tras la cirugía. No obstante, la mayoría de los trabajos hablan de entre 6 y 12 meses (Pérez-Santonja y cols 1999; Chuck y cols 2000; Linna y cols 2000; Battat y cols 2001, Bandeira y cols 2019). Toda y cols encontraron que mientras que la sensibilidad corneal se recuperaba a los 6 meses del LASIK en pacientes que tenían EOS moderado o grave pre-operatoriamente, en aquellos que no lo tenían antes de la intervención, la sensibilidad volvía sus valores normales en 3 meses (Toda y cols 2004).

En un trabajo publicado por Benítez del Castillo y cols, en el que se realizó LASIK a 24 pacientes miopes, se observó que tanto la sensibilidad corneal como la secreción lagrimal se veían reducidas durante los primeros 3 meses tras la intervención. La secreción lagrimal no volvía a sus valores pre-quirúrgicos hasta los 9 meses. Además, se observó la existencia de una correlación en todas las medidas entre la producción lagrimal y la sensibilidad corneal. Estos dos parámetros fueron menores en los pacientes que habían utilizado lentes de contacto antes de la cirugía que en aquellos que no las habían utilizado (Benitez-del-Castillo y cols 2001; Lloyd-McKernan y cols 2017).

Muchos de los pacientes que son intervenidos de CRC son portadores habituales de lentes de contacto, lo cual puede influir en los resultados tras LASIK, como sugiere el trabajo que acaba de mencionarse (Benitez-del-Castillo y cols

2001). En primer lugar, la utilización de lentes de contacto blandas aumenta el número de células de Langerhans en el centro de la córnea, pudiendo provocar un aumento de la inflamación tras LASIK. En segundo lugar, las lentes de contacto, al disminuir la sensibilidad corneal, agravarían el ojo seco que aparece tras la cirugía. Finalmente el daño potencial que podría provocar el uso de lentes de contacto en estos individuos podría contribuir a la EOS post-CRC (López-de la Rosa y cols 2016; Martín-Montañez y cols 2016; López-De la Rosa y cols 2018).

Es muy conocido, pues, el hecho de que la CRC provoca una alteración de la sensibilidad corneal al dañar de forma local el plexo sub-basal de los nervios corneales, llegando a producir alteraciones epiteliales (Wilson y cols 2001).

Existen numerosos estudios que han evaluado la recuperación de la sensibilidad corneal después de la CRC, tanto en PRK (Kanellopoulos y cols 1997), como LASIK y LASEK (Lee et al 2006; Darwish y cols 2007), concluyendo que la sensibilidad corneal y la morfología del plexo nervioso sub-basal se ven afectados por los procedimientos refractivos. Estos estudios concluyen además que la sensibilidad corneal se recuperaba a los tres meses después de la aplicación con láser excímer, pero los nervios sub-basales todavía eran anormales después de los 6 meses. Según el Prof. Carlos Belmonte, gran conocedor de la inervación corneal y sus alteraciones, estos presentan respuestas anormales y descargas espontáneas debido a una alteración de las proteínas de los canales de iones en el soma y en las terminaciones nerviosas. Además, hacen que las terminaciones nerviosas se vuelvan sensibles a mediadores locales de inflamación como las prostaglandinas o la bradiquinina. Esta excitabilidad alterada es el origen de la

reducción del umbral de sensibilidad, de las respuestas a nuevos estímulos o de respuestas neurales sin estímulo aparente (Belmonte y cols 2004; Belmonte 2019).

Los pacientes sometidos a CRC pueden tener sensación de molestias y EOS sin apenas alterarse la superficie ocular. Esto se ha atribuido a la excitación de las terminaciones nerviosas y la subsecuente liberación de neuropéptidos como la sustancia P o el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), provocándose una inflamación neurogénica. Las terminaciones nerviosas destruidas empiezan a regenerarse inmediatamente y forman microneuromas (Belmonte y cols 2004; Belmonte 2019).

Por lo tanto, los síntomas que los pacientes refieren como sensación de ojo seco, no siempre necesariamente reflejan una sequedad real de la córnea y se pueden corresponder a una interpretación subjetiva de las disestesias provocadas por otras causas como mediadores locales de inflamación o estímulos mecánicos del párpado (Belmonte y cols 2004; Belmonte 2019).

Otros factores que han de considerarse en la patogenia de la EOS tras CRC son una potencial disminución del parpadeo y la disminución de la producción de lágrima debido a la ruptura del arco aferente de secreción lagrimal. Además, puede existir en ambos el incremento de la evaporación por la alteración de la capa lipídica (Belmonte y cols 2004; Belmonte 2019).

En una de las últimas publicaciones de Toda (Toda 2018), se hace referencia a la fisiopatología y a los posibles mecanismos implicados en el ojo seco post-LASIK (Figura 6).

El dolor de la superficie ocular posterior al LASIK no está asociado con la disfunción lagrimal y no puede tratarse con el tratamiento convencional del ojo seco. Se desconoce el mecanismo para el desarrollo del dolor de la superficie ocular posterior al LASIK, pero se sospecha que implica una interacción entre la disposición genética y los factores ambientales. Se necesita más investigación para comprender los mecanismos, tratamientos y prevención de esta condición rara pero devastadora (Toda 2018).

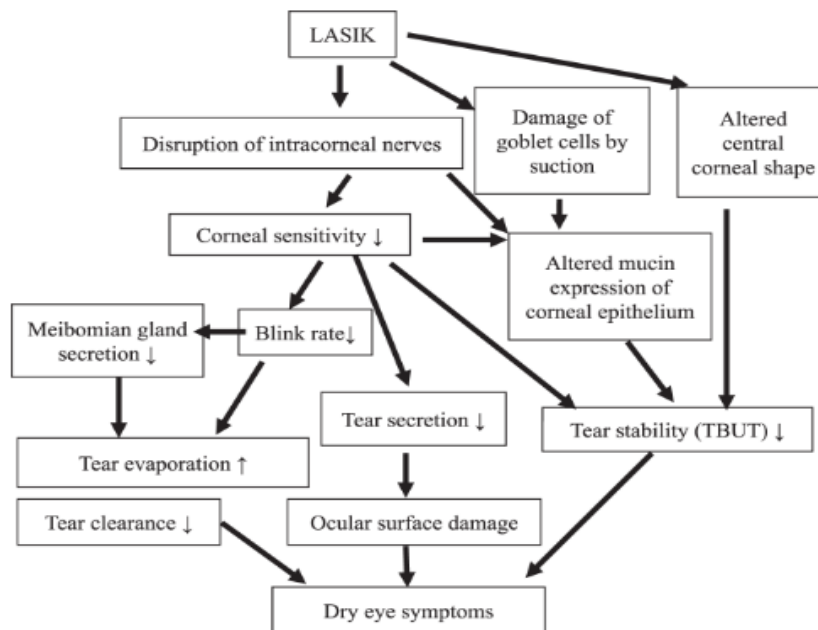


FIGURA 6. Posibles mecanismos implicados en el ojo seco post-LASIK. Tomada de Toda 2018.

En resumen, la inervación aferente corneal se altera en la cirugía refractiva y tarda más de un año en recuperarse. Durante la recuperación, las terminaciones nerviosas pueden activarse y evocar las sensaciones por estímulos distintos a los habituales. Por ello, se pueden producir síntomas de molestias oculares o sensación de ojo seco por un fenómeno de disestesias. Pero además, desgraciadamente, se

pueden producir cuadros crónicos y graves, en los que no se insistirá más en esta memoria por no ser objetivo de este estudio.

Para entender el EOS que puede ocurrir tras CRC, es fundamental entender la inervación corneal y como determinar la sensibilidad de la córnea. Por haberse evaluado, además, estos dos conceptos en este trabajo de investigación, se tratarán estos dos aspectos a continuación.

3.2. Inervación corneal: tipos de fibras y receptores

La córnea es el órgano con mayor número de terminaciones nerviosas del organismo. La gran mayoría de la inervación que existe en la córnea es de fibras sensoriales, aunque también hay una pequeña proporción de fibras del sistema autónomo, tanto de la vía del sistema parasimpático como del simpático. La sensación corneal es un factor crucial para el mantenimiento de la integridad de la superficie ocular y su transparencia (Müller y cols 1996; Müller y cols 1997; Al-Aqaba y cols 2010).

Los nervios corneales son componentes clave del sistema fisiológico que controla la homeostasis de la superficie ocular. La córnea está inervada principalmente por la rama oftálmica de los nervios trigémino (nervio craneal V), que se extiende bilateralmente de la protuberancia. La rama nasociliar (aférente) del nervio oftálmico es sensorial para la córnea, el párpado y la conjuntiva. Estas fibras nerviosas desempeñan un papel en la detección de temperatura, estímulos químicos y mecánicos y dolor, mientras que las ramas del nervio facial (nervio craneal VII) contienen nervios motores que controlan el parpadeo y fibras

autónomas (simpáticas y con escasez de parasimpático) que estimulan la producción y secreción de las lágrimas a través de circuitos de retroalimentación entre la superficie ocular, las glándulas lagrimales y el cerebro. La alteración de estos nervios con la interrupción de los circuitos de retroalimentación neuronal entre la superficie ocular y las glándulas lagrimales puede conducir a enfermedades de la córnea, como la enfermedad del ojo seco y la queratopatía neurotrófica. Inversamente, la hipersensibilidad de las fibras nerviosas y / o la desregulación de los centros nerviosos que controlan el dolor pueden provocar dolor neuropático (Labetoulle y cols 2019).

Los nervios corneales son funcionalmente heterogéneos y responden a estímulos como la fuerza mecánica, el frío, el calor o los irritantes químicos. Dependiendo del tipo de estimulación, las fibras sensoriales hacen evocar diferentes sensaciones como el dolor agudo o la irritación mantenida. La inervación corneal es esencial para el mantenimiento de la estructura corneal y su función; a su vez juega un papel esencial en la secreción lagrimal (Belmonte y cols 2004; Belmonte 2007; Belmonte 2019).

La citoarquitectura de los nervios corneales hace referencia a la organización estructural de los mismos. La organización de las fibras nerviosas en la córnea, así como su densidad de población son unas variables que se han intentado determinar a lo largo de los últimos años, ya que permiten, por ejemplo, saber en qué zona de la córnea hay que realizar el flap a la hora de hacer una operación de CRC para dañar el menor número posible de terminaciones nerviosas (Müller y cols 1996; Müller y cols 1997; Al-Aqaba; cols 2010).

La córnea humana recibe la mayoría de su inervación sensitiva de los dos nervios ciliares largos (a su vez ramas del nervio oftálmico, primera rama del V par craneal o trigémino) que entran a la zona posterior del globo ocular y cursan por el espacio supracoroideo hasta llegar a la córnea. Los haces nerviosos que entran en la periferia de la córnea lo hacen radialmente a lo largo de todo el limbo y de forma paralela a la superficie corneal. Una vez que los nervios llegan al estroma corneal, tras atravesar el limbo, pierden el perineuro que las rodea y parte de la mielina (fibras A-delta), o las vainas de mielina en su totalidad (fibras C). De esta forma, los haces de fibras nerviosas que continúan por el estroma corneal solamente están rodeados por los cuerpos de las células de Schwann. La pérdida de la totalidad de la mielina, o la gran mayoría de ella, es indispensable para mantener la transparencia de la córnea (Müller y cols 1996; Müller y cols 1997; Al-Aqaba y cols 2010).

En la figura 7 se aprecia cómo los nervios penetran el limbo esclero-corneal, avanzan por el tercio inferior del estroma corneal y se dividen en ramas más pequeñas mientras que van avanzando oblicuamente hacia el estroma anterior y la zona central de la córnea. Algunas de las ramas conectan con las demás en el centro del estroma. Es decir, los nervios estromales entran a la córnea como si de árboles se trataran, dividiéndose en ramas más pequeñas que interactúan entre sí e incrementando su número.

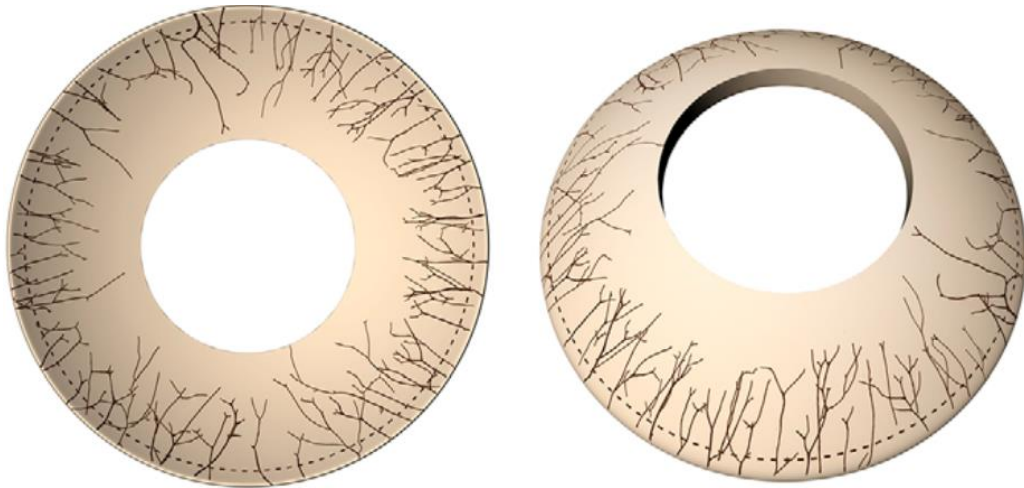


FIGURA 7. Nervios corneales. Los haces nerviosos entran a nivel estromal en la córnea periférica uniformemente desde todas las direcciones. La línea punteada indica la localización aproximada del limbo corneo-escleral (Tomada de Marfurt y cols 2010).

Cuando los haces nerviosos llegan al estroma corneal anterior y se encuentran con la capa de Bowman, éstos realizan un giro de 90° y la atraviesan hasta llegar a la zona más basal del epitelio (Müller y cols 1996; Müller y cols 1997; Al-Aqaba y cols 2010). Esta acción se realiza a lo largo de toda la superficie corneal, tanto en la periferia como en el centro. Una vez que atraviesan la capa de Bowman, los nervios dan otro giro de 90° , recuperando así la dirección paralela a la superficie y siguiendo su camino entre la capa de Bowman y la capa de células epiteliales basales. De este modo, se forma una malla de haces nerviosos y fibras nerviosas aisladas en la zona más basal del epitelio corneal denominado plexo nervioso sub-basal, como se puede valorar en la microscopía confocal in vivo de la figura 8.

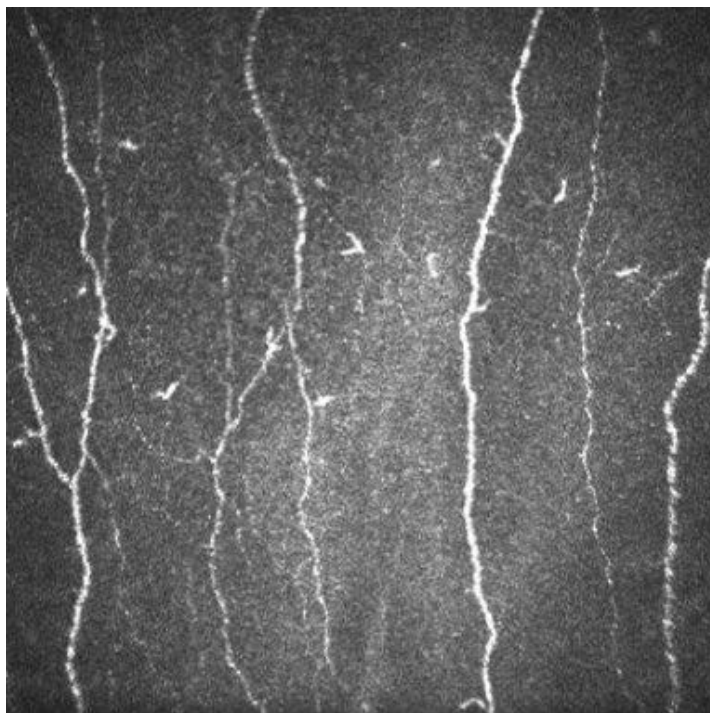


FIGURA 8. Microscopía confocal. La microscopía confocal in vivo ha permitido obtener imágenes espectaculares de la córnea, incluidos sus nervios, de manera no invasiva. En esta figura se aprecia un sector de plexo nervioso corneal sub-basal normal (HRT III - módulo de córnea Rostock). Corte a 60 μm de profundidad. Cortesía del IOBA.

Los grandes haces de fibras nerviosas que llegan al plexo consisten en dos tipos de fibras: fibras lisas y fibras granuladas (formando una especie de cuentas de collar). De los principales haces nerviosos, las fibras granuladas se bifurcan y continúan su camino, y en algunos lugares de la malla nerviosa sub-basal, estas fibras granuladas corren en dirección superior, tras girar 90°, hacia las células más superficiales del epitelio; mientras que los haces de fibras lisas se empalman unos con otros y se van bifurcando gradualmente formando haces más pequeños (figura 9) (Müller y cols 1996; Müller y cols 1997; Al-Aqaba y cols 2010).

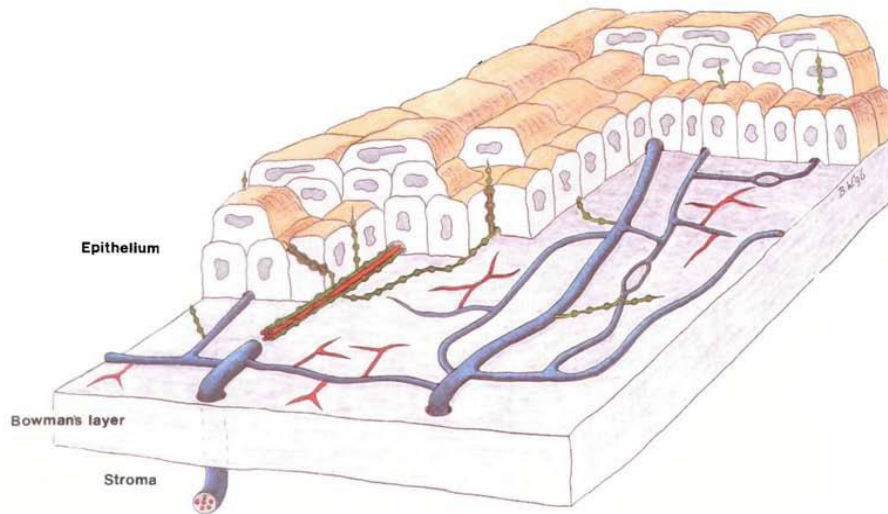


FIGURA 9. Dibujo esquemático tridimensional de la penetración y distribución de paquetes estromales en el plexo corneal sub-basal. En azul, se observan los haces nerviosos que se pueden anastomosar con otros iguales y de los cuales bifurcan fibras lisas (en rojo) y las fibras granuladas (en azul). Se aprecia el giro que dan estas últimas fibras hacia las capas de células más superficiales del epitelio, donde suelen terminar (Tomada de Müller y cols 1997).

En la figura 10, se observa el recorrido del esquema de la figura anterior, pero en un corte transversal de una sección histológica de una córnea.

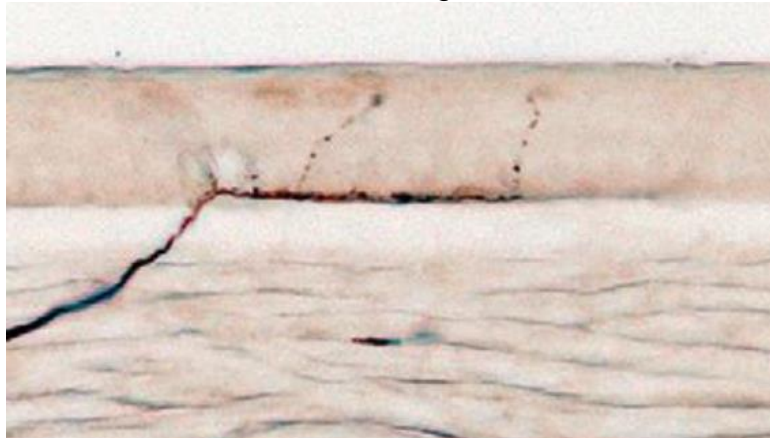


FIGURA 10. Recorrido real de una fibra nerviosa. Se aprecia el paso a través de la capa de Bowman, el plexo sub-basal y el avance de las fibras hacia las células epiteliales más superficiales (Tomada de Marfurt y cols 2010).

Las investigaciones realizadas por He y cols han demostrado que existen dos vías de redes nerviosas corneales: (1) la red nerviosa limbar superficial, que aporta los nervios al área más cercana al limbo y a la mayoría de la periferia corneal; y (2) la red nerviosa estromal, que aporta las ramas nerviosas al epitelio central. En la zona central de la córnea, los grandes haces nerviosos se extienden hasta la periferia, y así conforman el esqueleto nervioso de la córnea (He y cols 2010). Las ramas que se bifurcan de los haces conectan con los demás, construyendo así la red nerviosa epitelial (Belmonte y cols 1999; Belmonte 2019), como se muestra en la figura 11.

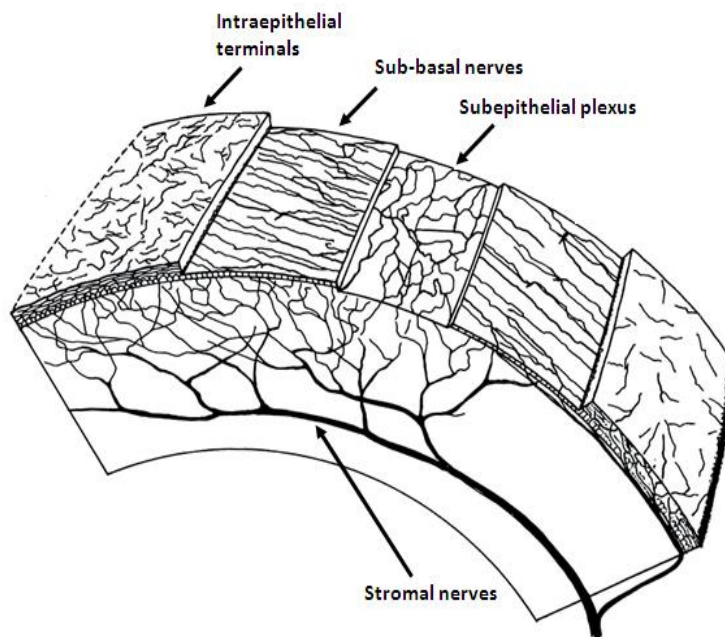


FIGURA 11. Inervación corneal: La córnea es el tejido más densamente inervado en el cuerpo. Existen cuatro capas de nervios: 1) Nervios estromales profundos y medios 2) Plexo subepitelial 3) Plexo subbasal 4) Terminales intraepiteliales (Tomada de Chan-Ling 1989, Rózsa and Beuerman 1982).

Anteriormente, se ha hablado de la orientación en la que los haces nerviosos penetran en la córnea y su dirección. A medida que los nervios se acercan al ápex

corneal, van adquiriendo una orientación vertical, dirección meridianos 6 y 12 hr, aunque también puede haber algunas ramas nerviosas que tengan preferencia por otra orientación: 7-1, 5-11, 2-8, 4-10 y 9-3 hr, pero siempre predominando una orientación vertical en el ápex (Müller y cols 2003), tal y como se muestra en la figura 12.

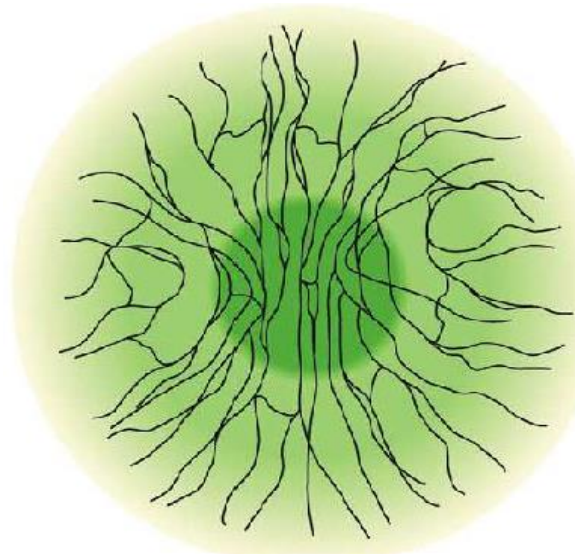


FIGURA 12. Orientación de las fibras nerviosas a medida que llegan al ápex corneal. Tomada de Müller y cols 2003.

La topografía de la totalidad de los nervios corneales no ha podido ser conocida hasta hace pocos años, debido a que no existían los medios y métodos adecuados. En la topografía no se encuentran diferencias en cuanto a la densidad de nervios epiteliales se refiere si se comparan las córneas de individuos masculinos y femeninos, por lo que el género no influye en la densidad de terminaciones nerviosas de la población (Müller y cols 2003).

Cuando se analizan los posibles factores que afectan la topografía de los nervios corneales, no se encuentran diferencias en cuanto a la densidad de nervios epiteliales se refiere si se comparan las córneas de individuos masculinos y

femeninos, por lo que el sexo no parece influir en la densidad de terminaciones nerviosas de la población (Müller y cols 2003). Sin embargo, se encontró que las córneas de individuos mayores de 70 años presentaban una disminución de la densidad de fibras nerviosas epiteliales en el ápex corneal. Por lo tanto, la topografía nerviosa corneal no parece estar influida por el sexo, pero sí por la edad, sobre todo si sobrepasa la octava década de vida (He y cols 2010).

Otro dato importante a la hora de estudiar la topografía de la inervación de la córnea es si hay la misma densidad de nervios en los cuatro cuadrantes. Como ya se ha dicho antes, hasta hace pocos años no se pudo establecer la topografía total de la córnea, por lo que ha sido reciente el descubrimiento de una misma densidad de fibras en todos los cuadrantes, y con una distribución muy similar, como se muestra en la figura 13. Este dato tiene especial relevancia en la clínica por el gran número de caeos que se registran actualmente de cirugía refractiva que desembocan en la afectación de los nervios (Müller y cols 2003; Al-Aqaba y cols 2010; He y cols 2010). Algunos investigadores consideran que es causado por la realización del flap en el sitio equivocado. Por este motivo es importante confirmar que no hay diferencias relevantes entre los cuatro cuadrantes, ya que, conociendo esto, la posición del flap sería algo irrelevante a la hora de realizar la cirugía, algo muy discutido y en lo que no parece haber aún acuerdo unánime.

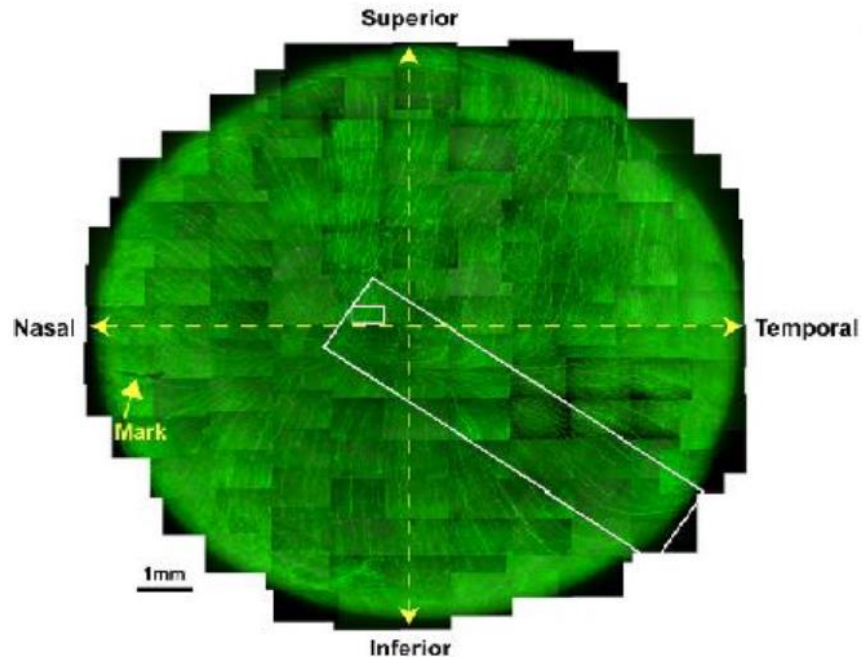


FIGURA 13. Topografía de los nervios corneales. En la córnea hay la misma densidad de nervios en los cuatro cuadrantes (Tomada de He y cols 2010).

Tipos de fibras nerviosas. Los tipos de fibras nerviosas que llegan del ganglio trigeminal de Gasser a la córnea se pueden identificar de diferentes maneras. La primera de ellas sería prestando atención a la morfología de las fibras nerviosas. El aspecto que presentan es muy sencillo, y se pueden establecer dos tipos de fibras nerviosas (Belmonte y cols 2004): (1) fibras A-delta, las cuales son fibras que presentan una fina capa de mielina rodeándolas y con un diámetro y longitud mayores; (2) fibras C, que pierden toda la mielina al llegar a la córnea y poseen un diámetro y una longitud menores. Sin embargo, a pesar de la homogeneidad que parecen tener morfológicamente, su composición química y sus propiedades electrofisiológicas son muy heterogéneas. Muchas neuronas pueden contener neuropéptidos, como el CGRP o la sustancia P, que son los más abundantes, y

también poseen un gran número de proteínas que actúan como neurotransmisores, neuromoduladores, citoquinas y factores de crecimiento, así como canales iónicos que regulan la excitabilidad neuronal (Belmonte y cols 2004; Shaheen y cols 2014; Belmonte 2019;). Las propiedades de transducción también difieren de una fibra nerviosa a otra, dependiendo del número y tipo de proteínas que posea cada tipo de fibra. Debido a ello, la mejor manera para clasificar a las fibras nerviosas de la córnea es mediante el tipo de estímulo por el que se activan. De este modo existen tres tipos de fibras (Acosta y cols 2001; Belmonte y cols 2004; Shaheen y cols 2014; Belmonte 2019):

- Fibras que se activan con fuerzas mecánicas. Representan alrededor del 15% de los nervios corneales y son en su totalidad fibras del tipo A-delta. Los umbrales por los que se activan los mecano-nociceptores de estas fibras son más bajos si se los compara con los de la piel. Estos mecano-nociceptores tienen una gran capacidad de adaptación.
- Fibras nociceptoras que poseen nociceptores polimodales. Representan el 70% de las fibras corneales y se activan con daños mecánicos o temperaturas extremas, elementos irritantes químicos y muchos mediadores químicos endógenos que se liberan por un daño corneal o la liberación de células inflamatorias. La mayoría de estas fibras son fibras C, pero existe también una minoría de fibras A-delta.
- El tercer tipo de fibras nerviosas son receptores sensitivos del frío y son un 10-15% del total de las fibras nerviosas corneales. Sus terminaciones son tanto

fibras A-delta como fibras C que mandan descargas espontáneamente, pero aumentan su cantidad cuando la temperatura de la superficie ocular disminuye.

Los tres tipos de receptores y fibras, los estímulos con los que se activan y los lugares corneales en los que predominan, se muestran en la figura 14 y tabla 2.

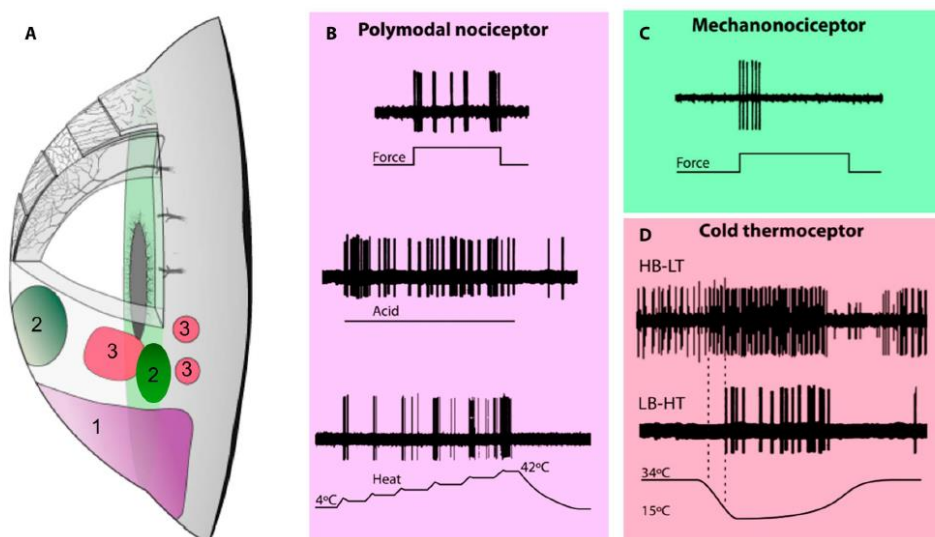


FIGURA 14. Tipos funcionales de fibras nerviosas sensoriales corneo-conjuntivales. Tomada de Belmonte y cols 2019.

Tabla 2. Inervación corneal. Resumen de los tipos de receptores corneales, estímulo al que responden, sensación que producen e importancia porcentual en la córnea humana (Tomada de Belmonte y cols 2004).

Tipo de receptores (Nociceptores)	Estímulo al que responden	Sensación que produce su estímulo	Inervación corneal (%)
Mecánicos (bajo y alto umbral)	Fuerza mecánica	Dolor agudo punzante al tocar la córnea	20%
Polimodales	Temperaturas extremas Irritantes químicos Mediadores endógenos de inflamación (SP, CGRP)	Irritación sostenida asociada a la cicatrización	70%
Frío	Frío	Evocan sensación de frío	10%

3.3. Medida de la sensibilidad corneal

La medida de la sensibilidad corneal es importante en nuestros días por el impacto en la superficie ocular de determinadas condiciones o enfermedades como la EOS (Tuisku y cols 2008), la diabetes (Rosenberg y cols 2000), el queratocono (Cho y cols 2013), las cirugías oculares (Petznick y cols 2013), el uso de lentes de contacto (Golebiowski y cols 2012) o la aplicación de medicamentos (Acosta y cols 2005).

Para determinar la sensibilidad de la córnea hay métodos cualitativos y cuantitativos. El método cualitativo se suele utilizar más en la clínica y con frecuencia se logra con la punta de un algodón, ya que es de fácil acceso. No se deben emplear anestésicos tópicos antes de realizar la prueba, obviamente. Se recomienda emplear el mechón de un aplicador con punta de algodón para comparar la sensibilidad de la superficie ocular en cada ojo. Se sugiere abordar al paciente desde un lateral y probar los cuatro cuadrantes. Se debe registrar si la sensación en cada lugar es normal, reducida o inexistente.

Para abordar la medición cuantitativa de la sensibilidad ocular se han diseñado varios estesiómetros. El primer estesiómetro corneal fue descrito en 1894 por Von Frey y fue construido usando pelo de caballo de diferentes longitudes (Brennan y cols 1991). En 1932, Francheschetti mejoró la versión de von Frey y, posteriormente, en 1956, Boberg–Ans informó de un dispositivo que utilizaba un solo hilo de nailon con un diámetro constante, pero de longitud variable (Brennan y cols 1991).

El método cuantitativo más común en la clínica es el estesiómetro manual de Cochet-Bonnet (figura 15), que determina la sensibilidad mecánica por contacto

corneal (Cochet y cols 1960). Contiene un monofilamento retráctil y delgado de nailon que se extiende hasta 6 cm de longitud. La presión es variable y puede ser aplicada por el dispositivo por el ajuste en la longitud. El monofilamento puede variar de 60 mm a 5 mm y la longitud disminuye conforme la presión aumenta de 11 mm/g a 200 mm/g (Khan-Lim y cols 2004). La sensibilidad se registra en los cuatro cuadrantes y en cada ojo.



FIGURA 15. Estesiómetro de Cochet-Bonnet. Tomada de [west-op.com](http://www.west-op.com): estesiómetro Cochet-Bonnet.

En 1999, Belmonte y cols. (Belmonte y cols 1999) desarrollaron el estesiómetro de gas de no contacto, que ha pasado también a denominarse por su nombre, y que permite la exploración de diferentes tipos de fibras sensoriales como se vio en la tabla 2: 1) fibras mecano-sensoriales que responden a las fuerzas mecánicas, 2) fibras nociceptivas polimodales, que son las más frecuentes y responden a una amplia variedad de estímulos, incluyendo fuerzas mecánicas, irritantes, temperaturas extremas y mediadores inflamatorios endógenos y 3) fibras frías, que son menos abundantes y activadas principalmente por disminuciones de temperatura (Giraldez y cols 1979; Belmonte y cols 1981; Chen y cols 1997; revisado en: Tesón y cols 2012)

El estesiómetro de gas de Belmonte ha sido utilizado en este trabajo. De hecho, el propio Prof. Belmonte donó al IOBA uno de sus prototipos, que es el que se ha usado en este trabajo, así como en estudios previos y posteriores (Tesón y cols 2012; López-de la Rosa y cols 2016). Consta de una unidad central y un cabezal: la unidad central está conectada a dos bombonas, las cuales contienen aire medicinal y CO₂ (99,8% de pureza) respectivamente. En el interior de esta unidad central se realiza la mezcla de gases y se controla la temperatura, a través de unos reguladores, lo que permite obtener proporciones controladas de aire medicinal y CO₂ a la temperatura deseada. El cabezal del estesiómetro descansa sobre un soporte adaptado a la lámpara de hendidura, y durante el estímulo se sitúa a una distancia de 5 mm de la córnea, lo que provoca un área estimulada de 4 mm².

Durante el estímulo, la unidad central envía la mezcla de gases al cabezal del estesiómetro que se expulsa a través de la sonda del cabezal, estimulando la superficie corneal durante el tiempo estipulado. Por tanto, el estesiómetro de gas permite la aplicación sobre la córnea de estímulos mecánicos mediante una fuerza de aire controlada (rango: 0–200 ml/min), de estímulos químicos reduciendo el pH de la superficie corneal con un flujo de aire y CO₂ (rango: 0-90% de CO₂) y de estímulos térmicos utilizando flujos de diferentes temperaturas (rango: ± 4°C). Por consiguiente, permite la determinación de los umbrales de sensibilidad para estos diferentes tipos de estímulos: mecánicos, químicos y temperatura (frío y calor), los cuales aportan información sobre los diferentes tipos de fibras sensoriales (Belmonte y cols 1999; Acosta y cols 2001).

En uno de los trabajos previos de nuestro grupo de trabajo (Tesón y cols 2012) se utilizó el estesiómetro de gas de Belmonte para establecer los umbrales de sensibilidad corneal en sujetos sanos; para estímulos mecánicos, químicos y térmicos, además de evaluar la reproducibilidad de las medidas del estesiómetro, la influencia de los síntomas corneales previos y la seguridad. Otro trabajo posterior de nuestro grupo de trabajo (López-de la Rosa y cols 2016) estableció otros rangos de medida en sujetos jóvenes normales y portadores de lentes de contacto, concluyendo que los síntomas de incomodidad en los usuarios de lentes de contacto no están relacionados con los cambios en la sensibilidad corneal. Estos y otros trabajos se discutirán más adelante, comparándolos con los resultados del presente trabajo.

3.4. Manejo terapéutico de la EOS post-CRC

La inervación corneal y sus alteraciones empiezan a tener protagonismo en la etiopatogenia de la EOS (especialmente el relacionado con la edad y la neurotrófica) y pueden ser objeto de modulación farmacológica. Además, como ya se ha comentado, algunos de los síntomas de ojo seco y malestar de los pacientes sometidos a CRC pueden estar en relación con la actividad neuropática (disestesias) más que con una sequedad real, por lo que se puede inferir que los futuros tratamientos no sólo deben de ir a atenuar la sequedad sino también a disminuir la actividad espontánea o a pequeños estímulos de las fibras nerviosas dañadas (Belmonte y cols 2004, Belmonte 2019).

No parece haber protocolos unificados. Y así, la EOS más crónica post-CRC asociado no a dolor se trata como EOS en general. Este tratamiento incluye el alivio de los síntomas, la mejora de la agudeza visual y la calidad de vida, la restauración de la superficie ocular y la película lagrimal y la corrección de los defectos subyacentes. Las opciones de tratamiento comprenden la higiene palpebral si existe disfunción asociada de las glándulas de Meibomio, los cambios en el estilo de vida, el uso de lágrimas artificiales sin conservante, lentes de contacto, oclusión de los puntos lagrimales, suplementos orales con ácidos grasos esenciales omega-3, terapia con medicamentos antiinflamatorios orales (doxiciclina y azitromicina) y tópicos como la ciclosporina A. El tratamiento debe ajustarse a la respuesta del paciente y debe mantener un equilibrio entre la eficacia, la seguridad y la comodidad del paciente (Jackson 2009, Zhang y cols 2017). También se han realizado tratamientos con terapia de pulsación térmica (LipiFlow; TearScience, Morrisville, NC) en párpados para la EOS recalcitrante post LASIK y PRK (Schallhorn y cols 2017).

Los derivados sanguíneos como el suero autólogo o una preparación especial para la aplicación ocular tópica de plasma rico en plaquetas (PRP) son poderosas herramientas terapéuticas para acelerar la respuesta de curación de la superficie ocular y otros tejidos diferentes (Tsubota y cols 1999; Yazawa y cols 2003; Noda-Tsuruya y cols 2006; Alio y cols 2012; Alio y cols 2015; Alio y cols 2017)

Debido a que se está empezando a plantear el uso de los derivados del plasma humano en el postoperatorio de la CRC y puesto que es objeto de esta tesis, se dedicará un capítulo a ello.

4. Productos derivados del plasma humano y su uso en Oftalmología

La lágrima presenta una composición muy compleja, siendo el agua su principal componente (98,3%), seguido de electrolitos (ej. sodio, potasio, cloro o bicarbonato) (1%), proteínas y glucoproteínas (IgA secretora, lactoferrina, lisozima, transferrina, betalisisina, albúmina (0,7%) y, en menor medida, hidratos de carbono (glucosa fundamentalmente), lípidos y otros (Revisado en Geerling y cols 2004).

La composición del suero es similar a la de la lágrima. La concentración de varios de sus componentes es equiparable, con la excepción de más vitamina A, lisozima, factor de crecimiento transformante (TGF) y fibronectina y menos IgA, EGF y vitamina C en el suero que en la lágrima (Pan y cols 2013).

La lágrima tiene una serie de funciones que son esenciales para la salud de la superficie ocular y, especialmente, para la córnea: 1) mantiene húmeda la superficie ocular, impidiendo la desecación celular; 2) lubrica los movimientos palpebrales sobre la superficie ocular sin fricción; 3) tiene un importante papel óptico al ser la primera interfase entre el aire y el medio sólido (córnea), formando parte de la superficie refractiva anterior, uniformizando la superficie corneal (las microvellosidades epiteliales); 4) su papel en la nutrición corneal del epitelio es tan fundamental que el oxígeno y nutrientes disueltos en la lágrima son el único soporte nutritivo del estroma anterior y, sobre todo, del epitelio y sus altas demandas de oxígeno; 5) forma una barrera defensiva entre el exterior y el epitelio de la superficie ocular, sobre todo el corneal; de esta forma, las partículas inertes y orgánicas que entran en la lágrima son atrapadas en la capa mucosa y arrastradas por el movimiento de eliminación de la lágrima hacia el sistema de drenaje; pero antes, al

pasar por la capa acuosa, los gérmenes se encuentran con moléculas (IgA secretora, lisozima, transferrina, etc) y células que tratan de neutralizarlos; y 6) la lágrima tiene una esencial función epiteliotrófica y cicatrizadora, ya que a través de factores de crecimiento (fundamentalmente el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y neuropéptidos, regula el proceso de proliferación, migración y diferenciación de las células del epitelio conjuntival y, sobre todo, corneal.

Es importante comprender las esenciales funciones de la lágrima para una correcta fisiología de la superficie ocular y, más aún, para la córnea, ya que a diferencia del epitelio conjuntival, el epitelio corneal depende de la lágrima para su nutrición, renovación y defensa, como se acaba de comentar.

Entendiendo las funciones normales, son evidente de forma intuitiva las consecuencias que una lágrima disfuncional tendrá para la superficie ocular y, de manera más relevante, para la córnea (figura 16).

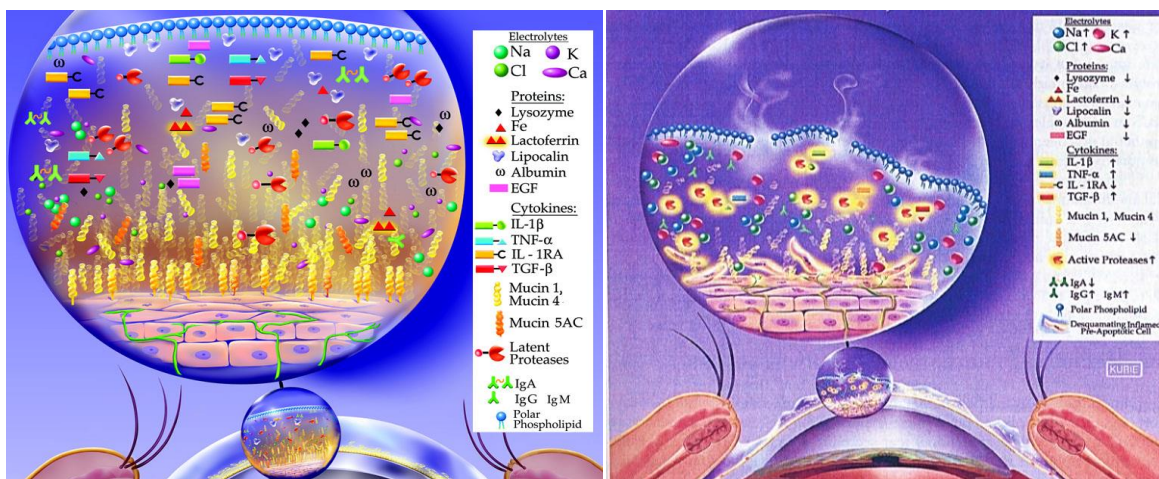


FIGURA 16. Representación artística de la cantidad y composición de la película lagrimal normal (izquierda) y como ambas, cantidad y calidad, se alterarían en la enfermedad de ojo seco (derecha). Tomada de Pflugfelder, SC; Beuerman RW; Stern, ME, eds. Dry Eye and Ocular Surface Disorders. New York, NY: Marcel Dekker, Inc.; 2004.

Por ejemplo, la reducción de los factores epiteliotróficos puede comprometer la integridad del epitelio, causando defectos epiteliales que, como consecuencia de una mala cicatrización, persisten y progresan (Geerling y cols 2004; Riestra y cols 2016). De hecho, nuestro grupo de trabajo ha mostrado como los niveles de EGF están disminuidos en la lágrima de pacientes con EOS y como disminuyen más cuando se les somete a un estrés ambiental (Tesón y cols 2013; López-Miguel y cols 2014); así como su expresión génica en células conjuntivales en pacientes EOS grave (Cocho y cols 2015; Cocho y cols 2016).

En un intento de aportar no sólo humedad a la superficie ocular de los pacientes con EOS, sino de proporcionar algunos de los factores que están lógicamente disminuidos en su lágrima disfuncional, se empezaron a usar en Oftalmología derivados del plasma humano autólogo (Ralph y cols 1975; Fox y cols 1984). De hecho, ya en el Papiro de Ebers (1534 a.C.) se cita la aplicación de sangre en los ojos.

En 1975, Ralph y cols presentaron un estudio con una bomba de perfusión continua de fluidos en la superficie ocular, ensayando con diversos sustitutos lagrimales, entre ellos el suero y el plasma homólogo y autólogo (Ralph y cols, 1975). En 1984, Fox y cols presentaron otro estudio en el que el suero autólogo se mostró eficaz en el tratamiento de la EOS (Fox y cols 1984). Sin embargo, este tratamiento no comenzó a hacerse popular hasta finales de los años 90, fundamentalmente gracias a los trabajos Tsubota y cols (Tsubota y cols 1996; Tseng y cols 1997, Tsubota y cols 1999a, Tsubota y cols 1999b).

Resulta difícil establecer la eficacia de los derivados hemáticos en las distintas indicaciones, puesto que existen distintas técnicas de preparación que dan lugar a

preparados de distintas características e incluso, debido a la falta de una terminología apropiada, se agrupan bajo el mismo nombre variaciones de los concentrados de plaquetas (Riestra y cols 2016)

Actualmente, se sabe que el suero autólogo aporta a la superficie ocular una serie de nutrientes, vitaminas y factores de crecimiento fundamentales para la renovación epitelial, ofreciendo una ventaja adicional sobre el simple uso de lágrimas artificiales, las cuales carecen de estos componentes esenciales. Así, en la EOS severa y otras patologías de la superficie ocular, el déficit de estos componentes lagrimales biológicamente activos puede intentar ser reemplazado mediante la aplicación tópica de suero autólogo. Y así, el uso del suero autólogo ha demostrado tener efectos beneficiosos para la superficie ocular, resultando particularmente de gran interés aquellos relacionados con el crecimiento y mantenimiento del trofismo de las células epiteliales (Kojima y cols 2005; Kim y cols 2012).

Existen diferentes preparados derivados del plasma humano. El primero de ellos, como se ha apuntado, se denomina, simplemente, suero autólogo. Posteriormente, se empezaron a fabricar plasmas enriquecidos en factores de crecimiento. A continuación, se mostrara la diferencia entre estos preparados.

4.1. Tipos de derivados hemáticos

La distribución de productos farmacéuticos es regulada por leyes gubernamentales en la mayoría de los países. En la Unión Europea, la “European Medicines Agency (EMA) regula el uso de fármacos, pero no de productos sanitarios (“medical

devices”) que, en general, son regulados por las autoridades competentes nacionales. Pero la EMA se involucra en la valoración de ciertos productos sanitarios y ha de emitir una valoración de conformidad para demostrar que se ajustan a requerimientos legales y que son seguros. Los estados pueden designar “notified bodies” para realizar los estudios de valoración. Existe gran controversia en este tema ya que estos cuerpos notificadores pueden ser contratados y pagados por las empresas farmacéuticas que comercializan dichos productos sanitarios, por lo cual, el control no es bueno. Se está de hecho trabajando en la variación de las normas ISO para tener un mejor control de los productos sanitarios, con gran protagonismo español, tras el escándalo de los perfluorcarbonados (Srivastava y cols 2020). En definitiva, cada país miembro es soberano a la hora de autorizar la comercialización de productos sanitarios.

En España, y desde 2013, se considera al uso no sustitutivo de los derivados, componentes o fracciones del plasma autólogo como un medicamento de uso humano (no industrial y no de terapia avanzada), debiendo someterse pues a controles estrictos y ser prescritos por médicos, odontólogos o podólogos (**aemps.gob.es**: Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas). Junto a esta resolución, se publicó un informe sobre el uso de plasma rico en plaquetas (PRP) que establecía su uso, obligaciones de los fabricantes e información que se ha de dispensar a los pacientes (**aemps.gob.es**: Resolución por la que se establece la clasificación del uso terapéutico no sustitutivo del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o

derivados, como medicamento de uso humano para atender necesidades especiales).

La regulación anteriormente resumida se hizo imperiosa debido al gran auge que en los últimos años se ha vivido en el uso no sustitutivo de los derivados hemáticos en diversas áreas de la medicina, entre ellas la oftalmología, basado en su papel sobre la reparación y la regeneración tisular. Existe controversia, sin embargo a si el suero autólogo debe tratarse o no como un derivado plasmático y seguir su regulación.

No existe un acuerdo sobre la definición de plasma rico en plaquetas (PRP) ni se llega a un acuerdo sobre la diferencia entre suero autólogo y PRP, aunque parezca evidente. La única definición defendida consistentemente en la literatura define el PRP como un volumen de plasma autólogo que contiene una concentración de plaquetas superior al nivel basal (150.000-350.000/ μ l) (**aemps.gob.es**: Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas).

Resulta difícil establecer la eficacia de los derivados hemáticos en las distintas indicaciones, puesto que existen distintas técnicas de preparación que dan lugar a preparados de distintas características e incluso, debido a la falta de una terminología apropiada, se agrupan bajo el mismo nombre variaciones de los concentrados de plaquetas (Riestra y cols 2016).

Dentro de la Oftalmología, el plasma enriquecido se enmarca dentro de unos preparados tópicos derivados de productos hemáticos como son el suero autólogo, el plasma rico en plaquetas (PRP), el plasma rico en factores de crecimiento

(PRGF), el suero del cordón umbilical y el NGF (factor de crecimiento nervioso). Las principales diferencias entre uno y otros son fundamentalmente la diferente concentración en factores de crecimiento (Lopez-Plandolit y cols 2011).

Los efectos beneficiosos de la aplicación de suero autólogo en el tratamiento de pacientes con ojo seco fueron propuestos en 1984 gracias a los trabajos de Fox y cols. Sin embargo, el relativo desconocimiento de su mecanismo de acción, a nivel de la superficie ocular, hizo que su utilización en la práctica clínica fuese muy reducida hasta finales de la última década gracias a los trabajos de Tsubota y cols en 1999, con resultados muy satisfactorios en la EOS y úlceras corneales. La diferencia con el PRP y el PRFG es que el suero autólogo no aprovecha los factores plaquetarios, mientras que el PRP emplea extracto enriquecido o concentrado de plaquetas por centrifugación y el PRGF activa las plaquetas obteniendo alta concentración de EGF y fibronectina. La preparación de cada uno de estos derivados es diferente:

Suero autólogo. El suero sanguíneo, como es sabido, es el plasma una vez extraídas las proteínas que intervienen en la coagulación. Para prepararlo, se realiza una coagulación espontánea durante 2 horas a temperatura ambiente y después se centrifuga a 4.000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente; se recoge después el sobrenadante para realizar inmediatamente la dilución a diferentes concentraciones: 20%, 50% e, incluso, al 100% (figura 17).

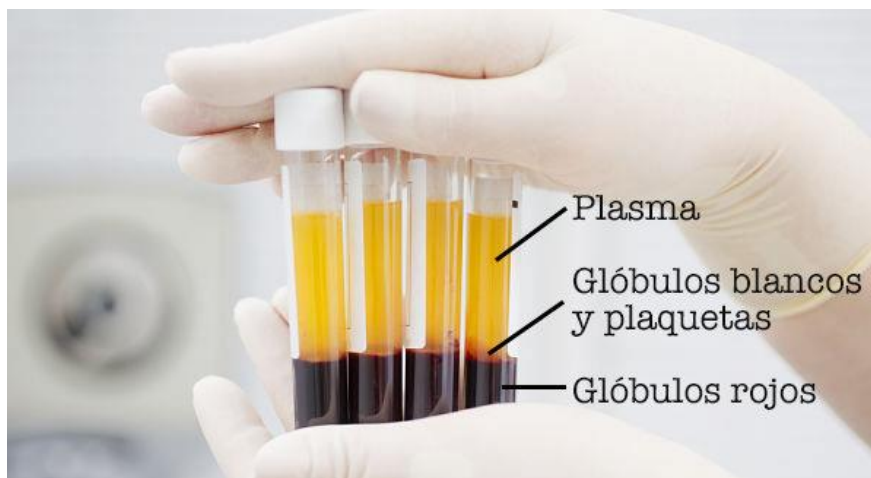


FIGURA 17. Preparación del suero autólogo. Tomada de vista-laser.com: suero autólogo para ojo seco severo.

PRP (plasma rico en plaquetas). El proceso para obtener PRP de sangre autóloga se realiza en condiciones estériles óptimas bajo una campana extractora estéril ventilada. La sangre extraída de los pacientes se recoge en tubos estériles de 10 ml que contienen 1 ml de citrato de sodio que actúa como anticoagulante. El enriquecimiento de las plaquetas en la fracción plasmática (fracción superior) se logra mediante la centrifugación de la sangre total en condiciones óptimas. Las plaquetas se enriquecen de 2 a 2,5 veces, según la cuantificación realizada a través de un dispositivo de rejilla. Bajo estas condiciones de centrifugación, los leucocitos son arrastrados al fondo del tubo y las proteínas y plaquetas permanecen en la fracción superior, enriqueciendo el plasma. Dependiendo del hematocrito del paciente, la fracción plasmática puede variar del 25 al 50% de la sangre total. En general, se obtienen 24 a 40 ml de PRP de 100 ml de la sangre total. El recipiente para colirio se debe mantener a 4°C durante un máximo de 7 días y los viales restantes se deben almacenar a -20°C durante un máximo de 3 meses (Alio y cols 2007).

PRGF (plasma rico en factores de crecimiento). Se centrifuga la sangre a 460 rpm durante 8 minutos seguida de la recolección de la fracción sobrenadante. Se recoge con mucho cuidado de no recoger la capa justo por debajo de leucocitos. Posteriormente, se estimulan las plaquetas induciendo la formación de un coágulo al añadir cloruro de calcio a una concentración de 22,8 nM durante 1 hora a 37°C, en ausencia de células rojas y blancas de la sangre. Después, el sobrenadante con factores de crecimiento se recoge por aspiración tras centrifugación a 1000 g durante 10 minutos. Por último, el plasma obtenido se filtra con un tamaño de poro de 0,2 µm. La preparación se conserva a -80°C. (López-Plandolit y cols 2010; Anitua y cols 2011).

La sangre se recoge en tubos con citrato sódico en los casos de preparación de PRP y PRGF para evitar la coagulación. Los factores de complemento se inactivan a 56°C durante 30 minutos.

4.2. Uso terapéutico en patologías diferentes de la EOS

Los derivados del plasma humano también se usan en patologías diferentes a la EOS como son las siguientes.

Defectos epiteliales persistentes, definidos como la lesión del epitelio con un diámetro superior a 2 mm que perdura durante más de 2 semanas y es resistente a los tratamientos convencionales (Anitua y cols 2015). Los tratamientos habituales incluyen lágrimas artificiales, lentes de contacto terapéuticas, tarsorrafia, agentes antiinflamatorios y/o antibióticos. Varios estudios evaluaron el efecto beneficioso de

los derivados hemáticos sobre los defectos epiteliales persistentes revisado en López-Plandolit y cols 2010; Alio y cols 2012, Alio y cols 2015, Akagun y cols 2020.

Úlceras y perforaciones corneales. Una úlcera corneal se puede definir como una erosión de la capa externa de la superficie ocular, a menudo causada por una infección, pero también por cuerpos extraños, abrasiones, sequedad severa o patologías oculares alérgicas o inflamatorias. El tratamiento inicial de las úlceras corneales se basa en la reducción del riesgo de infección y la aceleración de la regeneración de tejidos, evitando en la medida de lo posible la formación de tejido cicatricial que pudiera dificultar la visión (Riestra y cols 2016; Alio y cols 2012, Alio y cols 2015). Alio y cols han reportado que el uso del PRP es efectivo para el tratamiento de las úlceras corneales con una mejoría clínica observada en el 95% de los pacientes, el 50% de las úlceras tratadas estaban completamente reepitelializadas, y en el 58% mejoría de la visión para lejos (Alio y cols 2007). Kim y cols reportaron que el uso del PRP fue efectivo sobre el defecto epitelial corneal persistente (DEP) después de la queratitis infecciosa (Kim y cols 2012).

Quemaduras, que suponen el 12-19% de los traumatismos oculares (Reim y cols 2001), afectando generalmente a personas jóvenes en su actividad laboral o doméstica (Morgan 1987). Es una patología que requiere una actuación rápida y eficaz, de la cual dependerá su pronóstico final. Pueden ser de naturaleza química o física. La mayoría de las quemaduras químicas, también llamadas causticaciones, están producidas por sustancias ácidas o alcalinas. La gravedad de una lesión química está relacionada con la concentración del producto, el pH de la solución y el tiempo de exposición. Los álcalis provocan lesiones más graves al desnaturalizar las proteínas y saponificar los lípidos de las membranas lo que permite que el

material alcalino penetre con rapidez la córnea y entre en el ojo. Los ácidos precipitan proteínas corneales que actúan como tampón y barrera contra la penetración más profunda. En general, hay que considerar el grado de afectación de la córnea, de la conjuntiva y del limbo esclero-corneal, teniendo esta última estructura anatómica cada vez mayor relevancia debido a que en ella se encuentran las células madre encargadas de la regeneración epitelial (Rapuano y cols 2001). El objetivo del tratamiento será conseguir la reepitelización de la superficie ocular (corneal y conjuntival) con la mayor rapidez y el menor daño permanente posible (Márquez-de-Aracena y cols 2007, Panda y cols 2012, Sharma y cols 2018).

La terapia médica convencional consiste en el uso de agentes que promueven la epitelización, minimizan la inflamación y previenen las complicaciones cicatriciales. Los fluidos biológicos como el suero autólogo, el suero sanguíneo del cordón umbilical, el plasma rico en plaquetas y la suspensión de membrana amniótica son una rica fuente de factores de crecimiento y promueven la curación cuando se usan como complementos de la terapia convencional (Sharma y cols 2018).

También se habla de la aplicación subconjuntival de concentrado de plaquetas plasmáticas autólogas (autoplaquetoterapia) en lesiones traumáticas que llegan a ser un tratamiento efectivo para las quemaduras de la superficie ocular, sin presentar efectos secundarios indeseables (Márquez-de-Aracena y cols 2007).

La terapia con plasma tópico autólogo rico en plaquetas es segura y efectiva en el tratamiento de las lesiones químicas corneales agudas, promueve la rápida reepitelización de la superficie ocular y puede administrarse junto con la terapia

médica estándar con lágrimas artificiales (Panda y cols 2012). También es efectivo en el tratamiento de la EOS crónico moderado a severo (Alio y cols 2017).

Otras aplicaciones descritas para los derivados hemáticos son la queratoconjuntivitis límbica superior (Goto y cols 2001) o en el post-operatorio del trasplante corneal, limbar o de membrana amniótica (Tsubota 1999; Hanada y cols 2001).

4.3. Uso en la EOS

El uso de colirios oftálmicos a base de derivados de sangre como terapia para diversas enfermedades de la superficie ocular se ha vuelto cada vez más popular en la práctica oftálmica durante los últimos años. La justificación de su uso se basa en la promoción de la proliferación y migración celular gracias al suministro de sustancias metabólicamente activas, en particular factores de crecimiento y citoquinas en la superficie ocular, imitando así la función de las lágrimas naturales carentes. Las gotas oculares derivadas de sangre se han utilizado para el tratamiento de varios trastornos de la superficie ocular, como enfermedad del ojo seco, úlcera corneal, defecto epitelial persistente, queratitis neurotrófica, quemadura de la superficie ocular, erosión corneal recurrente y deficiencia de células madre limbares. Existen productos derivados autólogos (de los propios pacientes) y alogénicos (de donantes adultos o de muestras de sangre del cordón umbilical al nacer), y cada fuente tiene ventajas y desventajas específicas (Giannaccare y cols 2017; Bernabei y cols 2019).

El uso del suero autólogo en Oftalmología viene marcado por la necesidad de encontrar sustitutos lagrimales que, además de humidificar, aporten otros

componentes presentes en la lágrima y que se encuentran disminuidos en la EOS DEWS II (Jones y cols 2017); (Nugent y cols 2015), como ya se ha comentado. Y así, la utilización de suero autólogo en colirio ha sido referida por muchos autores como una nueva forma de terapia en el manejo de enfermedades de la superficie ocular, y que ha aumentado progresivamente en los últimos años (Franchini y cols 2019).

El suero autólogo presenta unas propiedades mecánicas y bioquímicas similares a las de la lágrima DEWS II (Jones y cols 2017). Y así, los componentes que tienen una mayor importancia son el EGF, factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), vitamina A, IgG, fibronectina, albúmina, α 2 macroglobulina, factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), neuropéptidos como la sustancia P y el factor de crecimiento tipo insulina y sustancias como la lactoferrina y la lisozima, que tienen un efecto epiteliotrófico sobre las células epiteliales de la superficie ocular (Tsubota y cols 1999a; Tsubota y cols 1999b; López-García y cols 2007).

Ya desde 1984, en los trabajos de Fox y cols (Fox y cols 1984), (Tsubota y cols 1999a; Tsubota y cols 1999c y Liang y cols 2008) reportaron que la aplicación del suero autólogo tenía efectos beneficiosos para el tratamiento de pacientes con EOS asociada a síndrome de Sjögren.

Además el suero autólogo se ha usado en la EOS asociado a la enfermedad de injerto contra huésped (EICH), uno de los ojos secos más graves, siendo el EICH una de las mayores causas de morbilidad tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. Las manifestaciones clínicas oculares derivan en su mayor parte de la fibrosis de glándulas lagrimales como respuesta a una infiltración inflamatoria, siendo la EOS el problema predominante en los procesos crónicos de

EICH. Las opciones terapéuticas incluyen lágrimas artificiales, lentes de contacto terapéuticas, tapones lagrimales, corticoides tópicos o sistémicos y otros fármacos inmunomoduladores, como la ciclosporina A. Sin embargo, hay un porcentaje de pacientes en los que estos tratamientos no resultan eficaces, bien porque no mitigan los síntomas o bien porque causan efectos adversos (Riestra y cols 2016). Recientemente se ha llegado a utilizar de forma satisfactoria el plasma rico en factores de crecimiento para el tratamiento del ojo seco de pacientes con enfermedades de injerto contra huésped, lo cual podría ser seguro y efectivo, mostrando una alta tasa de resolución de úlcera corneal y control de la EOS. Las gotas oculares con plasma rico en factores de crecimiento pueden ayudar a mantener la estabilidad de la córnea y prevenir complicaciones oculares más altas (Sanchez-Avila y cols 2020).

Se ha descrito un efecto positivo del suero autólogo tópico sobre la regeneración nerviosa, proponiéndose su uso para aliviar el dolor corneal neuropático (Aggarwal y cols 2019). Los pacientes con mayor severidad del dolor y antecedente de cirugía refractiva con láser respondieron menos al tratamiento de suero autólogo (Siedlecki y cols 2020).

Los pacientes con enfermedad de ojo seco asociado a dolor ocular severo y antecedente de cirugía refractiva con láser tuvieron baja tasa de respuesta satisfactoria al tratamiento de suero autólogo (Siedlecki y cols 2020).

El PRP tiene un efecto lubricante y ha demostrado ser eficaz en la regeneración del epitelio corneal en casos de queratitis superficial punteada, disminuyendo la inflamación en pacientes con ojo seco y estimulando la cicatrización de úlceras corneales, probablemente por incluir en su composición

NGF, que ha demostrado acelerar la re-inervación post-LASIK (Bonini y cols 2000, Joo y cols, 2004) y la cicatrización en casos de queratitis neurotrófica moderada a severa (Bonini y cols 2000).

El tratamiento con plasma rico en plaquetas en EOS hiposecretora induce un efecto positivo más significativo sobre la sintomatología y diferentes signos de ojo seco que el hialuronato de sodio, especialmente en casos moderados y severos (García-Conca y cols 2019).

También se ha usado suero autólogo tras PRK para el tratamiento de erosiones corneales recurrentes, mejorando el proceso de curación (Holzer y cols, 2005; López-Plandolit y cols 2010). Finalmente, también se ha utilizado con éxito el suero autólogo para disminuir la formación de haze tras LASEK (Yee y cols 2004) y PRK (Anitua y cols 2013).

En CRC, el suero autólogo ha sido utilizado para la EOS antes de la realización de LASIK (Toda y cols 2004) y después de LASIK (Noda-Tsuruya y cols 2006; Toda 2007; Javaloy y cols 2013), reportando que el tratamiento con suero autólogo podría ser un modo eficaz de proporcionar los componentes esenciales de la lágrima para la superficie ocular en el tratamiento de defectos epiteliales, provocando una curación más rápida del epitelio corneal, mejorando a largo plazo los resultados refractivos post-LASIK.

El suero autólogo es un tratamiento eficaz, seguro y fácil de obtener, que se ha usado muy poco en EOS tras CRC y que debería intentarse en el tratamiento de las alteraciones epiteliales de la superficie ocular antes de pasar a tratamientos más agresivos, por lo que estaría justificado probarlo en pacientes post-CRC.

IV. JUSTIFICACIÓN

Aunque la historia de la cirugía refractiva se remonta a finales del siglo XIX, su mayor auge viene ocurriendo desde los años 50. Y así, hoy en día, existen numerosas técnicas ampliamente respaldadas por el importante nivel tecnológico propio de nuestros tiempos. Gracias a ello, los avances en cirugía refractiva y el desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico y tratamientos con láser permiten moldear la córnea de forma adecuada, mediante técnicas quirúrgicas que intentan corregir los defectos de refracción como la miopía, la hipermetropía y el astigmatismo.

La CRC constituye una alternativa de tratamiento de las ametropías y dado el gran número de cirugías que se realizan en todo el mundo, es crucial establecer sus potenciales complicaciones y averiguar la forma de poder abordarlas lo más satisfactoriamente posible para intentar, de hecho, evitarlas.

La aparición de EOS tras la realización de CRC es la complicación más frecuente, afectando negativamente a la calidad de visión y de vida del paciente, produciendo una película lagrimal disfuncional que induce aberraciones de alto orden y produce, en definitiva, todas las consecuencias conocidas de la EOS.

El estudio de las mejores alternativas de tratamiento ofrecerá una mejor calidad de visión posterior a la CRC. Y así, la utilización de suero autólogo en colirio, una de las nuevas alternativas terapéuticas en el manejo de enfermedades de la superficie ocular en general y de la EOS en particular, podría también ser útil en el manejo de la EOS post-CRC.

El suero autólogo tiene unas propiedades mecánicas y bioquímicas similares a las de la lágrima con la gran ventaja sobre los preparados de lágrimas artificiales de aportar muchos componentes presentes en la lágrima y que se encuentran disminuidos en la EOS, ayudando así a mantener el trofismo de las células epiteliales.

El suero autólogo se ha probado para diferentes aspectos tras la CRC, como son los siguientes:

- Ayuda al proceso de curación después de erosiones corneales recurrentes (Holzer y cols 2005)
- Síntomas de sequedad después de LASIK (Noda-Tsuruya y cols 2006; Eyal y cols 2018)
- Tratamiento de la neuralgia corneal después de LASIK (Aggarwal y cols 2015; Galor y cols 2018; Aggarwal y cols 2019; Siedlecki y cols 2020).
- Alivio de la epitelopatía neurotrófica recalcitrante inducida por LASIK (Lin y cols 2015)
- Aceleración de la curación epitelial después de LASEK (Hondur y cols 2016)
- Reducción del tiempo de la re-epitelización corneal después de la ablación de la superficie (Akcay y cols 2018)

No se ha conseguido encontrar estudios prospectivos comparativos que validen las ventajas del uso del suero autólogo en comparación con el vehículo en el tratamiento de la EOS tras CRC, ni estudios prospectivos y aleatorizados sobre

la utilización del suero autólogo en el post-operatorio inmediato de pacientes sometidos a CRC con ASA.

La realización de un ensayo clínico se justifica por lo antes expuesto y así poder dilucidar si el suero autólogo es capaz de mejorar los síntomas y signos típicos de la EOS que puede inducirse en el post-operatorio inmediato tras CRC de tipo ASA. Si los resultados fueran positivos, se dispondría de un arma terapéutica para aliviar la EOS que con frecuencia ocurre en los 3-6 primeros meses tras CRC.

V. HIPOTESIS DE TRABAJO

El tratamiento con suero autólogo aplicado tópicamente en la superficie ocular es más eficaz que su vehículo en la reducción de la intensidad de los posibles síntomas o signos relacionados con la enfermedad de ojo seco (EOS) que pueden presentarse tras la cirugía refractiva corneal (CRC) de tipo ablación de superficie avanzada (ASA) en el post-operatorio inmediato y hasta los 6 meses siguientes.

VI. OBJETIVOS

El **objetivo general** de este trabajo de investigación clínica ha sido determinar la eficacia de la instilación de suero autólogo comparada con la de su vehículo en la disminución de la intensidad de los síntomas y/o signos asociados con la EOS producida en el post-operatorio inmediato en pacientes sometidos a CRC de tipo ASA, mediante un ensayo clínico de tipo prospectivo, randomizado y doble-enmascarado.

Los **objetivos específicos** de este trabajo han sido los siguientes:

1. Diseñar un ensayo clínico para demostrar la hipótesis de trabajo de manera adecuada, teniendo en cuenta las características intrínsecas de la CRC, las peculiaridades de este tipo de pacientes y el hecho de que se pretendían aplicar múltiples sistemas de medida.
2. Recoger los síntomas y signos propios de la EOS para detectar su posible aparición en el postoperatorio de la CRC y poder evaluar una potencial mejor evolución en el grupo experimental tratado con suero autólogo que en el control tratado con su vehículo.
3. Identificar y evaluar algún signo más característico de la EOS específicamente producida tras cirugía refractiva, es decir, derivada de la alteración que, necesariamente, se produce en la inervación corneal.

4. Analizar la alteración potencial de la sintomatología ocular producida a lo largo de toda la evolución y la influencia temporal y del tratamiento.
5. Establecer la evolución de los signos clínicos evaluados a lo largo del periodo de seguimiento, analizando potenciales diferencias según el curso evolutivo y el grupo de tratamiento.
6. Analizar el cumplimiento de las variables primarias de eficacia elegidas en este ensayo clínico.
7. Establecer la conveniencia o no de protocolizar la prescripción de suero autólogo en el post-operatorio inmediato de la CRC de tipo ASA.

VII. METODOLOGÍA

1. Descripción del estudio

Se trata de un ensayo clínico fase IV, aleatorizado, doble enmascarado y controlado con vehículo en paralelo.

Este estudio fue patrocinado por el Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), Universidad de Valladolid (UVa) y llevado a cabo en su totalidad en el edificio IOBA, Campus Universitario Miguel Delibes de la UVa en Valladolid, España. En ningún caso existieron intereses comerciales en este trabajo.

Este trabajo fue aprobado por la comisión clínica del IOBA y por el comité ético de investigación clínica del área de salud Valladolid-este (CEIC-VA-ESTE-HCUV). (ANEXO I)

Ninguno de los dos productos utilizados en este ensayo es considerado como un medicamento por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS, www.aemps.gob.es), sino que son productos sanitarios. Siguiendo el consejo de la AEMPS (consultado unos meses antes del inicio de este trabajo), no fue necesario remitirlo a dicha agencia para su valoración (como también ratificó el Comité de Investigación Clínica), no fue necesario obtener un número EudraCT y no fue requerido su registro en ninguna base de datos de ensayos terapéuticos con medicamentos.

Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki, las buenas prácticas clínicas (“International Conference of Harmonization”) y la Ley Española de Protección de Datos. Todos los pacientes

fueron ampliamente informados (ANEXO II) y dieron su consentimiento informado por escrito (ANEXO III).

2. Pacientes y visitas del estudio

Se reclutaron, de manera consecutiva, pacientes que acudían a la “Unidad de Cirugía Refractiva y Calidad Visual” del IOBA para realizar un procedimiento de cirugía refractiva como opción correctora de su ametropía, con los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

2.1. Criterios de inclusión

1. Ambos sexos, entre los 20 y 45 años de edad.
2. Diagnosticados de una de las siguientes ametropías: miopía ≤ 10 DP, hipermetropías ≤ 5 DP y/o astigmatismo ≤ 5 DP.
3. Refracción estable ($\pm 0,5$ DP) en el último año.
4. Si eran previamente usuarios de lentes de contacto, tenían que cesar su porte al menos durante 15 días (si eran hidrofílicas) o durante 3 semanas (si eran rígidas gas permeable) antes de la CRC y al menos 5 días antes de la visita inicial del estudio.
5. Paquimetría en córnea central > 500 μm .
6. Topografía corneal con patrón de normalidad de una córnea esférica o astigmática.
7. Pacientes que aceptaran corregir su ametropía mediante CRC de tipo ASA en ambos ojos y que aceptaran y firmaran el consentimiento informado.

8. Los pacientes debían tener capacidad y disposición de cooperar con los requerimientos de estudio, a juicio del investigador principal.

2.2. Criterios de exclusión

1. Presencia de cualquier enfermedad crónica de la superficie ocular, con especial atención a patología producida por lentes de contacto, EOS diagnosticado o alergias oculares de cualquier tipo.
2. Los pacientes podían presentar, obviamente, “discomfort” con el uso de lentes de contacto, siendo esa una de las principales razones por lo que los pacientes se inclinaban por la corrección quirúrgica de su ametropía. No obstante, debían declarar que no tenían síntomas cuando no usaban sus lentes de contacto.
3. Pacientes con valores patológicos en las pruebas que determinaban estabilidad de la película lagrimal, integridad de la superficie ocular y producción lagrimal, tal y como se definirán más adelante.
4. Haber sufrido cualquier proceso inflamatorio-infeccioso agudo de la superficie ocular en los 3 meses anteriores a su inclusión.
5. Haber sufrido una cirugía ocular en los 12 meses anteriores a su inclusión. Cualquier cirugía refractiva anterior suponía motivo de exclusión.
6. Uso de cualquier medicación tópica en los 3 meses anteriores, excepto el uso de lágrimas artificiales ocasionales (menos de tres veces al día).
7. Uso de medicaciones sistémicas con algún efecto potencial en la unidad lagrimal funcional en los últimos 3 meses.

2.3. Visitas del estudio

Cada paciente incluido realizó un total de 8 visitas, tal y como se detalla a continuación y se aprecia también en la tabla 3.

Visita 1 (V1-b): visita basal; realizada entre 7 y 10 días antes de la CRC; el paciente era incluido o excluido, según los criterios mencionados.

Visita 2 (V2-CRC): visita correspondiente al día de la CRC en ambos ojos.

Visita 3 (V3-d1): visita realizada un día post-CRC.

Visita 4 (V4-s1): visita realizada una semana post-CRC.

Visita 5 (V5-s2): visita realizada 2 semanas post-CRC.

Visita 6 (V6-m1): visita correspondiente al primer mes post-CRC.

Visita 7 (V7-m3): visita realizada a los 3 meses post-CRC.

Visita 8 (V8-m6): visita final, correspondiente a los 6 meses post-CRC.

3. Administración de los productos

Cada sujeto incluido fue intervenido en ambos ojos a la vez. Por ello, uno de los dos ojos se incluyó aleatoriamente en el grupo de que recibió suero autólogo tópico al 50% (grupo SAT) mientras que el ojo contralateral recibió el vehículo del suero autólogo, suero salino balanceado (grupo BSS).

La aleatorización fue realizada por la Unidad de Estadística del IOBA y mantenida en una base de datos que cumplía la normativa de la Ley de Protección de Datos y que no fue revelada a los investigadores ni a los pacientes hasta la conclusión y cierre final del estudio, por lo que el ensayo era doble enmascarado.

A cada paciente se le entregaron 12 frascos etiquetados como “ojo derecho” y otros 12 etiquetados como “ojo izquierdo”, que contenían SAT y BSS de forma aleatorizada, como se ha comentado. La entrega se hacía inmediatamente después de la salida del quirófano, en la V2-CRC. Esta entrega fue realizada por el responsable del Laboratorio de Biología Molecular del IOBA (Dr. Roberto Reinoso) junto con instrucciones claras (escritas y verbales) sobre la forma de mantenimiento y refrigeración de los frascos, que frasco aplicar en cada ojo, la forma de aplicarlo y la frecuencia de aplicación. El paciente, pues, era instruido para aplicar una gota, 4 veces al día (repartidas equitativamente durante el tiempo de vigilia) de cada uno de los dos productos según lo que figuraba en la etiqueta de cada colirio. Se aseguró la perfecta comprensión de estas instrucciones, orales y escritas, por parte de cada individuo (Anexo IV). Estos frascos fueron recogidos al inicio de la última visita, V8-m6, por el mismo personal que los entregó.

No se permitió la instilación de ningún otro colirio o unidosis durante la duración del ensayo, aunque si el paciente creía necesitar alguna instilación más o notaba algún problema, era necesario que lo comunicara rápidamente.

4. Procedimiento quirúrgico

En todos los pacientes se realizó el mismo protocolo de CRC de tipo ASA utilizando la plataforma de láser excímer Allegretto Wave® Eye-Q (Alcon, Forth Worth, TX, USA) en el área quirúrgica del IOBA. En todos los casos, el cirujano fue el mismo (Prof. Dr. Miguel Maldonado). Los perfiles de ablación disponibles para dicha

plataforma de láser excimer fueron: “wavefront optimized” (ablación optimizada por frente de onda) y “wavefront-guided” (ablación guiada por frente de onda).

Todos los colirios y soluciones que se iban a utilizar en el tiempo quirúrgico se mantuvieron en frío previamente y durante la cirugía. Tres días antes de la CRC, se instruyó al paciente para hacer limpieza de los bordes palpebrales y pestañas con toallitas. Los detalles del preoperatorio se encuentran en el anexo V y los de post-operatorio se encuentran en el anexo VI.

Los pasos seguidos para efectuar la cirugía fueron los siguientes:

1. Toma de un comprimido de alprazolam 0,5 mg (Trankimazin® 0,5 mg, Pfizer Italia S.R.L.), 30 minutos antes de la cirugía.
2. Ambos ojos del sujeto fueron operados al mismo tiempo, aunque sólo se incluyó un ojo en el estudio, como ya se ha explicado.
3. Instilación de lidocaína al 2% sin conservantes (B/Braun, Barcelona, España) 20 minutos antes de la cirugía, repitiendo una segunda gota 10 minutos tras la primera.
4. Se realizó la asepsia del área periorcular con povidona yodada al 10% (Betadine, Meda Manufacturing, Bordeaux, Francia); se procedía luego a la cobertura del ojo contralateral y colocación de campo quirúrgico amplio, aislante de pestañas.
5. En la mesa quirúrgica se instiló una nueva gota de lidocaína al 2% sin conservantes y una gota de povidona yodada al 5%.

6. En caso de corrección de astigmatismo, se alineó la cabeza del paciente con guía de la plataforma en el eje 0-180°, previamente marcado en la lámpara de hendidura.
7. Se aplicó etanol al 20% (alcohol absoluto diluido) a la córnea central utilizando un marcador de zona óptica de 9 mm de diámetro, presionando sobre la superficie corneal, durante 30 segundos; posteriormente, se absorbía mediante una esponja microquirúrgica (Keraspear® Eye-Spear, Medtronic Xomed, Inc. Laboratorios Alcon, Fort Worth, Texas, USA). Por último, se hacía un lavado con BSS para minimizar la toxicidad sobre las células madre limbares.
8. Se procedía luego a la retirada del epitelio con espátula (trefina), irrigación con BSS y limpieza de la superficie corneal con esponja microquirúrgica seca.
9. Finalmente, se realizaba la ablación quirúrgica asistida con láser excímer con una zona óptica de 6,5 mm y una zona de transición a 9 mm o correspondiente al perfil de ablación y defecto refractivo planeado previamente.
10. Posteriormente, se realizaba irrigación con BSS y limpieza de la superficie corneal con esponja microquirúrgica seca.
11. Para terminar, se procedía a la colocación de lente de contacto terapéutica de $0 \pm 0,50$ DP (Acuvue Oasys®, Johnson&Johnson Vision Care Inc., Jacksonville, FL, USA) en ambos ojos durante los 6 días siguientes.
12. Inmediatamente después, se instauraba el tratamiento post-operatorio, que incluía medicación tópica antibiótica, anti-inflamatoria y lágrimas artificiales (ANEXO VI).

5. Pruebas diagnósticas

A continuación, se detalla el procedimiento seguido para la realización de las pruebas diagnósticas, como ya ha reportado nuestro grupo de investigación (Tesón y cols 2012; López-de la Rosa y cols 2016; Pinto-Fraga y cols 2016; López-De la Rosa y cols 2018). Se detallan, además, en el orden cronológico en el que se llevaron a cabo, importante para que haya la menor interferencia posible entre ellas (ANEXO VII).

Agudeza visual. Se midió la agudeza visual central de lejos sin corrección y con corrección utilizando el test estandarizado digital (LogMAR ETDRS) Early Treatment Diabetes Retinopathy Study chart (CC-100XP, Topcon Corporation, Tokio, Japón) (ANEXO VIII).

Osmolaridad lagrimal. Se evaluó usando el sistema de diagnóstico *in vitro* del dispositivo TearLab Osmolarity System (TearLab Corporation, San Diego, CA, USA), diseñado para recolectar y analizar la osmolaridad lagrimal en una muestra de 50 nL de lágrima. Antes de proceder a la toma de cualquier medición, se comprobó la calibración del TearLab siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras de lágrima fueron obtenidas con el lápiz del TearLab del canto externo del ojo de forma no traumática (Figura 18-A). Se empleó un cabezal desechable para cada medida y se realizó una medida por ojo (Figura 18-B). Se utilizó el valor recomendado de 308 mOsm/L como criterio de corte indicador de EOS (Wolffsohn

y cols, Diagnostic Methodology Report DEWS II, 2017; Tomlinson y cols 2006; Jacobi y cols 2011; Lemp y cols 2011). (Figura 18-B).



FIGURA 18. A) Toma de muestra de lágrima (50 nL) en un paciente del IOBA; B) Equipo TearLab (TearLab Corporation) del IOBA: Valor en mOsm/l (1), microcapilar (2), lápiz (3).

Cuestionario OSDI (“ocular surface disease index”, índice de enfermedad de la superficie ocular). Se utilizó la versión en español homologada (Shiffman y cols 2000; Walt 2004). El propósito de este cuestionario es evaluar la presencia o ausencia de síntomas de EOS y la gravedad de los mismos (normal, leve, moderada, severa) durante la semana previa. Consta de un total de 12 preguntas divididas en tres bloques (ANEXO IX). El cuestionario fue rellenado por el paciente, sin que el investigador hiciera las preguntas o indujera ninguna respuesta. Además, se les explicó que debido a la necesidad de evaluar cada ojo por separado, debían de rellenar un cuestionario OSDI para cada ojo, intentando concentrarse bien es responderlos de manera independiente.

Para obtener el índice OSDI, el examinador sumó las puntuaciones obtenidas en cada uno de los bloques, obteniendo los valores A, B, C y D. Posteriormente, se

aplicó la fórmula proporcionada por el cuestionario para su cálculo:
 $OSDI=(A+B+C+D) \times 25 / \text{número total de preguntas contestadas}$.

Este índice OSDI varía en una escala de 0 a 100, en el que una puntuación mayor representa una mayor discapacidad. Este índice permitió categorizar al sujeto en uno de los rangos sintomáticos de EOS establecidos para este cuestionario), de forma que una puntuación final ≤ 12 indicaba normalidad, entre 13-22 indicaba sintomatología leve, entre 23-32 EOS moderado y una puntuación entre 33-100 indicaba sintomatología grave (Miller y cols 2010).

Hiperemia conjuntival bulbar. La hiperemia conjuntival se evaluó mediante biomicroscopía de polo anterior con lámpara de hendidura (SL-8z, Topcon corporation, Tokio, Japón), valorando áreas nasales y temporales de la conjuntiva bulbar de forma independiente, sobre la base de la escala subjetiva de Efron (Efron 1998) que establece un rango de 0 a 4 (Anexo X); el resultado final fue la media de ambas zonas.

Examen del segmento anterior con lámpara de hendidura. Se realizó un examen exhaustivo de evaluación de seguridad del segmento anterior para asegurar que no existían enfermedades oculares excluyentes en V1-b y, en el resto de visitas, como criterio de evaluación de seguridad.

Tiempo de ruptura de la película lagrimal “break-up time” (TBUT). Se evaluó como una medida indirecta de la estabilidad de la película lagrimal. Se utilizaron tiras de fluoresceína (Fluorets, Chauvin, Aubenas, Francia) previamente

humedecidas con una solución salina sin conservantes (NaCl 0,9% 10 ml, B/Braun). El TBUT fue valorado con el filtro azul cobalto de la lámpara de hendidura, interponiendo un filtro amarillo Wratten num. 12 (Eastman Company, Rochester, NY, USA). Se midió en segundos el intervalo de tiempo entre el último de tres parpadeos y la aparición del primer punto negro o de la discontinuidad de la tinción con fluoresceína de la película lagrimal. El procedimiento se repitió 3 veces para obtener un valor promedio.

Se consideraron valores normales de TBUT los superiores a 7 segundos. Tomando este valor como punto de corte, se consigue una buena sensibilidad (77,8%), aunque una baja especificidad (38,9%) (Vitali y cols 1994; Sullivan y cols 2010).

Tinción corneal con fluoresceína. Para esta tinción, se utilizaron las mismas tiras de fluoresceína humedecidas con suero fisiológico que ya se usaron para el TBUT, así como el mismo filtro. Tras la instilación, dos minutos más tarde, se evaluó la tinción corneal en la lámpara de hendidura, con las mismas condiciones establecidas para el TBUT. Se utilizó la escala Oxford para la puntuación, que incluye 5 paneles (grado de 0 a 5) que representan diferentes grados de tinción corneal y conjuntival (Bron y cols 2003) (ANEXO XI). Se consideraron anormales las tinciones mayores de 1 (Whitcher y cols 2010).

Tinción conjuntival con verde de lisamina. La tinción conjuntival se evaluó usando tiras de verde de lisamina (GreenGlo; HUB Pharmaceuticals LLC, Rancho Cucamonga, CA, USA) que fueron humedecidas con solución salina sin conservantes. La tira humedecida fue aplicada suavemente en el fondo de saco

inferior. La conjuntiva bulbar nasal y temporal se evaluó un minuto después de la instilación y de forma independiente y el valor final se obtuvo del promedio de ambos valores, a través de la fuente de luz blanca de la lámpara de hendidura según la escala de Oxford comentada más arriba (Bron y cols 2013). Se consideraron anormales las tinciones mayores de 1 (Whitcher y cols 2010).

Estesiometría corneal mecánica y térmica. Se utilizó el estesiómetro de gas (no contacto) de Belmonte (amablemente cedido por el Prof. Carlos Belmonte, Instituto de Neurociencias, Alicante) para la medida de la sensibilidad corneal, determinando los umbrales de la sensibilidad mecánica y térmica (calor y frío) de la zona central de la córnea del sujeto, como se ha descrito previamente por nuestro grupo de trabajo (Tesón y cols 2012; López-de la Rosa y cols 2016), siguiendo las directrices previamente publicadas por el grupo de trabajo del Prof. Belmonte (Belmonte y cols 1999; Belmonte y cols 2004). Dicho estesiómetro se encuentra dentro del CELab (“Controlled Environment Laboratory”, Vision R&D www.visionrd.com), en el edificio IOBA (figura 19).



FIGURA 19. Modelo de estesiómetro de gas o de Belmonte del IOBA, cedido por el Prof. Carlos Belmonte. Se muestra la unidad central del estesiómetro de gas (imagen de la izquierda) que se encuentra conectado al cabezal que lanza el estímulo de aire (imagen de la derecha). Imagen cedida por el IOBA.

Esta prueba se realizó en ambos ojos y siguiendo el protocolo establecido, se hizo primero en el ojo derecho.

La salida del flujo del cabezal del estesiómetro fue mantenida perpendicular a la superficie corneal y a 5 mm del ápex central. El centrado, la distancia y la toma de medidas fueron controladas durante la duración completa de la prueba por el investigador mediante dos reglas milimetradas forradas con silicona (Medgel) en su extremo, incluidas en el soporte del cabezal del estesiómetro, que se sitúa a su vez sobre la lámpara de hendidura.

Determinación del umbral mecánico. La sensibilidad mecánica se determinó enviando al ojo un flujo controlado de aire medicinal, cuyo rango oscila entre 0 y 200 ml/min, manteniendo una temperatura constante en el estesiómetro de 50°C para que el estímulo lanzado a 5 mm del ápex corneal alcanzara la córnea a $34\pm 1^{\circ}\text{C}$, temperatura basal de la misma. Para la determinación del umbral mecánico, se empezó enviando un estímulo de 10 ml/min, aumentando en pasos de 20 ml/min hasta que el sujeto refería notar el estímulo. Posteriormente, se fue reduciendo el flujo en pasos de 5 ml/min hasta que el sujeto dejara de notarlo. En este punto, se aumentó el flujo progresivamente en pasos de 1ml/min hasta que el sujeto comenzara a notarlo de nuevo. El flujo de éste último estímulo, medido en ml/min se consideró como el valor del umbral mecánico.

Determinación del umbral térmica (calor y frío). Los umbrales de la sensibilidad térmica, tanto al frío como al calor, se determinaron variando la temperatura del flujo de aire enviado al ojo (rango 0-95, 5°C), manteniendo de nuevo el flujo de aire medicinal siempre un mínimo de 10ml/min por debajo del valor del umbral mecánico

previamente considerado para cada sujeto, a fin de no inducir la estimulación de los receptores mecano-sensoriales.

Para determinar el umbral térmico al calor, se comenzó enviando un estímulo a una temperatura 10°C superior a la temperatura fijada en el estesiómetro como basal, es decir 60°C, aumentando en pasos de 10°C hasta que el sujeto refiriera notar el estímulo. Posteriormente, se fue disminuyendo la temperatura en pasos de 5°C hasta que el sujeto dejara de notarlo. A continuación, se aumentó de nuevo la temperatura a la que se enviaba el estímulo en pasos de 1°C hasta que el sujeto comenzara a notar de nuevo el estímulo. La temperatura a la que se enviaba este último estímulo, transformada a temperatura corneal mediante la fórmula $Y=0,08x-3,9$; medido en °C, se consideró como el valor del umbral térmico al calor.

Para determinar el umbral térmico al frío se comenzó enviando un estímulo a una temperatura 10°C inferior a la temperatura fijada en el estesiómetro como basal es decir, 40°C, disminuyendo en pasos de 10°C hasta que el sujeto refiriera notar el estímulo. Posteriormente, se fue aumentando la temperatura en pasos de 5°C hasta que el sujeto dejara de notarlo. A continuación, se hizo descender de nuevo la temperatura a la que se enviaba el estímulo en pasos de 1°C hasta que el sujeto comenzara a notar de nuevo el estímulo. La temperatura a la que se enviaba este último, transformada a temperatura corneal mediante la fórmula $Y=0,08x-3,9$; medido en °C, fue considerado como el valor del umbral térmico al frío.

Los valores normales con los que se compararon los de los pacientes de este estudio pertenecen a una serie publicada por nuestro grupo de trabajo, realizada con el mismo aparato, en las mismas instalaciones (CELab) y con el mismo protocolo (López-de la Rosa y cols 2016). Estos valores normales fueron $116,05 \pm$

40,37 para el umbral mecánico, $1,78 \pm 1,07$ para el umbral térmico de calor y $-2,42 \pm 0,84$ para el umbral térmico al frío.

Test de Schirmer I con anestesia tópica. Tras instilación de una gota de anestesia tópica (1 mg de tetracaína clorhidrato y 4 mg de oxibuprocaina clorhidrato; Colircusí Anestésico Doble, Alcon Cusi, S.A., Barcelona), se esperó 2 minutos y se colocó una tira de filtro estandarizada Schirmer estéril de 5x35 mm (Schirmer Tear Test Strips; Alcon Laboratories, Inc., Fort Worth, TX, USA) en el canto lateral del margen del párpado inferior ambos ojos, evitando el contacto con la córnea. La longitud de humectación era medida después de 5 minutos cronometrados, con los ojos cerrados. Se consideró un valor de corte de diagnóstico menor de 5 mm en 5 minutos (Revisados en Lemp y cols 2007; Wolffsohn y cols, Diagnostic Methodology report DEWS II 2017).

Medidas de seguridad. En todas las visitas tras V2-CRC, se preguntó por la posibilidad de efectos adversos, problemas de cualquier tipo, y se realizó, siempre, una evaluación del segmento anterior en lámpara de hendidura.

6. Resumen de las visitas del estudio

Finalmente, en la tabla 3, se recogen las pruebas que se realizaron en cada una de las visitas del estudio y según el orden cronológico en que se llevaron a cabo.

Como se puede apreciar, las visitas en las que se recogieron las variables del estudio fueron V1-b, V6-m1, V7-m3 y V8-m6, es decir, se analizaron los datos antes de la CRC y a los meses 1, 3 y 6 post-CRC.

La V2-CRC es en la que se realizó la CRC y las visitas 3-5 (V3-d1, V4-s1 y V5-s2) fueron visitas de seguridad, necesarias para garantizar la evolución correcta de los pacientes, pero en las que no se realizaron las pruebas del estudio.

Tabla 3. Pruebas diagnósticas y procedimientos realizados en orden cronológico en cada una de las 8 visitas que comprendieron el estudio.

Prueba diagnóstica o procedimiento	Visita 1 (V1-b) 7-10 días pre-CRC	Visita 2 (V2-CRC) Día de la CRC	Visitas 3-5 (V3-d1, V4-s1, V5-s2) 1, 7, 14 días post-CRC	Visita 6 (V6-m1) 1 mes post-CRC	Visita 7 (V7-m3) 3 meses post-CRC	Visita 8 (V8-m6) 6 meses post-CRC
Criterios inclusión/exclusión	X					
Firma consentimiento informado	X					
Historia clínica	X					
CRC tipo ASA		X				
Agudeza visual (EDTRS)	X			X	X	X
Osmolaridad lagrimal (TearLab)	X			X	X	X
Cuestionario OSDI	X			X	X	X
Hiperemia conjuntival bulbar	X			X	X	X
Recogida de lágrima (1 μ l) para determinación de moléculas mediante tecnología multiplex)*	X			X	X	X
Examen segmento anterior con lámpara de hendidura (BPA-LH)			X	X		
Tiempo de ruptura lagrimal-TBUT	X			X	X	X
Tinción corneal con fluoresceína	X			X	X	X
Tinción conjuntival verde Lisamina	X			X	X	X
Sensibilidad corneal (estesiómetro de gas de Belmonte)	X			X	X	X
Test de Schirmer con anestesia	X			X	X	X
Recogida de efectos adversos			X	X	X	X
Entrega (E) / Recogida (R) de los productos del ensayo		E				R

*esta evaluación forma parte de la publicación de esta tesis, pero no se incluye en esta memoria

b = basal; d = día; s = semana; m = mes

CRC = cirugía refractiva corneal

ASA = ablación de superficie avanzada

OSDI = "ocular surface disease index" (índice de enfermedad de la superficie ocular)

ETDRS = "early treatment diabetic retinopathy study"

7. Criterios de evaluación de eficacia

En este trabajo, no se parte de una enfermedad que se pretendiera mejorar con SAT o BSS (tal y como lo entendió la AEMPS tras la consulta realizada, ver más arriba). Se parte de una muestra de sujetos sanos que iban a hacerse una cirugía electiva, evaluando cuál de dos tratamientos proporcionaría una evolución más favorable. Por ello, se hacía difícil la definición de criterios de éxito siguiendo las recomendaciones de un ensayo farmacológico, en el que se parte de individuos enfermos, con criterios claros que necesitan mejoría. No obstante, se trató de seguir los criterios de la mayoría de los ensayos clínicos y, así, se evaluaron síntomas y múltiples signos.

Se definió como criterios primarios de éxito una evolución más favorable, estadísticamente significativa, con SAT que con BSS en algunos de los dos signos en que se creyó que podrían mostrarse diferencias: osmolaridad lagrimal o estesiometría corneal.

Cualquier mejoría favorable de SAT frente a BSS en algún otro signo (AV, hiperemia, TBUT, tinciones vitales, test de Schirmer) se consideró un criterio secundario de éxito.

La evolución de los síntomas (evaluados con el cuestionario OSDI) se definió como un criterio secundario de éxito ya que se consideró que, al partir de sujetos sanos que se someten a una cirugía electiva, no presentarían sintomatología significativa susceptible de disminuir. Además, también se consideró que los sujetos tendrían cierta dificultad para poder aislar los síntomas que tuvieran al ojo en

concreto por el que se les preguntaba con el cuestionario OSDI una vez realizada la cirugía.

8. Análisis estadístico

El análisis estadístico ha sido realizado en la Unidad de Estadística del IOBA, por la Dra. Itziar Fernández, utilizando el paquete estadístico R versión 3.1.1 (R Core Team; Fundación para la Computación Estadística, Viena, Austria; URL: <https://www.R-project.org/>). Se consideraron estadísticamente significativos los valores de $p \leq 0,05$.

Como el objetivo era evaluar la diferencia entre tratamientos en función de la variable de mayor interés para este trabajo (la osmolaridad lagrimal), el diseño era pareado y cada tratamiento en un ojo del mismo paciente, la determinación del tamaño muestral se realizó para que, dada una diferencia entre tratamientos clínicamente relevante (12 ± 17), el contraste t-Student para dos muestras pareadas resultara estadísticamente significativo con un nivel de significación de 0,05 y potencia estadística de 0,8. Se obtuvo un tamaño muestral de 18 por brazo de tratamiento. Para tener en cuenta las posibles pérdidas a lo largo del estudio, se calculó tener que añadir un 10% en cada brazo del estudio si fuera necesario. Los cálculos se realizaron utilizando el *package samplesize* [Scherer, 2012] de R versión 3.1.1 [R Core Team, 2014].

Para cada una de las variables cuantitativas analizadas, se ajustaron modelos lineales mixtos para evaluar su evolución a lo largo del tiempo de junto con el efecto del tratamiento. En el caso de las variables de naturaleza ordinal, se utilizaron

modelos logit mixtos acumulados. En todos los casos, el paciente fue incluido en el modelo como factor aleatorio. Para llevar a cabo este análisis, se utilizaron los paquetes de R `lme4` (Bates y cols 2015) y `lmerTest` (Kuznetsova y cols 2018) en el caso de las variables cuantitativas y ordinal (Christensen 2013) para las variables ordinales.

Los datos para cada variable se han expresado utilizando la media y sus intervalos de confianza del 95% (IC 95%).

Los efectos fueron cuantificados estimando las medias marginales y utilizando el paquete de R `lsmeans` (Lenth 2016). También se estimaron las diferencias de medias, utilizando el método de Tukey para el ajuste por comparaciones múltiples.

Para comparar los ojos en cada visita, se contrastó la hipótesis de igualdad de medias para dos muestras pareadas, utilizando el contraste t-Student, o su equivalente no paramétrico, el test de Wilcoxon, dependiendo de que fuera posible o no asumir normalidad.

Para comparar las visitas en cada uno de los dos grupos de tratamiento, se utilizó el test de Friedman. Con este método se contrastó la hipótesis global de que la distribución de la variable correspondiente fuera la misma para todas visitas. Para evaluar específicamente entre cuales de las visitas había diferencias significativas, se compararon las visitas dos a dos, contrastando la hipótesis de simetría para medidas repetidas, a partir de un test basado en permutaciones implementado en el paquete de R `coin` (Hothorn y cols, 2008).

VIII. RESULTADOS

Para este estudio, se reclutaron un total de 18 pacientes, 11 (61,11%) mujeres y 7 (38,89%) varones, de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión. Es decir, la muestra total se compone de 36 ojos. Su edad media fue de 34,61 (IC 95%: 31,73 – 37,50) (rango: 27 – 46) años, sin diferencia significativa entre hombres y mujeres ($p=0,156$).

De los 18 pacientes, 13 habían usado lentes de contacto antes de la CRC y ninguno de ellos usaba lágrimas artificiales habitualmente antes de ser reclutado en este estudio.

La media de la refracción con cicloplejia plano esférico en la visita basal (V1-b) fue de -4.38 (IC 95%: -5,53 – (-3,22)) (rango: -10.00 – (-1.25)) DP en los ojos del grupo SAT y de -4.03 (IC 95%: -4.87 – (-3.19)) (rango: -8,00 – (-1,50)) DP en el grupo BSS, sin que hubiera diferencias significativas entre ambos ($p=0,2443$ y $p=0,4804$ respectivamente).

Ninguno de los individuos reclutados abandonó el estudio. No hubo efectos adversos durante la evolución del estudio y ninguno necesitó añadir lágrimas artificiales, otra medicación o ningún otro producto diferente a los del estudio.

No se detectaron anomalías en el examen con lámpara de hendidura en ninguna de las visitas, incluidas las V3-d1, V4-s1 y V5-s2, en las que no se determinaron medidas específicas del estudio, sino que fueron visitas de evaluación de seguridad. La cicatrización propia de la CRC siguió un curso evolutivo normal en todos los ojos.

Para cada una de las variables diagnósticas estudiadas, se presentarán primero los datos de evolución temporal, es decir, los obtenidos para cada tratamiento por separado en cada una de las visitas de seguimiento, al primer, tercer y sexto mes (evaluación intragrupo). A continuación, se hará una comparación evolutiva intergrupo, es decir entre los dos grupos, SAT y BSS, en cada uno de los tiempos evolutivos (evaluación del tratamiento).

1. Agudeza visual (AV)

Las variaciones intragrupo e intergrupo para esta variable y su significancia pueden verse en la figura 20.

En general, la AV sin corrección en logMar mejoró muy rápidamente en ambos grupos entre la visita basal (V1-b) y el primer mes después de la cirugía (V6-m1), con diferencias significativas ($p < 0.0001$). En las siguientes visitas, la V7-m3 y la última visita en el sexto mes post-CRC (V8-m6), la ganancia visual fue ya menor, estabilizándose a los 3 meses.

Comparaciones intragrupo

Grupo SAT. La AV media sin corrección en las sucesivas visitas fue la siguiente: 0,96 (IC 95%: 0,82 – 1,09) en la visita basal (V1-b); 0,15 (IC 95%: 0,05 – 0,26) en el primer mes post-CRC (V6-m1); -0,01 (IC 95%: -0,06 – 0,04) en el tercer mes post-CRC (V7-m3) y -0,07 (IC 95%: -0,13 – (-0,01)) en el sexto mes postquirúrgico (V8-m6). En este grupo, las diferencias entre todas las visitas fueron significativas ($p < 0,001$), salvo entre los 3 y 6 meses.

Grupo BSS. La AV media sin corrección en V1-b fue de 0,96 (IC 95%: 0,84 – 1,08); en V6-m1 fue de 0,07 (IC 95%: -0,03 – 0,17); en V7-m3 fue de 0 (IC 95%: -0,08 –

0,08); y en V8-m6 fue de -0,04 (IC 95%: -0,08 – 0). En este grupo control, las diferencias en ganancia visual resultaron significativas ($p < 0,001$) en todas las visitas salvo entre el primer mes y los 3 meses y entre los 3 y 6 meses.

Comparaciones intergrupo

Al comparar la AV entre los ojos que recibieron SAT y los que recibieron BSS, ésta fue significativamente superior en el grupo BSS en el primer mes tras la CRC. Posteriormente, en V7-m3 y V8-m6, las AV fueron ya similares en ambos grupos.

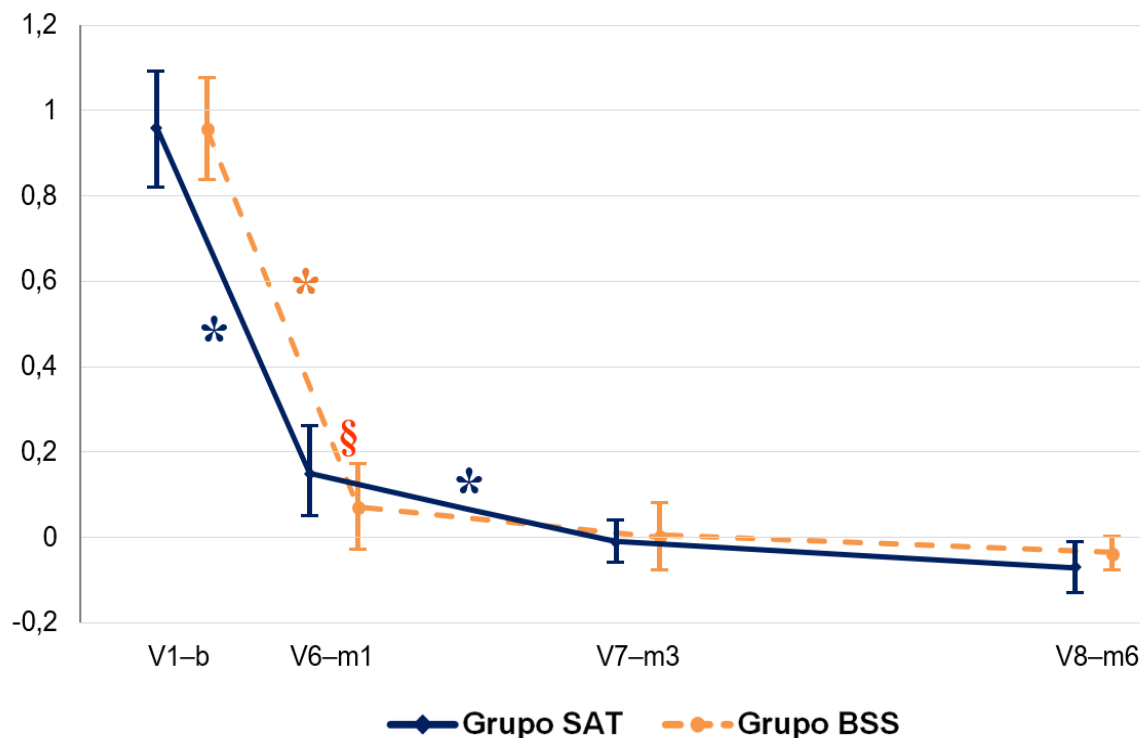


FIGURA 20. Agudeza visual (AV) en LogMAR expresada como la media y sus intervalos de confianza del 95% en ambos grupos en la visita basal (V1-b), al primer mes post-cirugía refractiva (V6-m1), a los 3 meses (V7-m3) y en la visita final a los 6 meses (V8-m6). La evolución de la AV es muy similar entre ambos grupos de tratamiento, sólo siendo significativamente superior en el primer mes en el grupo tratado con BSS. SAT, suero autólogo tópico; BSS, solución salina balanceada.

. Diferencias estadísticamente significativas intragrupo.

§ Diferencias estadísticamente significativas intergrupo.

2. Osmolaridad lagrimal

La osmolaridad lagrimal fue medida con el osmómetro TearLab y se consideraron valores anormalmente altos aquellos superiores a 308 mOsm/L, como se ha reflejado en la metodología. Las variaciones intragrupo e intergrupo para esta variable y su significancia estadística se observan en la figura 21.

Como puede apreciarse, la osmolaridad lagrimal estaba anormalmente elevada en la V1-b, antes de la cirugía, en ambos grupos de tratamiento. Tras la CRC, este parámetro disminuyó de forma progresiva a lo largo de los 6 meses de seguimiento.

Comparaciones intragrupo

Grupo SAT. La media de la osmolaridad lagrimal en la visita basal (V1-b) fue de 311,44 (IC 95%: 304,30 – 318,59); en la V6-m1 fue de 306,5 (IC 95%: 298,02 – 314,98); en la V7-m3 fue de 306,44 (IC 95%: 300,98 – 311,91) y, en la visita final, V8-m6 fue de 301,72 (IC 95%: 297,59 – 305,85).

Las diferencias entre visitas en el grupo SAT no son significativas en ningún caso, aunque entre la visita basal y el sexto mes el p-valor se queda al borde de la significación ($p=0,061$).

Grupo BSS. La media de la osmolaridad lagrimal en la visita basal (V1-b) fue de 315,22 (IC 95%: 305,30 – 325,15); en la V6-m1 fue de 314 (IC 95%: 305,03– 322,97); en la V7-m3 fue de 302,00 (IC 95%: 296,43 – 307,57); y en la V8-m6 fue de 303,06 (IC 95%: 295,98 – 310,13).

En este grupo hay diferencias estadísticamente significativas entre la visita basal comparada con el tercer ($p=0,0104$) y sexto ($p=0,0212$) mes y, además, entre el primer y tercer mes ($p=0,002$) y entre el primer y sexto mes post-CRC ($p=0,0167$).

Comparaciones intergrupo

Cuando se comparó el efecto del tratamiento en las diferentes visitas evolutivas, se comprobó que la osmolaridad lagrimal estaba anormalmente alta en ambos grupos antes de la cirugía (V1-b), pero sin diferencias significativas. Sin embargo, al primer mes (V6-m1), la osmolaridad lagrimal ya se normalizó en los ojos que recibieron SAT, pero aún permanecía elevada en los ojos que recibieron BSS, siendo esta diferencia significativa ($p=0,0187$). Al tercer y sexto mes, las diferencias se redujeron y ya no hubo diferencias significativas que pudieran atribuirse al tratamiento.

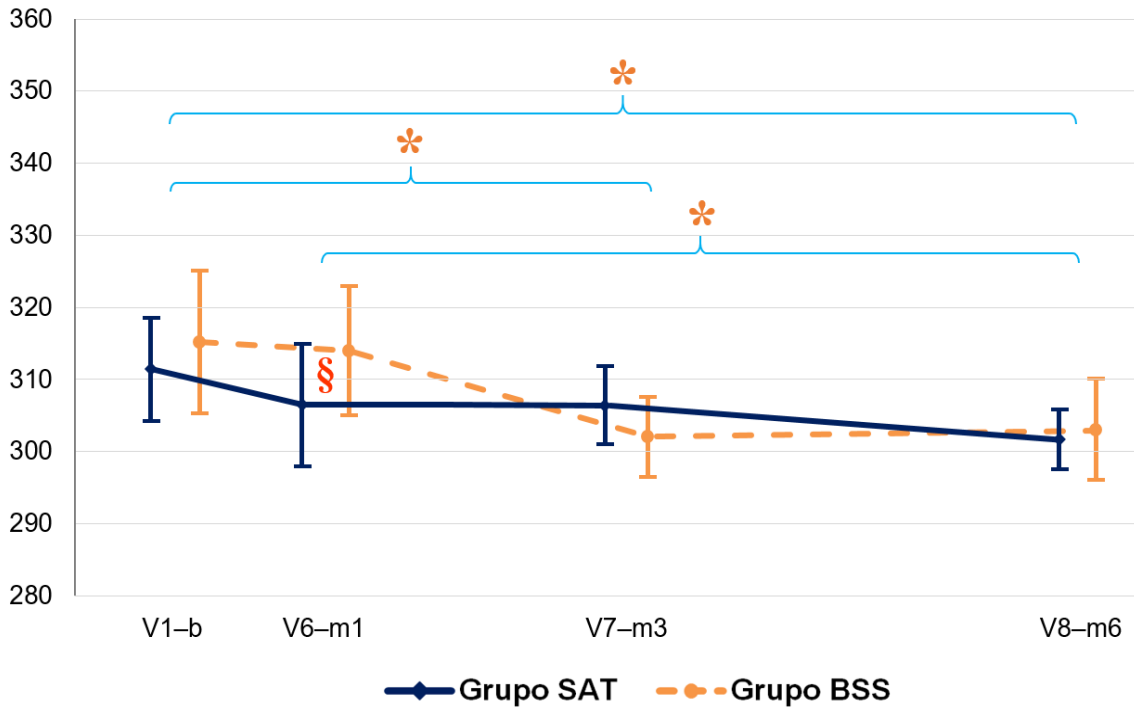


FIGURA 21. Osmolaridad lagrimal en mOsm/L expresada como la media y sus intervalos de confianza del 95% en ambos grupos en la visita basal (V1-b), al primer mes post-cirugía refractiva (V6-m1), a los 3 meses (V7-m3) y en la visita final a los 6 meses (V8-m6). Las barras en cada valor medio representan la desviación estándar. Se observan valores patológicos antes de la cirugía en ambos grupos, que disminuyen más rápidamente en el grupo SAT, normalizándose ya en el primer mes; sin embargo, la osmolaridad lagrimal no se normaliza en el grupo BSS hasta el tercer mes post-quirúrgico. SAT, suero autólogo tópico; BSS, solución salina balanceada.

*,*Diferencias estadísticamente significativas intragrupo.

§Diferencias estadísticamente significativas intergrupo.

3. Cuestionario OSDI

Respecto a los síntomas, evaluados con el cuestionario OSDI, la figura 22 muestra las variaciones intragrupo e intergrupo y su significancia estadística.

Se observó una curva prácticamente idéntica para ambos grupos de tratamiento. Los valores del OSDI en la visita pre-quirúrgica fueron anormalmente elevados, estando en el límite inferior de lo considerado como sintomatología grave

(rango: 33-100). Esta puntuación fue disminuyendo, es decir, los síntomas fueron mejorando de forma paulatina en el primer y tercer mes, llegando a valores de normalidad (≤ 12 puntos) al sexto mes post-CRC en ambos grupos, es decir, los pacientes estaban ya asintomáticos al final del seguimiento.

Comparaciones intragrupo

Grupo SAT. La media del OSDI en la visita basal (V1-b) fue de 34,11 (IC 95%: 24,90 – 43,32); 24,37 (IC 95%: 14,57 – 34,17) en la V6-m1; en la V7-m3 fue de 16,38 (IC 95%: 6,99 – 25,77); y en la última visita, V8-m6, fue de 10,47 (IC 95%: 5,31 – 15,63).

Grupo BSS. La media del OSDI en la visita basal (V1-b) fue de 34,22 (IC 95%: 25,09– 43,36); en la (V6-m1) fue de 24,53 (IC 95%: 14,73– 34,34); en la (V7-m3) fue de 15,34 (IC 95%: 7,17– 23,50); y en la (V8-m6) fue de 10,35 (IC 95%: 5,15– 15,34).

En ambos grupos, SAT y BSS, resultaron significativas las diferencias entre la visita basal (V1-b) con respecto al tercer ($p=0,0048$ y $p=0,0024$, respectivamente) y sexto ($p=0,0004$ y $p=0,0001$, respectivamente) mes post-CRC, así como entre el primer y sexto mes post-CRC ($p=0,0033$ y $p=0,0332$).

Comparaciones intergrupo

No se apreciaron diferencias significativas entre tratamientos en ninguna de las visitas.

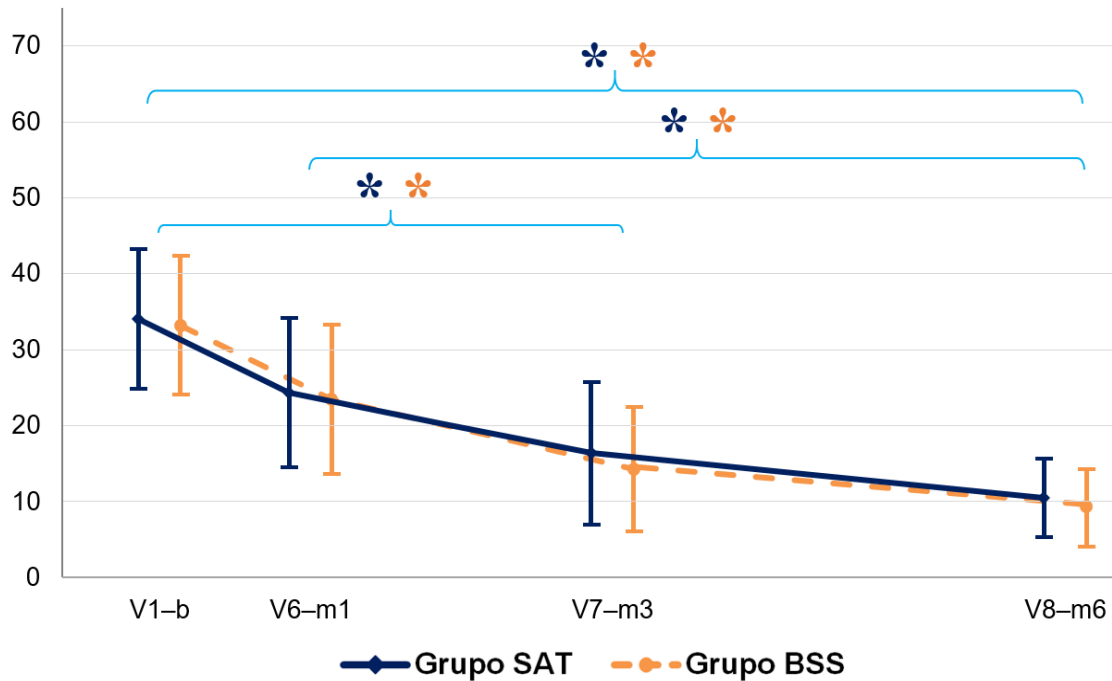


FIGURA 22. Resultados del cuestionario de enfermedad de la superficie ocular (OSDI) expresados como la media y sus intervalos de confianza del 95% en ambos grupos en la visita basal (V1-b), al primer mes post-cirugía refractiva (V6-m1), a los 3 meses (V7-m3) y en la visita final a los 6 meses (V8-m6). Las barras en cada valor medio representan la desviación estándar. La puntuación OSDI, anormalmente elevada antes de la cirugía, va disminuyendo progresivamente hasta alcanzar valores normales a los 6 meses y con igual perfil en ambos grupos. SAT, suero autólogo tópico; BSS, solución salina balanceada.

, Diferencias estadísticamente significativas intragrupo.

4. Hiperemia conjuntival bulbar

Las variaciones intragrupo e intergrupo de este signo clínico, evaluado según la escala de Efron en la lámpara de hendidura (rango: 0 - 4), así como las significaciones estadísticas pueden verse en la figura 23. Como puede observarse, existió un nivel mínimo de hiperemia (1) que permaneció bastante similar antes de la CRC y en los diferentes tiempos post-quirúrgicos.

Comparaciones intragrupo

Grupo SAT. La hiperemia media en la visita basal (V1-b) y en la V6-m1 fue de 1 (IC 95%: 1 – 1); en la V7-m3 y en la visita final (V8-m6) fue de 1 (IC 95%: 1 – 2).

Grupo BSS. La hiperemia conjuntival fue idéntica en la visita basal (V1-b) que al primer y a los 3 meses post-CRC, con un valor medio de 1 (IC 95%: 1 – 1); en la V8-m6, la media también fue de 1 (IC 95%: 1 – 2).

No se apreció ninguna significación estadística atribuible al efecto del tiempo evolutivo.

Comparaciones intergrupo

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la visita basal y el primer, tercer y sexto mes postquirúrgicos al comparar ambos grupos evaluados.

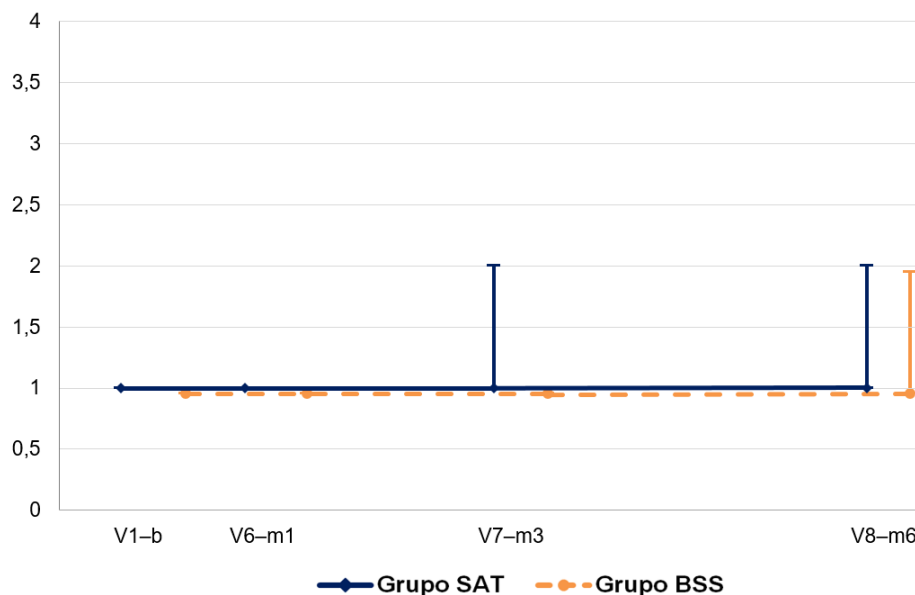


FIGURA 23. Hiperemia conjuntival bulbar expresada como la media y sus intervalos de confianza del 95% en ambos grupos en la visita basal (V1-b), al primer mes post-cirugía refractiva (V6-m1), a los 3 meses (V7-m3) y en la visita final a los 6 meses (V8-m6). Las barras en cada valor medio representan la mitad de la desviación estándar. El nivel mínimo de hiperemia permanece constante, sin diferencias atribuibles ni al tiempo ni al tratamiento, siendo ambas curvas superponibles. SAT, suero autólogo tópico; BSS, solución salina balanceada.

5. Tiempo de ruptura de la película lagrimal (TBUT)

Las variaciones intragrupo e intergrupo para el BUT y su significancia pueden verse en la figura 24.

El TBUT presentó valores normales (> 7 segundos) en la visita basal de ambos grupos, sufriendo una leve disminución en la visita del primer y tercer mes, para posteriormente presentar en el sexto mes postoperatorio valores superiores a los encontrados en la visita basal.

Pero, en todo caso, en todos los tiempos evolutivos de ambos grupos, este parámetro fue normal y no hubo diferencias significativas atribuibles a la evolución temporal.

Comparaciones intragrupo

Grupo SAT. La media del TBUT en la visita basal (V1-b) fue de 7,94 (IC 95%: 6,03 – 9,86); en la V6-m1 fue de 7,39 (IC 95%: 5,57 – 9,21); en la V7-m3 fue de 7,78 (IC 95%: 6,08 – 9,48); y en la V8-m6 fue de 8,22 (IC 95%: 6,23 – 10,22).

Grupo BSS. El valor medio del TBUT fue de 8,06 (IC 95%: 6,23 – 9,88) en V1-b; en la V6-m1 fue de 7,50 (IC 95%: 5,67 – 9,33); en la V7-m3 fue de 7,89 (IC 95%: 6,26 – 9,52); y en la V8-m6 fue de 8,72 (IC 95%: 6,53 – 10,91).

No hubo diferencias significativas en los diferentes momentos evolutivos, en ninguno de los dos grupos de tratamiento.

Comparaciones intergrupo

No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos atribuibles al tratamiento.

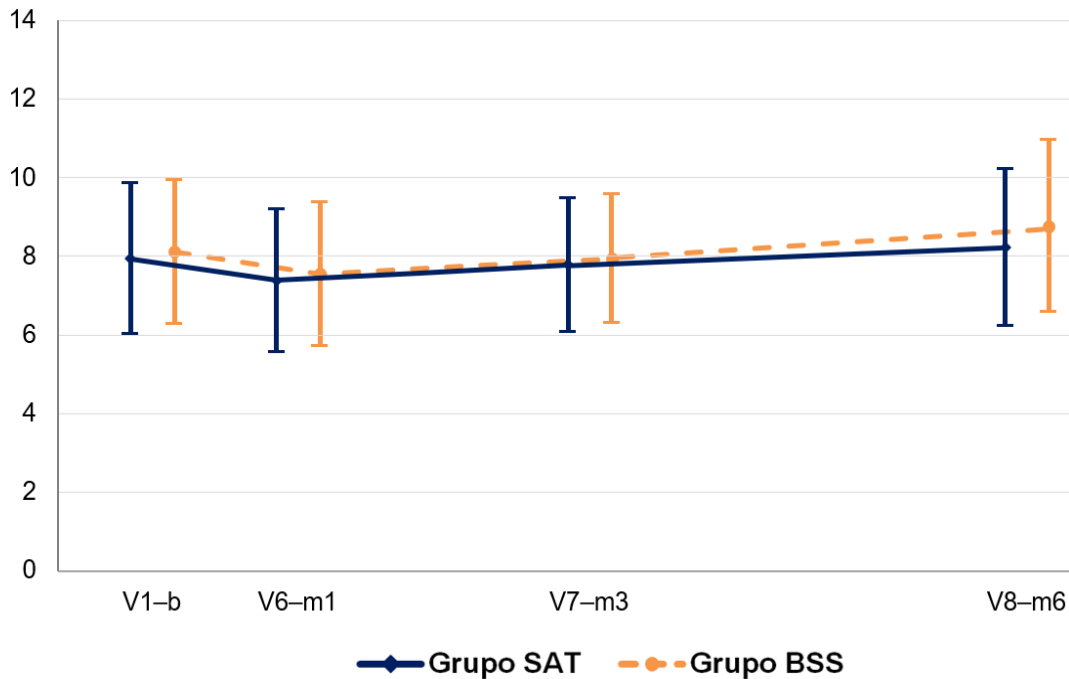


FIGURA 24. Tiempo de ruptura de la película lagrimal (TBUT) en segundos expresado como la media y sus intervalos de confianza del 95% en ambos grupos en la visita basal (V1-b), al primer mes post-cirugía refractiva (V6-m1), a los 3 meses (V7-m3) y en la visita final a los 6 meses (V8-m6). Las barras en cada valor medio representan la desviación estándar. No se observan diferencias intragrupo o intergrupo y este parámetro siempre permanece en los límites de la normalidad. SAT, suero autólogo tópico; BSS, solución salina balanceada.

6. Tinción corneal con fluoresceína

Las variaciones intragrupo e intergrupo de la tinción con fluoresceína evaluada con la escala Oxford (rango: 0 – 5) y su significancia estadística pueden verse en la figura 25.

La tinción corneal presentó valores dentro de parámetros normales en la visita basal y, aunque fue algo mayor en el grupo BSS, no presentaba diferencias significativas con el grupo SAT (en la que estaba ausente).

A partir del primer mes, la tinción corneal con fluoresceína fue negativa en ambos grupos de tratamiento.

Comparaciones intragrupo

Grupo SAT. La media de la tinción corneal con fluoresceína en todas las visitas presentó valores idénticos, siendo de 0 (IC 95%: 0 – 1).

Grupo BSS. La media de la tinción corneal con fluoresceína en la visita basal (V1-b) fue de 0,5 (IC 95%: 0 – 1), teniendo el mismo valor en el resto de las visitas, 0 (IC 95%: 0 – 1).

Comparaciones intergrupo

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de tratamiento.

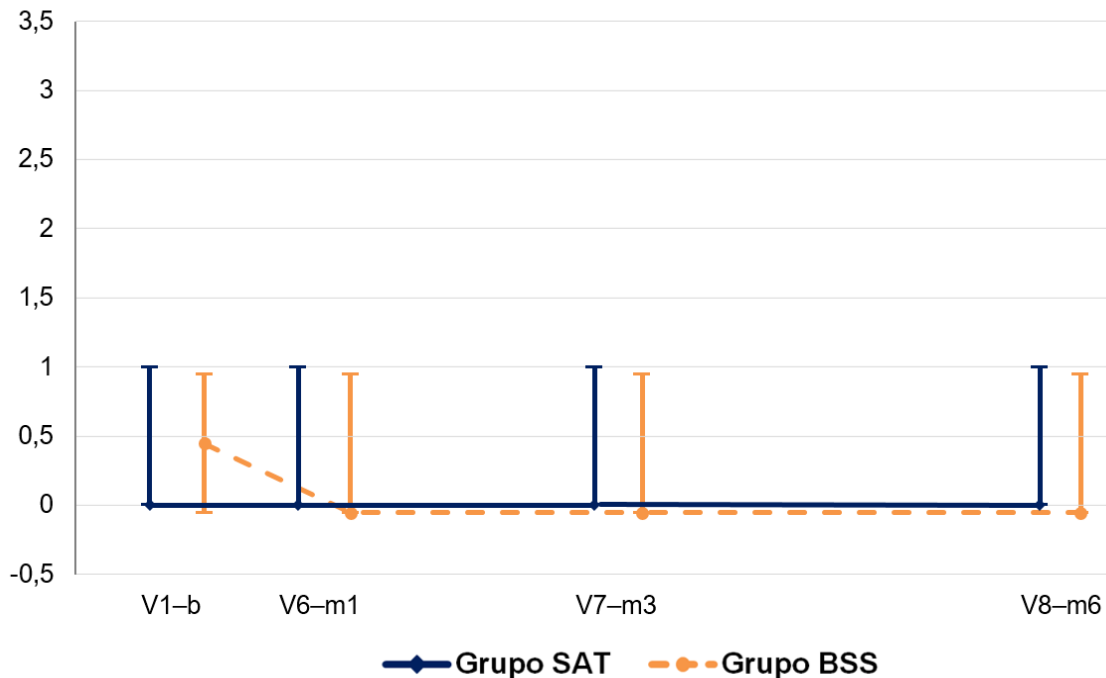


FIGURA 25. Tinción corneal con fluoresceína expresada como la media y sus intervalos de confianza del 95% en ambos grupos en la visita basal (V1-b), al primer mes post-cirugía refractiva (V6-m1), a los 3 meses (V7-m3) y en la visita final a los 6 meses (V8-m6). Las barras en cada valor medio representan la mitad de la desviación estándar. En ninguna visita se observó queratitis punteada superficial. SAT, suero autólogo tópico; BSS, solución salina balanceada.

7. Tinción conjuntival con verde de lisamina

Las variaciones intragrupo e intergrupo y su significancia estadística pueden verse en la figura 26. La tinción conjuntival con verde de lisamina evaluada con la escala Oxford (rango: 0 – 5) presentó valores dentro de parámetros normales en todas las visitas en ambos grupos, aunque fue algo mayor (sin significancia estadística) en el grupo BSS en el tercer mes post-CRC.

Comparaciones intragrupo

Grupo SAT. La media de la tinción conjuntival con verde de lisamina en la visita basal (V1-b) fue de 0 (IC 95%: 0 – 1); en la V6-m1 fue de 0 (IC 95%: 0 – 0) y en la V7-m3 y en la visita final (V8-m6) fue de 0 (IC 95%: 0 – 1).

Grupo BSS. La media de la tinción conjuntival con verde de lisamina en la visita basal (V1-b) fue de 0 (IC 95%: 0 – 1), en la V6-m1 fue de 0 (IC 95%: 0 – 0), en la V7-m3 fue de 1 (IC 95%: 0 – 1) y en la V8-m6 fue de 0 (IC 95%: 0 – 1).

En este grupo comparando el primer con el tercer mes postoperatorio se ve un aumento en el grado de tinción conjuntival con verde de lisamina, quedando este valor al borde de la significación ($p=0,0522$).

Comparaciones intergrupo

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de tratamiento.

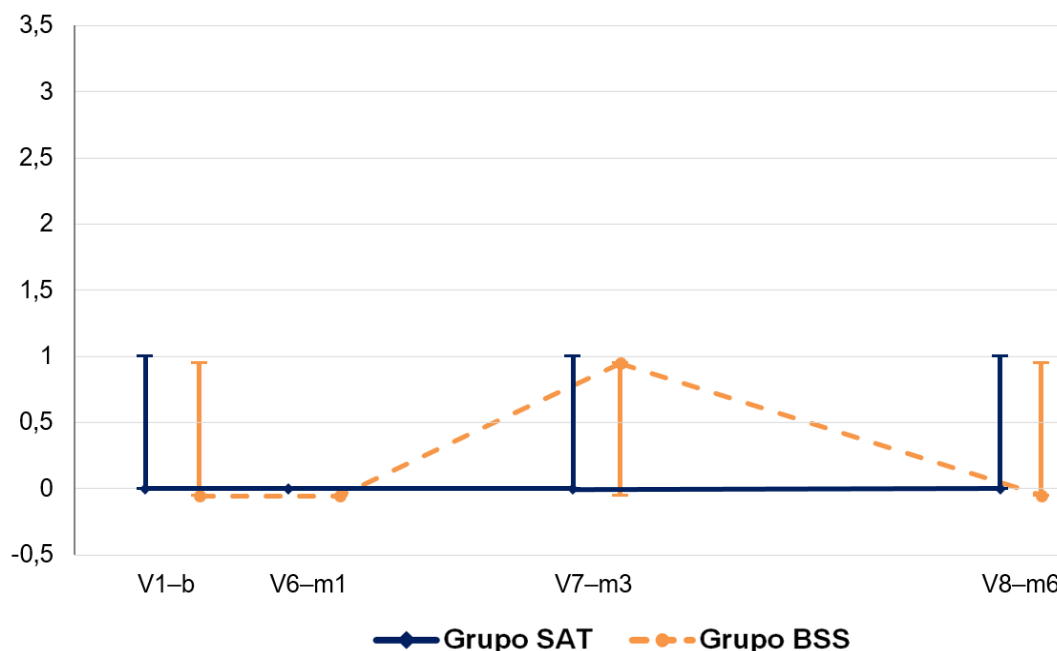


FIGURA 26. Tinción conjuntival con verde de lisamina expresada como la media y sus intervalos de confianza del 95% en ambos grupos en la visita basal (V1-b), al primer mes post-cirugía refractiva (V6-m1), a los 3 meses (V7-m3) y en la visita final a los 6 meses (V8-m6). Las barras en cada valor medio representan la mitad de la desviación estándar. No existió tinción conjuntival patológica en ningún momento evolutivo ni se observaron diferencias significativas atribuibles al tiempo o al tipo de tratamiento. SAT, suero autólogo tópico; BSS, solución salina balanceada.

8. Estesiometría corneal mecánica y térmica

Los umbrales de sensibilidad corneal se determinaron con el estesiómetro de no contacto o gas cedido por el Prof. Carlos Belmonte, y se midieron en el centro de la córnea de cada paciente. Se analizaron los niveles de sensibilidad mecánica y térmica, tanto calor como frío.

8.1. Estesiometría corneal mecánica

Las variaciones intragrupo e intergrupo de los valores obtenidos para la sensibilidad mecánica y su significancia pueden verse en la figuras 27. Como se ha comentado

en metodología, los valores normales para este umbral son los publicados por nuestro grupo de trabajo: $116,05 \pm 40,37$ (rango: 60 – 200) ml/min.

En general, y aunque los valores se conservaron dentro del rango de normalidad comentado, se observó una disminución del umbral de sensibilidad mecánica, es decir, un aumento de la sensibilidad mecánica, similar en ambos grupos.

Comparaciones intragrupo

Grupo SAT. El valor medio del umbral de sensibilidad corneal mecánica en la visita previa a la cirugía (V1-b) fue de 105,22 (IC 95%: 96,21 – 114,23), en la V6-m1 fue de 109,56 (IC 95%: 92,95 – 126,16), en la V7-m3 fue de 96,59 (IC 95%: 82,89 – 110,22) y en la última visita (V8-m6) fue de 93,28 (IC 95%: 79,92 – 106,63).

Grupo BSS. El valor medio del umbral mecánico en la visita basal (V1-b) fue de 106,22 (IC 95%: 95,5 – 116,94), de 115,33 (IC 95%: 101,86 – 128,81) en V6-m1), en la V7-m3 fue de 100,61 (IC 95%: 86,51 – 114,71) y en la V8-m6 fue de 99,50 (IC 95%: 87,13 – 111,87).

Ninguno de estos valores, en ninguno de los dos grupos, estuvo fuera del rango de normalidad comentado anteriormente y las variaciones fueron paralelas en ambos grupos.

Globalmente, resultó significativo el efecto del tiempo, es decir, hubo diferencias significativas entre visitas. Pero el efecto del tratamiento se quedó al borde de la significación ($p=0,0842$).

Y así, aunque se observó un ligero descenso de la sensibilidad corneal (incremento del umbral mecánico) en el primer mes (V6-m1), este no fue significativo.

Posteriormente, la sensibilidad mecánica siguió aumentando y fue significativo el cambio entre el primer y el tercer mes ($p=0,0168$), entre el primero en el sexto

mes ($p=0,045$), así como entre la visita precirugía (V1-b) y la visita final (V8-m6) ($p=0,0273$).

Si se comparan los niveles pre-CRC con los obtenidos a los 6 meses, se puede observar como la sensibilidad corneal mecánica aumentó de manera significativa ($p=0,0273$), tanto en grupo SAT como para el BSS ya que, como se ha comentado, no hubo efecto significativo del tratamiento.

Comparaciones intergrupo

En general, los umbrales de sensibilidad mecánica fueron ligeramente superiores en el grupo BSS, pero este efecto se quedó al borde de la significación ($p=0,0842$).

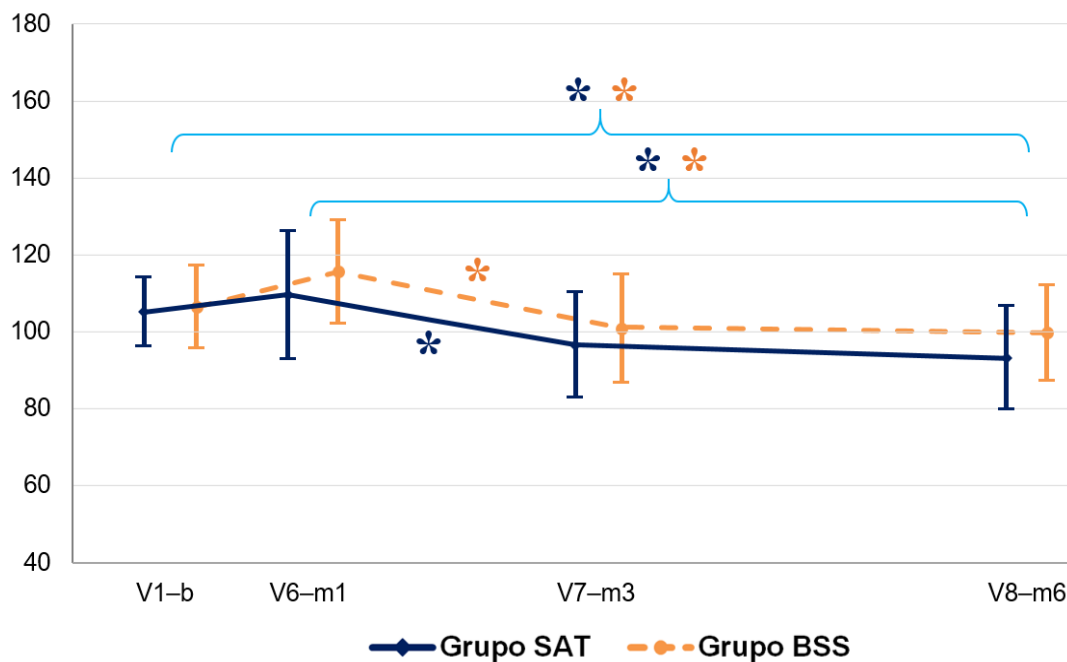


FIGURA 27. Estesiometría corneal mecánica en ml/min expresada como la media y sus intervalos de confianza del 95% en ambos grupos en la visita basal (V1-b), al primer mes post-cirugía refractiva (V6-m1), a los 3 meses (V7-m3) y en la visita final a los 6 meses (V8-m6). Las barras en cada valor medio representan la desviación estándar. Tras el ligero descenso no significativo del primer mes, se observa luego un aumento de la sensibilidad corneal mecánica de forma similar en ambos grupos. SAT, suero autólogo tópico; BSS, solución salina balanceada.

, Diferencias estadísticamente significativas intragrupo.

8.2. Estesiometría corneal térmica: calor

La figura 28 muestra las variaciones intragrupo e intergrupo y la significancia estadística de este parámetro. El valor normal del umbral térmico al calor, según los datos de nuestro grupo de investigación publicados es de $1,78 \pm 1,07$ (rango=2,24 – 3,68) °C.

En general, los umbrales para el calor estuvieron siempre por debajo del rango de normalidad y disminuyeron con el tiempo de evolución aunque sin cambios significativos.

Comparaciones intragrupo

Grupo SAT. El valor medio del umbral corneal al calor en la visita basal (V1-b) fue de 1,54 (IC 95%: 1,22 – 1,86); en la V6-m1 fue de 1,43 (IC 95%: 1,13 – 1,74); en la V7-m3 fue de 1,32 (IC 95%: 1,16 – 1,48); y en la V8-m6 fue de 1,34 (IC 95%: 1,17 – 1,50).

Grupo BSS. El valor medio del umbral al calor fue de 1,55 (IC 95%: 1,31 – 1,79) antes de la CRC (V1-b); en la V6-m1 fue de 1,43 (IC 95%: 1,22 – 1,63); en la (V7-m3) fue de 1,36 (IC 95%: 1,19 – 1,53); y en la visita final de los 6 meses (V8-m6) fue de 1,33 (IC 95%: 1,14 – 1,51).

Comparaciones intergrupo

Ningún valor resultó estadísticamente significativo comparando los dos grupos de tratamiento en la evolución temporal.

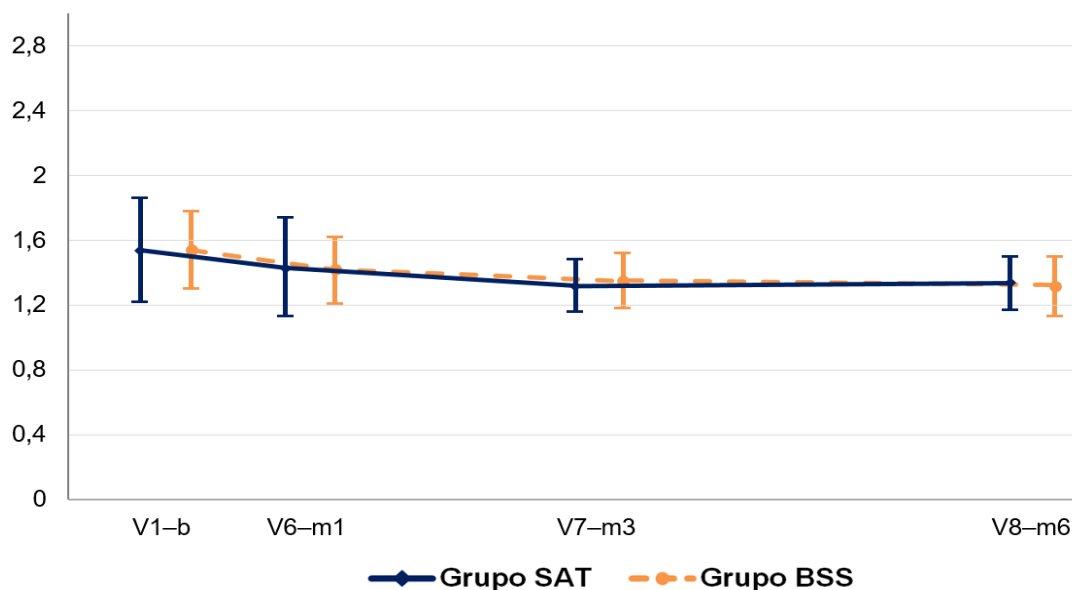


FIGURA 28. Estesiometría corneal para el calor en °C expresada como la media y sus intervalos de confianza del 95% en ambos grupos en la visita basal (V1-b), al primer mes post-cirugía refractiva (V6-m1), a los 3 meses (V7-m3) y en la visita final a los 6 meses (V8-m6). Las barras en cada valor medio representan la desviación estándar. Ni el efecto del tiempo ni el del tratamiento tuvieron significancia estadística. SAT, suero autólogo tópico; BSS, solución salina balanceada.

8.3. Estesiometría corneal térmica: frío

Las variaciones intragrupo e intergrupo y su significancia estadística pueden verse en la figura 29. El valor considerado como normal para el umbral de sensibilidad térmico al frío, según los resultados de nuestro grupo de investigación, fue de $-2,42 \pm 0,84$ (rango= $-0,32 - (-3,92)$).

Los umbrales al frío nunca se desviaron de este rango de normalidad en ningún momento. Estos valores fueron menores en el primer mes (mayor sensibilidad corneal al frío) comparados con los valores basales y los del tercer y sexto mes de ambos grupos, aunque sin cambios significativos.

Comparaciones intragrupo

Grupo SAT. La media de la estesiometría corneal al frío en la visita basal (V1-b) fue de -2,38 (IC 95%: -2,79 – (-1,96)); en la V6-m1 fue de -2,62 (IC 95%: -2,87 – (-2,37)); en la V7-m3 fue de -2,50 (IC 95%: -2,87 – (-2,13)); y en la V8-m6 fue de -2,45 (IC 95%: -2,75 – (-2,16)).

Grupo BSS. La media de la estesiometría corneal al frío en la visita basal (V1-b) fue de -2,46 (IC 95%: -2,78 – (-2,15)); en la V6-m1 fue de -2,71 (IC 95%: -2,93 – (-2,48)); en la V7-m3 fue de -2,43 (IC 95%: -2,72 – (-2,13)); y en la V8-m6 fue de -2,51 (IC 95%: -2,76 – (-2,27)).

No se encontraron diferencias significativas atribuibles al tiempo de evolución.

Comparaciones intergrupo

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de tratamiento, siendo ambas curvas similares.

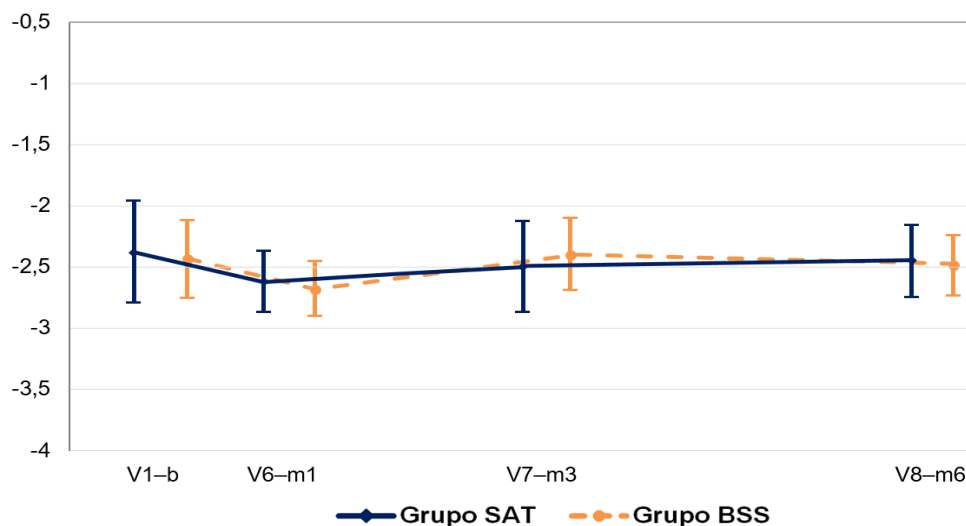


FIGURA 29. Estesiometría corneal para el frío en °C expresada como la media y sus intervalos de confianza del 95% en ambos grupos en la visita basal (V1-b), al primer mes post-cirugía refractiva (V6-m1), a los 3 meses (V7-m3) y en la visita final a los 6 meses (V8-m6). Las barras en cada valor medio representan la desviación estándar. No se observó ningún efecto significativo, ni en el tiempo ni con respecto al tratamiento. SAT, suero autólogo tópico; BSS, solución salina balanceada.

9. Test de Schirmer I con anestesia tópica

La figura 30 muestra las variaciones intragrupo e intergrupo y su significancia estadística para el test de Schirmer con anestesia tópica, el último de los tests realizados, considerándose anormales aquellos valores < de 5 mm.

En general, el test de Schirmer mostró siempre valores normales y evolucionó de forma similar en ambos grupos.

Comparaciones intragrupo

Grupo SAT. La media del test de Schirmer en la visita basal (V1-b) fue de 12,89 (IC 95%: 9,61 – 16,17); en la V6-m1 fue de 17,94 (IC 95%: 13,45 – 22,44); en la V7-m3 fue de 15,89 (IC 95%: 12,67 – 19,01); y en la V8-m6 fue de 17 (IC 95%: 12,97 – 21,03).

Grupo BSS. La media del test de Schirmer en la visita basal (V1-b) fue de 14,78 (IC 95%: 11,42 – 18,14); en la V6-m1 fue de 16,67 (IC 95%: 12,52 – 20,82); en la V7-m3 fue de 15,22 (IC 95%: 11,86 – 18,59); y en la V8-m6 fue de 18,39 (IC 95%: 14,64 – 22,14).

Comparando las visitas en el tiempo, resultan estadísticamente significativas las diferencias entre la visita basal y el sexto mes postoperatorio, donde el test de Schirmer es significativamente mayor ($p=0,0133$).

Comparaciones intergrupo

No existió un efecto significativo con respecto al tratamiento recibido.

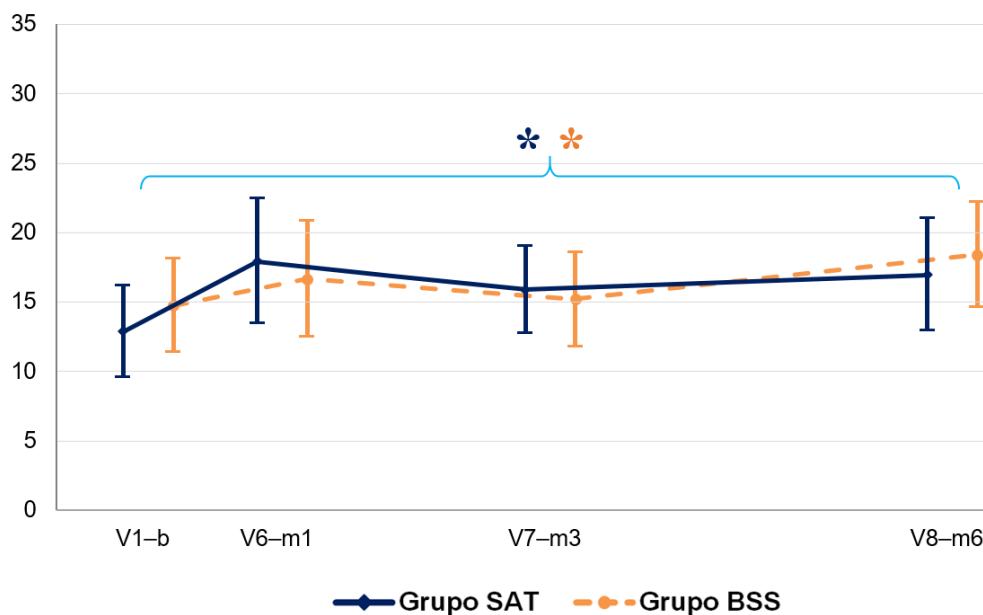


FIGURA 30. Test de Schirmer I con anestesia tópica en mm expresado como la media y sus intervalos de confianza del 95% en ambos grupos en la visita basal (V1-b), al primer mes post-cirugía refractiva (V6-m1), a los 3 meses (V7-m3) y en la visita final a los 6 meses (V8-m6). Las barras en cada valor medio representan la desviación estándar. El test de Schirmer siempre estuvo en valores normales; se observó un efecto significativo en el tiempo de evolución, siendo mayor al sexto mes comparado con los valores prequirúrgicos, pero sin diferencias atribuibles al tratamiento. SAT, suero autólogo tópico; BSS, solución salina balanceada.

*,*Diferencias estadísticamente significativas intragrupo.

10. Criterios de evaluación de eficacia

Como criterios primarios de eficacia, y según se comentó en la metodología, se definieron diferencias entre los signos osmolaridad lagrimal o estesiometría corneal.

Como se observa en la figura 21, hubo cambios significativos en los niveles de osmolaridad lagrimal atribuibles al grupo de tratamiento. Los valores de la osmolaridad lagrimal, que ya eran patológicamente altos antes de la CRC en ambos grupos, se normalizaron antes en el grupo SAT, ya al primer mes tras la cirugía; sin

embargo, en los ojos controles (grupo BSS) estos valores siguieron siendo patológicos en el primer mes y no se normalizaron hasta el tercer mes.

El otro signo valorado como criterio de eficacia primario fue la estesiometría corneal. En este caso, no hubo diferencias atribuibles al efecto del tratamiento.

Por lo tanto, uno de los dos signos considerados como variable primaria de eficacia resultó ventajoso para SAT, la osmolaridad lagrimal, que se normalizó antes en los ojos tratados con SAT (primer mes) que en los tratados con BSS (tercer mes).

Respecto a las variables consideradas como criterios secundarios de eficacia, se consideraron, por un lado, el resto de los signos evaluados. La única significación estadística encontrada fue para la AV, que fue ligeramente superior en el grupo BSS, aunque con diferencias significativas.

La sintomatología evaluada con OSDI también se consideró criterio de evaluación secundario y no arrojó mejores valores para los ojos tratados con SAT.

IX. DISCUSION

En este trabajo de tesis doctoral se ha evaluado la eficacia de un preparado de suero autólogo (SAT) frente a su vehículo, BSS, para prevenir y/o disminuir los síntomas y signos típicos de la EOS que pueden ocurrir en pacientes sometidos a CRC de tipo ASA.

La razón para querer hacer este estudio fue el deseo de saber si se debería incluir el uso suero autólogo en el protocolo post-CRC de tipo ASA. Tras realizar la pertinente búsqueda bibliográfica antes de emprender este trabajo, se averiguó que no existían, y aún no existen hasta la fecha, ensayos clínicos aleatorizados con este tipo de tratamiento, suero autólogo, en pacientes operados de CRC con la técnica ASA, la más usada en nuestro centro de trabajo (IOBA, Universidad de Valladolid).

Con este fin, se diseñó un ensayo clínico (estudio clínico intervencional), randomizado y doble enmascarado, comparando un ojo versus el contralateral del mismo paciente. Para ello, y de manera aleatoria, un ojo recibió tratamiento con suero autólogo (grupo SAT) y el contralateral recibió el vehículo con el que se fabricaba el suero autólogo (grupo BSS).

A la hora de planear el mejor diseño de ensayo clínico, se decidió que era más pertinente que el ojo contralateral del mismo individuo sirviera como control. Una de las razones fue que, al no instilarse principios farmacológicos activos, no existía el serio problema de que el fármaco aplicado a un ojo pudiera pasar a sangre y llegar así al ojo contralateral. La otra razón era que se necesitaría un número sustancialmente más elevado de sujetos para demostrar la hipótesis si el grupo experimental y el control fueran individuos diferentes. Pretendíamos así, poder tener

el poder estadístico suficiente en una muestra pequeña, algo que fue confirmado por la unidad de estadística del IOBA.

Y es que existen problemas inherentes en este tipo de pacientes para lograr reclutar un número elevado. Hay que ser conscientes de que este tipo de sujetos que optan a la realización de cirugía refractiva, en general, no se sienten enfermos, más allá de su defecto de refracción y, en muchas ocasiones, se comprobó que no entendían la necesidad de someterse a estudios, ensayos o pruebas que no fueran las estrictamente necesarias para la realización de su cirugía. De hecho, la estesiometría fue la prueba que más les costó aceptar de todas las que se llevaron a cabo. Y, por esa misma razón, se tuvo que renunciar a realizar una prueba en la que nuestro grupo de investigación tiene amplia experiencia y que habría sido de notable utilidad, la microscopía confocal *in vivo* para visualizar el plexo nervioso corneal, pues los pacientes se negaban a someterse a dicha prueba, ya incluso en el preoperatorio. Y así, al perder bastantes potenciales candidatos por esta razón, se decidió modificar el protocolo y eliminar dicha prueba. Al ver que iba a ser muy costoso reclutar un número de pacientes adecuado para tener grupo experimental y control compuesto de individuos diferentes, se decidió que ambos ojos del mismo individuo podrían ser experimental y control, con lo cual, se podría realizar con un número menor de sujetos.

También se pensó en el riesgo de que el paciente confundiera los frascos y aplicara erróneamente el tratamiento. Sin embargo, estos pacientes eran individuos jóvenes, con máxima capacidad de atención y creímos que esta posibilidad no iba a representar un problema. De hecho, se preguntó a cada paciente en cada visita si habían cometido algún error involuntario de este tipo y ninguno de ellos admitió

haberse equivocado. Hay que ser conscientes, naturalmente, de que esto no asegura que no se hayan cometido errores que, por otra parte, siempre pueden existir en cualquier otro diseño.

Como pruebas que demostrasen si el paciente operado tenía síntomas y/o signos relacionados con la EOS, se eligieron aquellos cuestionarios y tests que se consideraron más fiables y definitorios de EOS en general y aquellos que podrían también tener relación con el tipo de EOS que una CRC podría inducir. Por ello, se eligió la estesiometría, sabiendo que la CRC lesiona necesariamente el plexo nervioso corneal sub-basal y, por ello, podría afectar a la sensibilidad corneal. Y, como se ha comentado, se tuvo que renunciar a realizar microscopía confocal *in vivo* como método óptimo para haber visualizado la inervación corneal.

La muestra de pacientes reclutada estaba compuesta por pacientes que habían decidido someterse a cirugía refractiva y en quienes un experimentado oftalmólogo, director de nuestra Unidad de Cirugía Refractiva, había prescrito dicha cirugía como adecuada. La mayoría de nuestros pacientes presentaban, en la visita inicial (V1-b), síntomas similares a los reportados por pacientes de EOS con valores medios de OSDI de aproximadamente 34 puntos, atribuible a que la mayoría de ellos eran usuarios de lentes de contacto (13 de 18). No se pretendió excluir del estudio aquellos pacientes con síntomas de EOS, mientras manifestaran que estos síntomas los tenían mayoritariamente cuando portaban lentes de contacto y siempre que no tuvieran un diagnóstico previo de EOS o pruebas positivas en el examen

previo realizado en la consulta de cirugía refractiva (TBUT, tinciones vitales y test de Schirmer) donde se les reclutaba, como se comentó en metodología.

En definitiva, si eran candidatos adecuados a CRC, sólo la presencia de síntomas de superficie ocular no los excluía, como manifiestan también varios autores (Yu y cols 2000; Chao y cols 2014; Bower y cols 2015; Zhang y cols 2016). Es decir, si las pruebas referidas en metodología y comentadas más arriba eran normales, no podían ser diagnosticados de EOS (Craig y cols 2017), por lo que podían entrar en el estudio. De hecho, se estima que entre el 10-75% de los candidatos a cirugía refractiva tienen síntomas o signos clínicos de EOS (McGhee y cols 1996; Yu y cols 2000; De Paiva y cols 2006; Maychuk 2016), siendo a menudo sujetos que sufren de intolerancia a sus lentes de contacto y, por lo tanto, buscan un método alternativo para corregir sus errores refractivos (Naroo y cols 1999; Shtein 2011). Sin embargo, los sujetos que tienen EOS grave deben ser excluidos, tal y como se hizo, como candidatos a cirugía refractiva (Cohen y Spierer 2018; Toda 2018).

Aunque los pacientes iniciaron el estudio con valores altos de OSDI antes de la CRC, los síntomas fueron mejorando en la evolución postoperatoria. Y así, los valores de OSDI disminuyeron significativamente a los 3 y a los 6 meses, alcanzando ya valores normales (por debajo del punto de corte) en esta visita final (V8-m6).

Esta misma evolución ha sido descrita por otros autores en este tipo de CRC. Por ejemplo, un estudio prospectivo (Herrmann y cols 2005) evaluó 20 ojos de 10 pacientes operados de LASEK durante 3 meses de seguimiento y demostraron que

la severidad de irritación ocular se incrementaba durante los primeros dos meses después de LASEK, pero regresaba a valores preoperatorios a los 3 meses.

En otro estudio, que evaluó 37 ojos de 21 pacientes operados de LASEK, demostraron que había una tendencia hacia síntomas más severos en una semana y 3 meses después de la cirugía, pero estos datos no alcanzaron significación estadística y, a los 6 meses de seguimiento, tenían un valor similar al preoperatorio (Horwath-Winter y cols 2004).

Un ensayo clínico más reciente (Dooley y cols 2012), comparó LASIK versus LASEK y, en lo que a síntomas se refiere (evaluados con OSDI), éstos también disminuyeron a los 6 meses y, de hecho, más intensamente en los pacientes sometidos a LASEK que los que se operaron mediante técnica LASIK.

En nuestro estudio, los síntomas evaluados con OSDI no fueron diferentes en los ojos tratados con SAT o con BSS. Un inconveniente del tipo de ensayo elegido, en el que ambos ojos del mismo paciente tienen tratamientos diferentes, aunque no sean farmacológicos, es que el paciente puede tener dificultades para separar un ojo del otro a la hora de responder al cuestionario OSDI. Y aunque se les explicó exhaustivamente, y se marcaba claramente que cuestionario era para cada ojo, se encontraron casos de confusiones y casos en los que el paciente no estaba seguro en que ojo notaba un determinado problema. Pero, además, por la naturaleza del propio cuestionario OSDI, hay preguntas en las que es difícil aislar el ojo sobre el que se está preguntando.

Y así, debemos concluir que este diseño experimental, en el que al mismo paciente se le administran tratamientos diferentes en cada uno de sus ojos, puede ser excelente para evaluar signos objetivos (como se ha comentado más arriba), pero podría no ser tan adecuado para valorar síntomas.

En lo que se refiere a la ganancia visual observada en este estudio, no hubo sorpresas pues, lógicamente, la AV aumentó desde el primer momento del postoperatorio y hasta la visita final a los 6 meses, siendo de hecho ya estable a los 3 meses. La evolución fue similar en ambos grupos de tratamiento y, aunque al primer mes se observaron diferencias significativas a favor de los ojos tratados con BSS, la diferencia fue clínicamente irrelevante, al ser sólo una línea de diferencia (Zhao y cols 2014; Garcia-Gonzalez y cols 2017).

Una de las pruebas objetivas que se eligió para contribuir al diagnóstico de un posible EOS post-CRC fue la evaluación de la osmolaridad lagrimal (Craig y cols 2017). Se partió de niveles de leve a moderadamente elevados, por encima de 308 mOsm/L (Wolffsohn y cols 2017), en ambos grupos. Este hecho podría deberse a que el porte de lentes de contacto aumenta por encima de valores normales la osmolaridad lagrimal (Golebiowski y cols 2017; Nieto-Bona y cols 2018; López-de la Rosa y cols 2019), independientemente de que el portador sea sintomático o asintomático (López-de la Rosa 2019).

En todo caso, la osmolaridad elevada fue descendiendo en el postoperatorio en ambos grupos. Pero se observó una diferencia clara y es que tras un mes de

cirugía, la osmolaridad ya se había normalizado en los ojos tratados con SAT, mientras que seguía por encima de valores normales en los ojos tratados con BSS, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Esta evolución más rápida hacia la normalización de un parámetro que se ha descrito como uno de los potenciales marcadores de sequedad, hace pensar que el tratamiento con SAT, puede merecer la pena.

Es difícil comparar nuestros resultados con los publicados en la literatura, ya que las técnicas quirúrgicas no son las mismas. En un ensayo comparativo entre LASIK y LASEK, con un seguimiento a los 3, 6 y 12 meses (Dooley y cols 2012), se partía ya de niveles de osmolaridad lagrimal normales y nunca se alteraron en los 12 meses de seguimiento. Igualmente, en un estudio donde evaluaron la osmolaridad lagrimal y otros parámetros de EOS en ojos post-LASIK (Hassan y cols 2013), no se observaron resultados anormales antes o después de la cirugía.

Sin embargo, en un estudio reciente en el que se comparó la influencia de dos técnicas quirúrgica en la osmolaridad lagrimal (Kacerovská y cols 2018), se partió de niveles normales que aumentaron significativamente al mes y a los 3 meses, siendo de hecho anormalmente elevados a los 3 meses sólo en el grupo LASIK y no en el grupo RELEx SMILE; con ello, los autores concluyeron que este último método es más ventajoso al tener menos impacto en la calidad de la lagrime.

En nuestro estudio también se evaluó la estabilidad de la lágrima mediante el TBUT. Este parámetro describe una curva de evaluación interesante, ya que

desciende en el primer mes y luego ya aumenta progresivamente, aunque manteniéndose siempre dentro de valores normales.

Al contrario de lo descrito en nuestro estudio, existen varias publicaciones en las que el TBUT se altera con la CRC. Y así, se describen disminuciones significativas de TBUT al mes, a los 4 y a los 6 meses después tras LASIK (Toda y cols 2001; Yu y cols 2000), PRK (Ozdamar y cols 1999) y LASEK (Horwath y cols 2004; Herrmann y cols 2005).

En nuestro estudio, no existieron diferencias en el TBUT entre ambos grupos de tratamiento. Sin embargo, un estudio demostró que el TBUT a los 6 meses tras LASIK fue significativamente mayor en el grupo tratado con suero autólogo ($6,3 \pm 2,6$ segundos) que en el grupo tratado con lágrimas artificiales ($3,8 \pm 1,9$ segundos) (Noda-Tsuruya y cols 2006).

Al evaluar la integridad de la superficie ocular mediante tinción corneal con fluoresceína o conjuntival con verde de lisamina, se partió de valores normales y no se alteraron en el postoperatorio. En cambio, otros estudios si encontraron alteraciones en la tinción con fluoresceína, aunque sólo durante un tiempo corto tras LASEK (Horwath y cols 2004; Herrmann y cols 2005) y más duradero con LASIK (Wilson y cols 2001).

Para evaluar producción lagrimal, se realizó el test de Schirmer con anestesia tópica. Y aunque en ningún momento hubo valores anormales, si se observó un aumento significativo entre los valores pre-CRC y los obtenidos a los 6 meses.

La causa de este fenómeno es difícil de entender; pero una posible explicación es que las fibras nerviosas estén más sensibilizadas por mediadores inflamatorios en el período postoperatorio precoz (Watkins y cols 1994) resultando en una mayor secreción basal lagrimal un mes después de la cirugía. De hecho, en nuestro estudio, también se observó ese incremento al primer mes, aunque no alcanzó significación estadística.

Los estudios publicados referentes a la evolución del test de Schirmer con anestesia demuestran variaciones de todo tipo. Y así, hay trabajos que observan una disminución durante los primeros 12 meses tras LASIK (Toda y cols 2001), durante los 6 meses tras PRK (Siganos y cols 2000), o a los 3 meses de LASEK (Herrmann y cols 2005). Otros estudios, sin embargo, no encontraron cambios en los valores del test de Schirmer tras 6 meses de seguimiento post-LASEK (Horwath-Winter y cols 2004).

En este estudio, no se han encontrado diferencias en el test de Schirmer entre los ojos tratados con SAT o BSS. De manera similar, no se encontraron diferencias en los 6 meses de seguimiento tras LASIK en un ensayo en el que se trataron los pacientes con suero autólogo o lagrimas artificiales (Noda-Tsuruya y cols 2006).

La evaluación más específicamente relacionada con la alteración nerviosa inherente a la CRC fue al estesiometría corneal. Afortunadamente, disponemos de la posibilidad de medirla de manera mucho más completa con el estesiómetro de gas o no contacto de Belmonte, que proporciona más información que el estesiómetro de Cochet-Bonnet, ya que además de medir la sensibilidad mecánica, y de manera sustancialmente más precisa, también puede medir la sensibilidad al

frío, al calor y la química. Tras nuestro primer contacto con este estesiómetro, decidimos no proseguir con la sensibilidad química por falta de consistencia (Tesón y cols 2012) y, en los trabajos posteriores, evaluamos las sensibilidades mecánicas y térmicas al calor y al frío (López-De la Rosa y cols 2016).

En lo que se refiere a los valores de la estesiometría corneal mecánica, los umbrales fueron similares a los descritos para una población sana (López-de la Rosa y cols 2016) en todas las visitas para ambos grupos. Sin embargo, si hubo variaciones significativas en la evolución temporal, de forma paralela en ambos grupos de tratamiento. La ligera disminución de la sensibilidad mecánica en el primer mes no fue significativa, pero si lo fueron los aumentos posteriores a los 3 y 6 meses post-CRC, de manera que comparando con los valores pre-CRC, los niveles de sensibilidad corneal mecánica aumentaron significativamente en ambos grupos y sin diferencias entre ellos.

Estos cambios también se han descrito en los procedimientos LASIK y ASA por otros autores. En un estudio sobre la regeneración de los nervios corneales después de LASEK (Darwish y cols 2007), se demostró que la sensibilidad de la córnea central se reducía significativamente un mes tras la cirugía, volviendo a la normalidad 3 meses después, pero los nervios sub-basales resultaron lesionados por la cirugía LASEK y no habían regresado a los niveles postoperatorios 6 meses después de la cirugía. Igualmente, otro estudio (Lee y cols 2006) demostró que la sensibilidad corneal se reducía a niveles preoperatorios a los 6 meses después LASIK, mientras que en los individuos operados mediante la técnica LASEK no había diferencia significativas entre los valores iniciales y los recogidos a los 8 meses.

Una posible razón para explicar los cambios más drásticos en la sensibilidad corneal y la función de la película lagrimal después de LASIK, en comparación con las técnicas de ablación superficial, podría ser mayor el daño inducido a los nervios corneales por la cirugía LASIK en comparación con la ablación de superficie como LASEK y PRK / ASA.

Esta teoría parece confirmarse también con estudios de la sensibilidad mecánica a través del estesiómetro de Cochet-Bonnet. Y así, un estudio demostró ya hace tiempo que la sensibilidad de la córnea se recuperaba muy lentamente y seguía estando significativamente disminuida hasta 16 meses después de LASIK (Battat y cols 2001). Otro estudio también antiguo (Matsui y cols 2001) demostró que la sensibilidad corneal en individuos sometidos a PRK, mostraba una tendencia a la disminución ligera en los 3 primeros días, se comenzaba a recuperar al primer mes y volvía a valores preoperatorios en 3 meses tras la cirugía, aunque los cambios no fueron significativos. Estudios algo posteriores demostraron igualmente que la sensibilidad corneal mecánica, disminuida la primera semana, se recuperaba al mes tras LASEK (Horwath y cols 2004). Herrmann y cols 2005).

El estesiómetro de Belmonte, como se ha comentado, permitió también evaluar la sensibilidad corneal térmica. Los valores umbrales de ambas sensibilidades térmicas, calor y frío, estuvieron siempre dentro de los rangos de normalidad descritos por nuestro grupo de investigación, utilizando el mismo aparato y en las mismas condiciones ambientales (López-De la Rosa y cols 2016). En ningún caso se encontraron diferencias significativas atribuibles al efecto del tiempo o al tratamiento, siguiendo ambos grupos, SAT y BSS, una evolución

temporal muy similar. Y aunque se observa una curva de aumento claro y progresivo de la sensibilidad térmica al calor, las variaciones temporales no fueron significativas. No se han encontrado estudios que evalúen la sensibilidad corneal térmica en pacientes operados de cirugía refractiva.

En resumen, ningún paciente desarrolló EOS post-CRC y, de hecho, se observó una excelente evolución postoperatoria en los tests clínicos realizados. Sin embargo, en la publicación a la que ha dado lugar esta tesis doctoral, se concluye que a pesar de una normalización de todos los parámetros clínicos tras la CRC, la homeostasis de la superficie ocular no está totalmente recuperada a los 6 meses, ya que se apreciaban aún ciertos desequilibrios en los niveles de moléculas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias en la lágrima de estos pacientes, al menos en los tratados con BSS, ya que no se hizo este tipo de estudio más que en los ojos controles.

Y en lo que se refiere a las diferencias entre los ojos tratados con SAT y con BSS, se cumplió uno de los dos criterios primarios de eficacia, ya que sí se observó una mejor evolución temporal de la osmolaridad lagrimal en los ojos tratados con SAT. No se observaron diferencias en la estesiometría, el otro criterio de evaluación primario, ni en el resto de variables secundarias.

De forma global, el hecho de que los diferentes tests clínicos no se alterasen tras la CRC tipo ASA en nuestro estudio podría deberse al hecho de que estos

pacientes fueron tratados tópicamente con anti-inflamatorios y con lágrimas artificiales cuatro veces al día a lo largo del estudio, además de con los productos del estudio, SAT o BSS. Hemos de asumir, por ello, que los pacientes ya tenían un protocolo terapéutico similar al propuesto para el tratamiento de la EOS leve (Jones y cols 2017). Es muy posible que, de no haber sido tratados, las pruebas diagnósticas se hubieran alterado más, se hubiera podido detectar casos de EOS post-CRC como se ha descrito en los primeros meses tras LASIK, PRK y ASA (Bower y cols 2015; Chao y cols 2014; De Paiva y cols 2006; Denoyer y cols 2015; Hovanesian y cols 2001; Jabbur y cols 2004; Murakami y Manche 2012; Shoja y Besharati 2007) e, incluso, se hubieran podido ver más diferencias entre el SAT y el BSS.

Por lo tanto, este hecho podría considerarse una debilidad de este ensayo. Quizá podría haberse diseñado de manera que a los pacientes no se les hubiera administrado ningún antiinflamatorio post-CRC. Pero juzgamos que no era ético suspender el tratamiento ya protocolizado y que, con toda probabilidad, nuestro comité ético no aceptaría esa suspensión.

Por último, aún siendo conscientes de que 36 ojos de 18 sujetos es un número pequeño, y más para el diseño con varias medidas repetidas, el hecho de que hayan sido muestras pareadas benefició al tamaño muestral. La conclusión es que permitió detectar “efectos grandes”, de forma que lo que ha sido significativo lo es sin duda puesto que la potencia no influye y lo que no ha sido significativo, podría haberlo sido aumentando el tamaño muestral.

X. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en este trabajo, en el que se estudió la eficacia del suero autólogo en el postoperatorio de la CRC de tipo ASA, se pueden extraer las siguientes conclusiones, en contestación a los objetivos planteados:

1. El diseño escogido fue un ensayo clínico randomizado y controlado con vehículo, sin duda, el mejor posible para demostrar la seguridad y eficacia de cualquier fármaco o producto sanitario. Entre sus posibles subtipos, se decidió un diseño pareado, usando un ojo como grupo experimental y el contralateral como control. Se pretendió con ello minimizar las variaciones interindividuales y así aumentar el poder estadístico de una muestra pequeña. Pero se ha observado un problema con este diseño que ha podido afectar a los resultados de este ensayo, y es la posibilidad de que el sujeto no haya sido capaz de discernir bien los síntomas que atañían a cada uno de sus dos ojos.
2. Se decidió efectuar la recogida de síntomas con uno de los cuestionarios más conocidos y mejor referenciados, validado también en español, el OSDI. Así mismo, se recogieron de forma protocolizada diversos signos propios de la EOS y se decidió escoger como variable primaria de eficacia una mejor evolución de la osmolaridad lagrimal en el grupo experimental como parámetro más fiable de dicha enfermedad, basados en la literatura científica existente.
3. Además, y queriendo estudiar una potencial EOS específicamente secundaria a CRC, se decidió incluir en el protocolo de signos objetivos, la medida de sensibilidad mecánica y térmica corneal, aprovechando el hecho de disponer

de uno de los pocos estesiómetros de gas o no contacto existentes en el mundo. Y así, se eligió también como otra variable de eficacia primaria, una mejor evolución en cualquiera de estos tipos de sensibilidad corneal. Se tuvo que renunciar a estudiar el plexo nervioso corneal mediante microscopía corneal *in vivo*, ya que los pacientes no aceptaban tener que realizarse esa prueba y se corría el serio riesgo de no poder reclutar un número mínimo de sujetos.

4. Los participantes tuvieron síntomas de superficie ocular ya antes de la cirugía, algo que se atribuyó exclusivamente al porte de lentes de contacto, ya que debía interrumpirse al menos 5 días antes de la visita basal y el OSDI recoge los síntomas de los 7 días previos. Este hecho se considera un punto que debe de ser mejorado en futuros ensayos de este tipo.

La sintomatología previa fue disminuyendo progresivamente, pero no de forma inmediata, ya que no descendió a niveles asintomáticos hasta los 6 meses. Por ello, consideramos que debe advertirse al paciente el hecho de que puede no encontrarse libre de síntomas hasta los 3-6 meses para que, así, se logre una mayor adherencia al tratamiento postoperatorio.

5. Ninguno de los signos clínicos que evaluaban estabilidad de la película lagrimal, integridad de la superficie ocular, sensibilidad corneal o producción lagrimal estuvo fuera de los límites normales ni preoperatoriamente, ni a lo largo de los 6 meses de evolución tras la cirugía. Aun así, el test de Schirmer y la sensibilidad corneal mecánica aumentaron de forma significativa a los 6 meses, pero sin que influyera el tratamiento asignado.

6. Una de las variables primarias de eficacia, la sensibilidad corneal, no cumplió el objetivo de detectar cambios entre tratamientos. La otra variable seleccionada, la osmolaridad lagrimal, sí arrojó un resultado positivo. Este parámetro, ya elevado antes de la cirugía, se normalizó significativamente antes, al primer mes, sólo en los ojos tratados con suero autólogo, mientras que los ojos tratados con BSS seguían teniendo una osmolaridad patológica y significativamente superior a la de los ojos tratados con suero autologo.

7. Este hecho, la normalización más precoz de uno de los mejores marcadores de EOS, la osmolaridad lagrimal, en los ojos tratados con suero autólogo, y teniendo en cuenta que en ese momento los individuos estaban aún sintomáticos, es suficiente como para justificar el uso protocolizado de suero autólogo en al menos los 6 primeros meses del postoperatorio de la CRC de tipo ASA.

Sin duda, un ensayo clínico con mayor número de pacientes (lo que permitiría tratar los dos ojos del mismo sujeto con el mismo producto), con PRGF en lugar de suero autólogo (con mejores propiedades biológicas) y, quizá, en más tipos de CRC, sería deseable para demostrar de forma fehaciente la utilidad de los derivados hemáticos más modernos en los postoperatorios de la CRC.

XI. BIBLIOGRAFIA

- Acosta MC, Belmonte C, Gallar J. Sensory experiences in humans and single-unit activity in cats evoked by polimodal stimulation of the cornea. *J Physiol.* 2001;534:511-525.
- Acosta MC, Berenguer-Ruiz L, García-Gálvez A, Perea-Tortosa D, Gallar J, Belmonte C. Changes in mechanical, chemical, and thermal sensitivity of the cornea after topical application of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:282-286.
- **aemps.gob.es:** Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas.
<https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/medSituacionesEspecial/es/docs/PRP-AEMPS-DEF-mayo13.pdf> consultado el 13-06-2020.
- **aemps.gob.es:** Resolución por la que se establece la clasificación del uso terapéutico no sustitutivo del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados, como medicamento de uso humano para atender necesidades especiales.
<https://www.aemps.gob.es/legislacion/espana/medicamentosUsoHumano/docs/medEspeciales/resolucion-PRP.pdf> consultado 13-06-2020
- Aggarwal S, Colon C, Kheirkhah A, Hamrah P. Efficacy of autologous serum tears for treatment of neuropathic corneal pain. *Ocul Surf.*2019;17:532-539.
- Aggarwal S, Kheirkhah A, Cavalcanti BM, Cruzat A, Colon C, Brown E, Borsook D, Prüss H, Hamrah P. Autologous serum tears for treatment of photoallodynia in

patients with corneal neuropathy: efficacy and evaluation with in vivo confocal microscopy. *Ocul Surf.* 2015;13:250-262.

- Akagun N, Ozer PA, Gazyagci S. Rapid healing of a persistent corneal epithelial defect (PCED) with autologous serum treatment. *Niger J Clin Pract.* 2020;23:123-125.
- Akcam HT, Unlu M, Karaca EE, Yazici H, Hondur AM. Autologous serum eye-drops and enhanced epithelial healing time after photorefractive keratectomy. *Clin Exp Optom.* 2018;101:34-37.
- Al-Aqaba MA, Fares U, Suleman H, Lowe J, Dua HS. Architecture and distribution of human corneal nerves. *Br J Ophthalmol.* 2010;94:784-789.
- 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;13:1257-1265.
- Alio JL, Colecha JR, Pastor S, Rodriguez A, Artola A. Symptomatic dry eye treatment with autologous platelet-rich plasma. *Ophthalmic Res.* 2007;39:124-129.
- Alio JL, Rodriguez AE, Abdelghany AA, Oliveira RF. Autologous platelet-rich plasma eye drops for the treatment of post-lasik chronic ocular surface syndrome. *J Ophthalmol.* 2017;2017:2457620.
- Alio JL, Rodriguez AE, Ferreira-Oliveira R, Wróbel-Dudzińska D, Abdelghany AA. Treatment of dry eye disease with autologous platelet-rich plasma: a prospective, interventional, non-randomized study. *Ophthalmol Ther.* 2017;6:285-293.
- Alio JL, Rodriguez AE, WróbelDudzińska D. Eye platelet-rich plasma in the treatment of ocular surface disorders. *Curr Opin Ophthalmol.* 2015;26:325-332.

- 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;115:153-161.
- Anitua E, Muruzabal F, Tayebba A, Riestra A, Perez VL, Merayo-Llodes J, Orive G. Autologous serum and plasma rich in growth factors in ophthalmology: Preclinical and clinical studies. *Acta Ophthalmol.* 2015;93:605-614.
- 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;52:6066-6073.
- Bandamwar KL, Papas EB, Garrett Q. Fluorescein staining and physiological state of corneal epithelial cells. *Cont Lens Anterior Eye.* 2014;37:213-223.
- Bandeira F, Zahira N, Hin-Fai Gary and Singh Mehta Jodhbir. Corneal re-innervation following refractive surgery treatments. *Neural. Regen Res.* 2019; 14: 557-565.
- Bates D, Maechler, M., Bolker B, Walker S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Software* 67, 2015; 1–48.
<https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.
- Battat L, Macri A, Dursum D, Pflugfelder SC. Effects of laser in situ keratomileusis on tear production, clearance and the ocular surface. *Ophthalmology.* 2001;108:1230-1235.

- Belmonte C, Acosta MC, Schmelz M, Gallar J. Measurement of corneal sensitivity to mechanical and chemical stimulation with a CO2 esthesiometer. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40:513-519.
- Belmonte C, Aracil A, Acosta MC, Luna C, Gallar J. Nerves and sensations from the eye surface. *Ocul Surf.* 2004;2:248-253.
- Belmonte C, Giraldez F. Responses of cat corneal sensory receptors to mechanical and thermal stimulation. *J Physiol.* 1981;321:355-368.
- Belmonte C. Eye dryness sensations after refractive surgery: impaired tear secretion or "phantom" cornea?. *J Refract Surg.* 2007;23:598-602.
- Belmonte C. Pain, dryness, and itch sensations in eye surface disorders are defined by a balance between inflammation and sensory nerve injury. *Cornea.* 2019;38 Suppl 1:S11-S24.
- Benitez-del-Castillo JM, del Rio T, Iradier T, Hernández JL, Castillo A, Garcia-Sanchez J. Decrease in tear secretion and corneal sensitivity after laser in situ keratomileusis. *Cornea.* 2001;20:30-32.
- Bernabei F, Roda M, Buzzi M, Pellegrini M, Giannaccare G, Versura P. Blood-Based Treatments for Severe Dry Eye Disease: The Need of a Consensus. *J Clin Med.* 2019;8:1478.
- Bonini S, Lambiase A, Rama P, Caprioglio G, Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for neurotrophic keratitis. *Ophthalmology.* 2000;107:1347-1351. Discussion 1251-1352.
- Bourne RRA, Flaxman SR, Braithwaite T, Cicinelli MV, Das A, Jonas JB, Keeffe J, Kempen JH, Leasher J, Limburg H, Naidoo K, Pesudovs K, Resnikoff S, Silvester A, Stevens GA, Tahhan N, Wong TY, Taylor HR; Vision Loss Expert

Group. Magnitude, temporal trends, and projections of the global prevalence of blindness and distance and near vision impairment: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2017;5:888-897.

- Bower KS, Sia RK, Ryan DS, Mines MJ, Dartt DA. Chronic dry eye in photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis: manifestations, incidence, and predictive factors. *J Cataract Refract Surg*. 2015;41:2624-2634.
- Brennan NA, Bruce AS. Esthesiometry as an indicator of corneal health. *Optom Vis Sci*. 1991;68:699-702.
- Brewitt H, Sistani F. Dry eye disease: the scale of the problem. *Surv Ophthalmol*. 2001;45:199-202.
- Bron AJ, Evans VE, Smith JA, Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea*. 2003;22:604-650.
- Calonge M, Pinto-Fraga J, González-García MJ, Enríquez-de-Salamanca A, López-de la Rosa A, Fernández I, López-Miguel A. Effects of the external environment on dry eye disease. *Int Ophthalmol Clin*. 2017;57:23-40.
- Campos M, Lee M, McDonnell PJ. Ocular integrity after refractive surgery: effects of photorefractive keratectomy, phototherapeutic keratectomy, and radial keratotomy. *Ophthalmic Surg*. 1992;23:598-602.
- Chan-Ling T. Sensitivity and neural organization of the cat cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1989;30:1075-1082.
- Chao C, Golebiowski B, Stapleton F. The role of corneal innervation in LASIK induced neuropathic dry eye. *Ocul. Surf*. 2014;12:32-45.
- Chen X, Belmonte C, Rang HP. Capsaicin and carbon dioxide act by distinct mechanisms on sensory nerve terminals in the cat cornea. *Pain*. 1997;70:23-29.

- Cho KJ, Mok JW, Choi MY, Kim JY, Joo CK. Changes in corneal sensation and ocular surface in patients with asymmetrical keratoconus. *Cornea*. 2013;32:205-210.
- Cho P, Yap M. Schirmer test. I. A review. *Optom Vis Sci*. 1993;70:152-156.
- Christensen Rune Haubo Bojesen (2013). ordinal---Regression Models for Ordinal Data R package version 2013.9-30
<http://www.cran.r-project.org/package=ordinal/>. consultado el 20-06-2020.
- Chuck RS, Quiros PA, Perez AC, McDonnell PJ. Corneal sensation after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg*. 2000;26:337-339.
- Cochet P, Bonnet R. L'esthesie corneenne. Sa mesure clinique. Ses variations physiologiques et pathologiques. *Clin Ophtalmol*. 1960;4:3-27.
- Cocho L, Fernández I, Calonge M, Martínez V, González-García MJ, Caballero D, López-Corral L, García-Vázquez C, Vázquez L, Stern ME, Enríquez-de-Salamanca A. Gene expression-based predictive models of graft versus host disease-associated dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56:4570-4581.
- Cocho L, Fernández I, Calonge M, Martínez V, González-García MJ, Caballero D, López-Corral L, García-Vázquez C, Vázquez L, Stern ME, Enríquez-de-Salamanca A. Biomarkers in ocular chronic graft versus host disease: tear cytokine- and chemokine-based predictive model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57:746-758.
- Cohen E, Spierer O. Dry Eye Post-Laser-Assisted In Situ Keratomileusis: Major Review and Latest Updates. *J Ophthalmol*. 2018;2018:4903831.

- Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, Caffery B, Dua HS, Joo CK, Liu Z, Nelson JD, Nichols JJ, Tsubota K, Stapleton F. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *Ocul Surf.* 2017;15:276-283.
- Darwish T, Brahma A, O'Donnell C, Efron N. Subbasal nerve fiber regeneration after LASIK and LASEK assessed by noncontact esthesiometry and in vivo confocal microscopy: prospective study. *J Cataract Refract Surg* 2007;33:1515-1521.
- De Paiva CS, Chen Z, Koch DD, Hamill MB, Manuel FK, Hassan SS, Wilhelmus KR, Pflugfelder SC. The incidence and risk factors for developing dry eye after myopic LASIK. *Am J Ophthalmol.* 2006;141:438-445.
- Denoyer A, Landman E, Trinh L, Aure JF, Auclin F, Baudouin C. Dry eye disease after refractive surgery: comparative outcomes of small incision lenticule extraction versus LASIK. *Ophthalmology.* 2015;122:669-676.
- Dohlman TH, Lai EC, Ciralsky JB. Dry eye disease after refractive surgery. *Int Ophthalmol Clin.* 2016;56:101-110
- Dooley I, D'Arcy F, O'Keefe M. Comparison of dry-eye disease severity after laser in situ keratomileusis and laser-assisted subepithelial keratectomy. *J Cataract Refract Surg.* 2012;38:1058-1064.
- doughertylaservision.com: ¿Qué es la queratectomía fotorrefractiva o PRK? <https://www.doughertylaservision.com/service/procedures/prk-laser-eye-surgery/> consultado el 13-06-2020.
- Doughman DJ. Pathophysiology and diagnosis of tear film abnormalities. *Clinical tests. Int Ophthalmol Clin.* 1973;13:199-217.

- Efron N. Grading scales for contact lens complications. *Ophthalmic Physiol Opt.* 1998;18:182-186.
- Elliott M, Fandrich H, Simpson T, Fonn D. Analysis of the repeatability of tear break-up time measurement techniques on asymptomatic subjects before, during and after contact lens wear. *Cont Lens Anterior Eye.* 1998;21:98-103.
- expandingknowledge.com: Cirugía láser/selección del procedimiento. <http://www.expandingknowledge.com/Jerome/HumanBody/Eye/VisionCorrection/LaserSurgery/ProcedureSelection/Main.htm> consultado el 13-06-2020.
- Fong CS. Refractive surgery: the future of perfect vision? *Singapore Med J.* 2007;48:709-18.
- 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;27:459-461.
- Franchini M, Cruciani M, Mengoli C et al. Serum eye drops for the treatment of ocular surface diseases: a systematic review and meta-analysis. *Blood Transfus.* 2019;17:200-209.
- Gabler B, Winkler von Mohrenfels C, Dreiss AK, Marshall J, Lohmann CP. Vitality of epithelial cells after alcohol exposure during laser-assisted subepithelial keratectomy flap preparation. *J Cataract Refract Surg.* 2002;28:1841-1846.
- Galor A, Moein HR, Lee C, Rodriguez A, Felix ER, Sarantopoulos KD, Levitt RC. Neuropathic pain and dry eye. *Ocul Surf.* 2018;16:31-44.
- García-Conca V, Abad-Collado M, Hueso-Abancens JR, et al. Efficacy and safety of treatment of hyposecretory dry eye with platelet-rich plasma. *Acta Ophthalmol.* 2019;97:e170-e178.

- Garcia-Gonzalez M, Teus MA, Gros-Otero J. Visual Outcomes After SMILE, LASEK, and LASEK Combined With Corneal Cross-Linking for High Myopic Correction. *Cornea*. 2017;36:e33.
- Geerling G, MacLennan S, Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004;88:1467-1474.
- 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;56:595-604.
- Giraldez F, Geijo E, Belmonte C. Response characteristics of corneal sensory fibers to mechanical and thermal stimulation. *Brain Res*. 1979;177:571-576.
- Golebiowski B, Chao C, Stapleton F, Jalbert I. Corneal nerve morphology, sensitivity, and tear neuropeptides in contact lens wear. *Optom. Vis. Sci*. 2017;94:534-542.
- Golebiowski B, Papas E, Stapleton F. Corneal and conjunctival sensory function: the impact on ocular surface sensitivity of change from low to high oxygen transmissibility contact lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:1177-1181.
- Goren MB. LASIK and dry eye. *Ophthalmology*. 2002;109:1947-1948.
- Goto E, Shimmura S, Shimazaki J, Tsubota K. Treatment of superior limbic keratoconjunctivitis by application of autologous serum. *Cornea*. 2001;20:807-810.
- Hamrah P, Alipour F, Jiang S, Sohn JH, Foulks GN. Optimizing evaluation of Lissamine Green parameters for ocular surface staining. *Eye (Lond)*. 2011;25:1429-1434.

- Hanada K, Shimazaki J, Shimmura S, Tsubota K. Multilayered amniotic membrane transplantation for severe ulceration of the cornea and sclera. *Am J Ophthalmol.* 2001;131:324-331.
- Hanson J, Fikertscher R, Roseburg B. Schirmer test of lacrimation. Its clinical importance. *Arch Otolaryngol.* 1975;101:293-295.
- Hassan Z, Szalai E, Berta A, Modis L Jr, Nemeth G. Assessment of tear osmolarity and other dry eye parameters in post-LASIK eyes. *Cornea.* 2013;32:142-145.
- He J, Bazan NG, Bazan HE. Mapping the entire human corneal nerve architecture. *Exp Eye Res.* 2010;91:513-523.
- Herrmann WA, Shah CP, von Mohrenfels CW, Gabler B, Hufendiek K, Lohmann CP. Tear film function and corneal sensation in the early postoperative period after LASEK for the correction of myopia. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2005;243:911-916.
- Holzer MP, Auffarth GU, Specht H, Kruse FE. Combination of transepithelial phototherapeutic keratectomy and autologous serum eyedrops for treatment of recurrent corneal erosions. *J Cataract Refract Surg.* 2005;31:1603-1606.
- Hondur AM, Akcam HT, Karaca EE, Yazici Eroglu H, Aydin B. Autologous Serum Eye Drops Accelerate Epithelial Healing After LASEK. *Curr Eye Res.* 2016;4:873.
- Horwath-Winter J, Vidic B, Schwantzer G, Schmut O. Early changes in corneal sensation, ocular surface integrity, and tear-film function after laser-assisted subepithelial keratectomy. *J Cataract Refract Surg.* 2004;30:2316-2321.

- Hothorn T, Hornik K, van de Wiel MA, Zeileis A. Implementing a class of permutation tests: The coin package. *J. Stat Software.* 2008;28:1-23. <http://www.jstatsoft.org/v28/i08/>. Consultado en fecha 20-08-2020.
- Hovanesian J.A, Shah SS, Maloney RK. Symptoms of dry eye and recurrent erosion syndrome after refractive surgery. *J. Cataract Refract Surg.* 2001;27:577-584.
- Huang SC, Chen HC. Overview of laser refractive surgery. *Chang Gung Med J.* 2008;31:237-252.
- Ishikawa T, del Cerro M, Liang FQ, Loya N, Aquavella JV. Corneal sensitivity and nerve regeneration after excimer laser ablation. *Cornea.* 1994;13:225-231.
- Jabbur NS, Sakatani K, O'Brien TP. Survey of complications and recommendations for management in dissatisfied patients seeking a consultation after refractive surgery. *J. Cataract Refract Surg.* 2004;30:1867-1874.
- Jackson WB. Management of dysfunctional tear syndrome: a Canadian consensus. *Can J Ophthalmol.* 2009;44:385-394.
- Jacobi C, Jacobi A, Kruse FE, Cursiefen C. Tear film osmolarity measurements in dry eye disease using electrical impedance technology. *Cornea.* 2011;30:1289-1292.
- Javaloy J, Alio JL, Rodriguez AE, Vega A, Munoz G. Effect of platelet-rich plasma in nerve regeneration after LASIK. *J Refract Surg.* 2013;29:213-219.
- Jones L, Downie LE, Korb D, Benitez-Del-Castillo JM, Dana R, Deng SX, Dong PN, Geerling G, Hida RY, Liu Y, Seo KY, Tauber J, Wakamatsu TH, Xu J, Wolffsohn JS, Craig JP. TFOS DEWS II Management and Therapy Report. *Ocul Surf.* 2017;15:575-628.

- Joo MJ, Yuhan KR, Hyon JY, Lai H, Hose S, Sinha D, O'Brien TP. The effect of nerve growth factor on corneal sensitivity after laser in situ keratomileusis. *Arch Ophthalmol.* 2004;122:1338-1341.
- Kacerovská J, Kacerovský M, Hlaváčková M, Studený P. Change of tear osmolarity after refractive surgery. *Cesk Slov Oftalmol.* 2018;74:18-22.
- Kanellopoulos AJ, Pallikaris IG, Donnenfeld ED, Detorakis S, Koufala K, Perry HD. Comparison of corneal sensation following photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 1997;23:34-38.
- Khanal S, Tomlinson A, McFadyen A, Diaper C, Ramaesh K. Dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:1407-1414.
- Khan-Lim D, Berry M. Still confused about Rose Bengal?. *Curr Eye Res.* 2004;29:311-317.
- Kim KM, Shin YT, Kim HK. Effect of autologous platelet-rich plasma on persistent corneal epithelial defect after infectious keratitis. *Jpn J Ophthalmol.* 2012;56:544-550.
- Kojima T, Ishida R, Dogru M, Goto E, Matsumoto Y, Kaido M, Tsubota K. The effect of autologous serum eyedrops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. *Am J Ophthalmol.* 2005;139:242-246.
- Kuryan J, Cheema A, Chuck RS. Laser-assisted subepithelial keratectomy (LASEK) versus laser-assisted in-situ keratomileusis (LASIK) for correcting myopia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;2:CD011080.

- Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB, 2018. ImerTest: tests in Linear Mixed Effects Models. R Package Version 3.0-1. cran.r-project.org. <http://CRAN.R-project.org/package=ImerTest>, Consultado en fecha 30-04-2018.
- Labetoulle M, Baudouin C, Calonge M, Merayo-Llodes J, Boboridis KG, Akova YA, Aragona P, Geerling G, Messmer EM, Benítez-Del-Castillo J. Role of corneal nerves in ocular surface homeostasis and disease. *Acta Ophthalmol.* 2019;97:137-145.
- Lam H, Bleiden L, De Paiva CS, Farley W, Stern ME, Pflugfelder SC. Tear cytokine profiles in dysfunctional tear syndrome. *Am J Ophthalmol.* 2009;147:198-205.
- Lee JB, Ryu CH, Kim J, Kim EK, Kim HB. Comparison of tear secretion and tear film instability after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 2000;26:1326-1331.
- Lee SJ, Kim JK, Seo KY, Kim EK, Lee HK. Comparison of corneal nerve regeneration and sensitivity between LASIK and laser epithelial keratomileusis (LASEK). *Am J Ophthalmol.* 2006;141:1009-1015.
- Lemp MA, Bron AJ, Baudouin C, Benítez Del Castillo JM, Geffen D, Tauber J, Foulks GN, Pepose JS, Sullivan BD. Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *Am J Ophthalmol* 2011;151:792-798.
- Lenth RV. 2016. Least-squares means: the R package lsmeans. *J. Stat. Software* 69,1-33. <https://doi.org/10.18637/jss.v069.i01>.
- Levitt AE, Galor A, Weiss JS, Felix ER, Martin ER, Patin DJ, Sarantopoulos KD, Levitt RC. Chronic dry eye symptoms after LASIK: parallels and lessons to be

learned from other persistent post-operative pain disorders. *Mol Pain*. 2015;21:11:21.

- Li SM, Zhan S, Li SY, Peng XX, Hu J, Law HA, Wang NL. Laser-assisted subepithelial keratectomy (LASEK) versus photorefractive keratectomy (PRK) for correction of myopia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;22:2:CD009799.
- Liang L, Zhang M, Zou W, Liu Z. Aggravated dry eye after laser in situ keratomileusis in patients with Sjögren syndrome. *Cornea*. 2008;27:120-123.
- Lin PY, Tsai SY, Cheng CY, Liu JH, Chou P, Hsu WM. Prevalence of dry eye among an elderly Chinese population in Taiwan: the Shihpai eye study. *Ophthalmology*. 2003;110:1096–1101.
- Lin SJ, Su CC, Chang DCK, Hsi B, Hu FR, Lee SH, Wang IJ. Autologous serum therapy in recalcitrant laser-assisted in situ keratomileusis-induced neurotrophic epitheliopathy. *Taiwan J Ophthalmol*. 2015;5:109-113.
- Linna TU, Vesaluoma MH, Perez-Santonja JJ, Petroll WM, Alio JL, Tervo TM. Effect of myopic LASIK on corneal sensitivity and morphology of subbasal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:393-397.
- Liu H, Begley CG, Chalmers R, Wilson G, Srivas SP, Wilkinson JA. Temporal progression and special repeatability of tear breakup. *Optom Vis Sci*. 2006;83:723-730.
- Lloyd-McKernan A, Simo Mannion L, O'Dwyer V. The effect of previous soft contact lens wear on corneal refractive surgery outcomes. *Cont Lens Anterior Eye*. 2017;40:301-310.
- López García JS, Murube del Castillo J, García Lozano I, Rivas Jara L. Suero autólogo y derivados hemáticos en oftalmología. 12^a ed. Madrid: Elsevier; 2011.

- López-De La Rosa A, Arroyo-Del Arroyo C, Cañadas P, López-Miguel A, Calonge M, Enríquez-De-Salamanca A, González-García MJ. Are contact lens discomfort or soft contact lens material properties associated with alterations in the corneal sub-basal nerve plexus?. *Curr Eye Res.* 2018;43:487-492.
- López-de la Rosa A, Arroyo-del Arroyo C., Enríquez-de-Salamanca A, Pinto-Fraga J, López-Miguel A, González-García MJ. The ability of Contact Lens Dry Eye Questionnaire (CLDEQ)-8 to detect ocular surface alterations in contact lens wear. *Contact Lens Anterior Eye.* 2019;42: 273-277.
- López-De la Rosa A, Martín-Montañez V, López-Miguel A, Calonge M, Enríquez-de-Salamanca A, González-García MJ. Corneal sensitivity and inflammatory biomarkers in contact lens discomfort. *Optom Vis Sci.* 2016;93:892-900.
- López-García JS, García-Lozano I, Rivas L, Martínez-Garchitorena J. Use of autologous serum in ophthalmic practice. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2007;82:9-20.
- López-Miguel A, Tesón M, Martín-Montañez V, Enríquez-de-Salamanca A, Stern ME, González-García MJ, Calonge M. Clinical and molecular inflammatory response in Sjögren syndrome-associated dry eye patients under desiccating stress. *Am J Ophthalmol.* 2016;161:133-141.
- López-Miguel A, Tesón M, Martín-Montañez V, Enríquez-de-Salamanca A, Stern ME, Calonge M, González-García MJ. Dry eye exacerbation in patients exposed to desiccating stress under controlled environmental conditions. *Am J Ophthalmol.* 2014;157:788-798.
- López-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;29:843-848.

- López-Plandolit S, Morales MC, Freire V, Grau AE, Duran JA. Efficacy of plasma rich in growth factors for the treatment of dry eye. *Cornea*. 2011;30:1312-1317.
- Marfurt CF, Cox J, Deek S, Dvorscak L. Anatomy of the human corneal innervation. *Exp Eye Res*. 2010;90:478-492.
- Márquez-de-Aracena R, Montero-de-Espinosa I, Muñoz M, Pereira G. Subconjunctival application of plasma platelet concentrate in the treatment of ocular burns. Preliminary results. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2007;82:475-.481.
- Martin XY, Safran AB. Corneal hypoesthesia. *Surv Ophthalmol*. 1988;33:28-40.
- Martín-Montañez V, Enríquez-de-Salamanca A, López-de la Rosa A, López-Miguel A, Fernández I, Calonge M, González-Méijome JM, González-García MJ. Effect of environmental conditions on the concentration of tear inflammatory mediators during contact lens wear. *Cornea*. 2016;35:1192-1198.
- Masmali A, Alqahtani TA, Alharbi A, El-Hiti GA. Comparative study of repeatability of phenol red thread test versus Shirmer test in normal adults in Saudi Arabia. *Eye Contact Lens*. 2014;40:127-131.
- Matsui H, Kumano Y, Zushi I, Yamada T, Matsui T, Nishida T. Corneal sensation after correction of myopia by photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg*. 2001;27:370-373.
- Maychuk DY. Dry Eye Prevalence Study Group. Prevalence and severity of dry eye in candidates for laser in situ keratomileusis for myopia in Russia. *J. Cataract Refract. Surg*. 2016;42:427-434.
- McGhee CN, Orr D, Kidd B, Stark C, Bryce IG, Anastas CN, Psychological aspects of excimer laser surgery for myopia: reasons for seeking treatment and patient satisfaction. *Br. J. Ophthalmol*. 1996; 80:874-879.

- Mediapage.com: Historia de LASIK:
<https://mediapage.com/index.php?newsid=1843>; consultado el 13-06-2020.
- Mengher LS, Bron AJ, Tonge SR, Gilbert DJ. A non-invasive instrument for clinical assessment of the pre-corneal tear film stability. *Curr Eye Res.* 1985;4:1-7.
- Mengher LS, Pandher KS, Bron AJ. Non-invasive tear film break-up time: sensitivity and specificity. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1986;64:441-444.
- Miller KL, Walt JG, Mink DR, Satram-Hoang S, Wilson SE, Perry HD, Asbell PA, Pflugfelder SC. Minimal clinically important difference for the ocular surface disease index. *Arch Ophthalmol.* 2010;128:94-101.
- Morgan SJ. Chemical burns of the eye: causes and management. *Br J Ophthalmol.* 1987;71: 854-857.
- Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res.* 2003;76:521-542.
- Müller LJ, Pels L, Vrensen GF. Ultrastructural organization of human corneal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996;37:476-488.
- Müller LJ, Vrensen GF, Pels L, Cardozo BN, Willekens B. Architecture of human corneal Nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997;38:985-994.
- Murakami Y, Manche EE. Prospective, randomized comparison of self-reported postoperative dry eye and visual fluctuation in LASIK and photorefractive keratectomy. *Ophthalmology.* 2012;119: 2220-2224.
- Nakagawara VB, Wood KJ, and Montgomery RW. LASIK Refractive Surgery: Clinical Considerations for the pilot. 2006-12. <http://www.aoa.org/x5347.xml>. Consultado en fecha 10-06-2020.

- Naroo SA, Shah S, Kapoor R. Factors that influence patient choice of contact lens or photorefractive keratectomy. *J. Refract. Surg.* 1999;15:132-136.
- Nättinen J, Jylhä A, Aapola U, Enríquez-de-Salamanca A, Pinto-Fraga J, López-Miguel A, González-García MJ, Stern ME, Calonge M, Zhou L, Nykter M, Uusitalo H, Beuerman R. Topical fluorometholone treatment and desiccating stress change inflammatory protein expression in tears. *Ocul Surf.* 2018;16:84-92.
- Nelson JD, Craig JP, Akpek EK, Azar DT, Belmonte C, Bron AJ, Clayton JA, Dogru M, Dua HS, Foulks GN, Gomes JAP, Hammitt KM, Holopainen J, Jones L, Joo CK, Liu Z, Nichols JJ, Nichols KK, Novack GD, Sangwan V, Stapleton F, Tomlinson A, Tsubota K, Willcox MDP, Wolffsohn JS, Sullivan DA. TFOS DEWS II Introduction. *Ocul Surf.* 2017;15:269-275.
- Nieto-Bona A, Nombela-Palomo M, Felipe-Márquez G, Teus MA. Tear film osmolarity in response to long-term orthokeratology treatment. *Eye Contact Lens.* 2018;44:85-90.
- Noda-Tsuruya T, Asano-Kato N, Toda I, Tsubota K. Autologous serum eye drops for dry eye after LASIK. *J Refract Surg.* 2006;22:61-66.
- Nugent RB, Lee GA. Ophthalmic use of blood-derived products. *Surv Ophthalmol.* 2015;60:406-434.
- Number of LASIK surgeries in the United States from 1996 to 2014 (in 1,000s). Sources: Market Scope; VSDAR c Statista 2015.
<http://www.statista.com/statistics/271478/number-of-lasik-surgeries-in-the-us/>. Consultado en fecha 13-06-2020.
- O'Keefe M, Kirwan C. Laser epithelial keratomileusis in 2010 - a review. *Clin Exp Ophthalmol.* 2010;38:183-191.

- Ousler GW 3rd, Hagberg KW, Schindelar M, Welch D, Abelson MB. The Ocular Protection Index. *Cornea*. 2008;27:509-513.
- Ozdamar A, Aras C, Karakas N, Sener B, Karacorlu M. Changes in tear flow and tear film stability after photorefractive keratectomy. *Cornea*. 1999;18:437-439.
- Pan Q, Angelina A, Marrone M, Stark WJ, Akpek EK. Autologous serum eye drops for dry eye. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;28:2:CD009327.
- Pan Q, Angelina A, Zambrano A, Marrone M, Stark WJ, Heflin T, Tang L, Akpek EK. Autologous serum eye drops for dry eye. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;27:8:CD009327.
- Panda A, Jain M, Vanathi M, Velpandian T, Khokhar S, Dada T. Topical autologous platelet-rich plasma eyedrops for acute corneal chemical injury. *Cornea*. 2012;31:989-993.
- Pérez-Santonja JJ, Sakla HF, Cardona C, Chipont E, Alió JL. Corneal sensitivity after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis for low myopia. *Am J Ophthalmol*. 1999;127:497-504.
- Petznick A, Chew A, Hall RC, Chan CM, Rosman M, Tan D, Tong L, Mehta JS. Comparison of corneal sensitivity, tear function and corneal staining following laser in situ keratomileusis with two femtosecond laser platforms. *Clin Ophthalmol*. 2013;7:591-598.
- Pflugfelder SC, Beuerman RW, Stern ME, eds. *Dry eye and ocular surface disorders*. New York, NY: Marcel Dekker, Inc.; 2004.
- Pinto-Fraga J, Enríquez-de-Salamanca A, Calonge M, González-García MJ, López-Miguel A, López-de la Rosa A, García-Vázquez C, Calder V, Stern ME,

- Fernández I. Severity, therapeutic, and activity tear biomarkers in dry eye disease. *Ocul Surf.* 2018;16:368-376.
- Pinto-Fraga J, Lopez-Miguel A, Gonzalez-Garcia MJ, Fernandez I, Lopez-de-la-Rosa A, Enriquez-de-Salamanca A, Stern ME, Calonge M. Topical fluorometholone protects the ocular surface of dry eye patients from desiccating stress: a randomized controlled clinical trial. *Ophthalmology* 2016;123:141-153.
 - R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R-project.org/> Consultado en fecha 2014.
 - Rajan MS, Jaycok P, O'Brart D, Nystrom HH, Marshall J. A long-term study of photorefractive keratectomy; 12-years follow up. *Ophthalmology.* 2004;111:1813-1824.
 - Ralph RA, Doane MG, Dohlman CH. Clinical experience with a mobile ocular perfusion pump. *Arch Ophthalmol.* 1975;93:1039-1043.
 - Randleman JB, Loft ES, Banning CS, Lynn MJ, Stulting RD. Outcomes of wavefront-optimized surface ablation. *Ophthalmology.* 2007;114:983-988.
 - Rapuano CJ, Luchs J, Kim T. *Requisitos en Oftalmología. Segmento Anterior.* Madrid: Harcourt 2001; 288-293.
 - Reim M, Redbrake C, Schrage N. Heridas oculares químicas y térmicas. Tratamiento quirúrgico y médico basado en hallazgos clínicos y patofisiológicos. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2001;76:79-124.
 - Riestra AC, Alonso-Herreros JM, Merayo-Llives J. Platelet rich plasma in ocular surface. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2016;91:475-490.

- Rosenberg ME, Tervo TM, Immonen IJ, Müller LJ, Grönhagen-Riska C, Vesaluoma MH. Corneal structure and sensitivity in type 1 diabetes mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:2915-2921.
- Rosenthal (2013) Chronic eye pain following laser keratorefractive surgery; <http://www.bostoneyepain.org/chronic-pain-following-laser-keratorefractive-surgery/>. Consultado el 13-06-2020.
- Rosenthal P, Borsook D. Ocular neuropathic pain; *Br J Ophthalmol.* 2016;100:128-134.
- Rózsa AJ, Beuerman RW. Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit. *Pain.* 1982;14:105-120.
- Sakimoto T, Rosenblatt MI, Azar DT. Laser eye surgery for refractive errors. *Lancet.* 2006;367:1432-1447.
- Salomon Esquenazi, MD, Jiucheng He, MD, PhD, Haydee E. P. Bazan, PhD, and Nicolas G. Bazan, MD, PhD. Use of Autologous Serum in Corneal Epithelial Defects Post-Lamellar Surgery. *Cornea.* 2005;24:992-997.
- Sanchez-Avila RM, Merayo-Llodes J, Muruzabal F, Orive G, Anitua E. Plasma rich in growth factors for the treatment of dry eye from patients with graft versus host diseases. *Eur J Ophthalmol.* 2020;30:94-103.
- Sandoval HP, Donnenfeld ED, Kohnen T, Lindstrom RL, Potvin R, Tremblay DM, Solomon KD. Modern laser in situ keratomileusis outcomes. *J Cataract Refract Surg.* 2016;42:1224-1234.
- Schallhorn CS, Schallhorn JM, Hannan S, Schallhorn SC. Effectiveness of an eyelid thermal pulsation procedure to treat recalcitrant dry eye symptoms after laser vision correction. *J Refract Surg.* 2017;33:30-36.

- Schaumberg DA, Dana R, Buring JE, Sullivan DA. Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the physicians' health studies. *Arch Ophthalmol.* 2009;127:763-768.
- Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol.* 2000;118:615-621.
- Schirmer O. Studies on the physiology and pathology of tear secretion and drainage.
- Seiler T, Holschbach A, Derse M, Jean B, Genth U. Complications of myopic photorefractive keratectomy with the excimer laser. *Ophthalmology.* 1994;101:153-160.
- Serin D, Karsloglu S, Kyan A, Alagöz G. A simple approach to the repeatability of the Schirmer test without anesthesia: eyes open or closed?. *Cornea.* 2007;26:903-906.
- Shaheen BS, Bakir M, Jain S. Corneal nerves in health and disease. *Surv Ophthalmol.* 2014;59:263-285.
- Sharma N, Kaur M, Agarwal T, Sangwan VS, Vajpayee RB. Treatment of acute ocular chemical burns. *Surv Ophthalmol.* 2018;63:214-235.
- Shoja MR, Besharati MR. Dry eye after LASIK for myopia: incidence and risk factors. *Eur J Ophthalmol.* 2007;17:1-6.
- Shtein RM. Post-LASIK dry eye. *Expet Rev Ophthalmol.* 2011; 6:575-582.
- Siedlecki AN, Smith SD, Siedlecki AR, Hayek SM, Sayegh RR. Ocular pain response to treatment in dry eye patients. *Ocul Surf.* 2020;18:305-311.

- Siganos DS, Popescu CN, Siganos CS, Pistola G. Tear secretion following spherical and astigmatic excimer laser photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg.* 2000;26:1585-1589.
- Sobas EM, Videla S, Maldonado MJ, Pastor JC. Ocular pain and discomfort after advanced surface ablation: an ignored complaint. *Clin Ophthalmol.* 2015;9:1625-1632.
- Sobas EM, Videla S, Vázquez A, Fernández I, Maldonado MJ, Pastor JC. Pain perception description after advanced surface ablation. *Clin Ophthalmol.* 2017;11:647-655.
- Solomon KD, Fernández de Castro LE, Sandoval HP, et al. LASIK world literature review: quality of life and patient satisfaction. *Ophthalmology.* 2009;116:691-701.
- Srivastava GK, Andrés-Iglesias C, Coco RM, Fernandez-Bueno I, Medina J, García-Serna J, Dueñas A, Rull F, Pastor JC. Chemical compounds causing severe acute toxicity in heavy liquids used for intraocular surgery. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2020;110:104527.
- Stapleton F, Alves M, Bunya VY, Jalbert I, Lekhanont K, Malet F, Na KS, Schaumberg D, Uchino M, Vehof J, Viso E, Vitale S, Jones L. TFOS DEWS II Epidemiology report. *Ocul Surf.* 2017;15:334-365.
- statista.com: número de cirugías LASIK en los Estados Unidos <https://www.statista.com/statistics/271478/number-of-lasik-surgeries-in-the-us>; consultado el 13-06-2020.
- Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, Gao J, Mircheff AK, Pflugfelder SC. The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea.* 1998;17:584-589.

- Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res.* 2004;78:409-416.
- Sullivan BD, Whitmer D, Nichols KK, et al. An objective approach to dry eye disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;12:6125-6130.
- Sullivan Benjamin. Challenges in Using Signs and Symptoms to Evaluate New Biomarkers of Dry Eye Disease. *Ocul Surf.* 2014;12:2-9.
- Taneri S, Weisberg M, Azar DT. Surface ablation techniques. *J Cataract Refract Surg.* 2011;37:392-408.
- Tesón M, Calonge M, Fernández I, Stern ME, González-García MJ. Characterization by Belmonte's gas esthesiometer of mechanical, chemical, and thermal corneal sensitivity thresholds in a normal population. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53:3154-3160.
- Tesón M, González-García MJ, López-Miguel A, Enríquez-de-Salamanca A, Martín-Montañez V, Benito MJ, Mateo ME, Stern ME, Calonge M. Influence of a controlled environment simulating an in-flight airplane cabin on dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54:2093-2099.
- The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf.* 2007;5:75-92.
- Theophanous C, Jacobs DS, Hamrah P. Corneal neuralgia after LASIK. *Optom Vis Sci.* 2015;92:233-240.

- Toda I, Asano-Kato N, Hori-Komai Y, Tsubota K. Ocular surface treatment before laser in situ keratomileusis in patients with severe dry eye. *J Refract Surg.* 2004;20:270-275.
- Toda I, Asano-Kato N, Komai-Hori Y, Tsubota K. Dry eye after laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol.* 2001;132:1-7.
- Toda I. Dry eye after LASIK. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018;59:109-115.
- Tomlinson A, Khanal S, Ramaesh K, Diaper C, McFadyen A. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:4309-4315.
- Tomlinson A, Khanal S. Assessment of tear film dynamics: quantification approach. *Ocul Surf.* 2005;3:81-95.
- Trattler WB, Barnes SD. Current trends in advanced surface ablation. *Curr Opin Ophthalmol.* 2008;19:330-334.
- Trokel SL, Srinivasan R, Braren B. Excimer laser surgery of the cornea. *Am J Ophthalmol.* 1983;96:710-715.
- Tseng SCG, Tsubota K. Important concepts for treating ocular surface and tear disorders. *Am J Ophthalmol.* 1997;124:825-35.
- Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J. Treatment of persistent epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology.* 1999a;106:1984-1989.
- Tsubota K, Kaido M, Yagi Y, Fujihara T, Shimmura S. Diseases associated with ocular surface abnormalities: the importance of reflex tearing. *Br J Ophthalmol.* 1999b;83:89-91.



- Tsubota K, Goto E, Fujita H, Ono M, Inoue H, Saito I, Shimmura S. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjogren's syndrome. Br J Ophthalmol. 1999c;83:390-395.
- Tsubota K, Satake Y, Ohyama M, Toda I, Takano Y, Ono M, Shinozaki N, Shimazaki J. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. Am J Ophthalmol. 1996;122:38-52.
- Tuisku IS, Konttinen YT, Konttinen LM, Tervo TM. Alterations in corneal sensitivity and nerve morphology in patients with primary Sjögren's syndrome. Exp Eye Res. 2008;86:879-885.
- [vista-laser.com: suero autólogo para ojo seco severo. https://www.vista-laser.com/suero-autologo-ojo-seco-severo/](https://www.vista-laser.com/suero-autologo-ojo-seco-severo/) visto el 13-06-2020.
- Vitali C, Moutsopoulos HM, Bombardieri S. The European Community Study Group on diagnostic criteria for Sjögren's syndrome. Sensitivity and specificity of tests for ocular and oral involvement in Sjögren's syndrome. Ann Rheum Dis. 1994;53:637-647.
- Walt J. Ocular Surface Disease Index (OSDI) Administration and Scoring Manual. Irvine, CA: Allergan, Inc; 2004.
- Wang HF, Fukuda M, Shimomura Y. Diagnosis of dry eye. Semin Ophthalmol. 2005;20:53-62.
- Watkins LR, Wiertelak EP, Goehler LE, Smith KP, Martin D, Maier SF. Characterization of cytokine-induced hyperalgesia. Brain Res. 1994;654:15-26.
- west-op.com: estesiómetro Cochet-Bonnet. <https://www.west-op.com/aesthesiometer.html> consultado el 13-06-2020.

- Witcher JP, Shiboski CH, Shiboski SC, Heidenreich AM, Kitagawa K, Zhang S, Hamann S, Larkin G, McNamara NA, Greenspan JS, Daniels TE. A simplified quantitative method for assessing keratoconjunctivitis sicca from the Sjögren's Syndrome International Registry. *Am J Ophthalmol.* 2010;149:405-415.
- Who.int: ceguera y discapacidad visual. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/blindness-and-visual-impairment> consultado 13-06-2020.
- Wilson SE, Ambrósio R. Laser in situ keratomileusis-induced neurotrophic epitheliopathy. *Am J Ophthalmol.* 2001;132:405-406.
- Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, Djalilian A, Dogru M, Dumbleton K, Gupta PK, Karpecki P, Lazreg S, Pult H, Sullivan BD, Tomlinson A, Tong L, Villani E, Yoon KC, Jones L, Craig JP. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *Ocul Surf.* 2017;15:539-574.
- World Health Organization, Global Data on Visual Impairments 2010, 2012. <https://bj.o.bmj.com/content/96/5/614>. Consultado el 13-06-2020.
- Xu KP, Yagi Y, Toda I, Tsubota K. Tear function Index: a new measure of dry eye. *Arch Ophthalmol.* 1995;113:84-88.
- Yazawa M, Ogata H, Nakajima T, Mori T, Watanabe N, Handa M. Basic studies on the clinical applications of platelet-rich plasma. *Cell Transplantation.* 2003;12:509-518.
- Yee RW, Yee SB. Update on laser subepithelial keratectomy (LASEK). *Curr Opin Ophthalmol.* 2004;15:333-341.
- Yokoi N, Komuro A. Non-invasive methods of assessing the tear film. *Exp Eye Res.* 2004;78:399-407.

- Yu EY, Leung A, Rao S, Lam DS. Effect of laser in situ keratomileusis on tear stability. *Ophthalmology*. 2000;107:2131–2135.
- Zhang C, Ding H, He M, Liu L, Liu L, Li G, Niu B, Zhong X. Comparison of Early Changes in Ocular Surface and Inflammatory Mediators between Femtosecond Lenticule Extraction and Small-Incision Lenticule Extraction. *PLoS One*. 2016;11:e0149503.
- Zhang X, M VJ, Qu Y, He X, Ou S, Bu J, Jia C, Wang J, Wu H, Liu Z, Li W. Dry Eye Management: Targeting the Ocular Surface Microenvironment. *Int J Mol Sci*. 2017;18:1398.
- Zhao LQ, Zhu H, Li LM. Laser-Assisted Subepithelial Keratectomy versus Laser In Situ Keratomileusis in Myopia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *ISRN Ophthalmol*. 2014;2014:672146.

ANEXOS

ANEXO I. Aprobación del estudio por el Comité Ético

 Universidad de Valladolid FACULTAD DE MEDICINA C/ RAMÓN Y CAJAL, 7 47005 VALLADOLID.	Reunión 17 de 02 de 2011	 COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE LA UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
---	------------------------------------	---

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Evaluados y Ponderados los Aspectos Éticos y Legales aplicables, según la legislación vigente, en territorio nacional, europeo y de organismos internacionales para la Evaluación de Ensayos Clínicos y Proyectos de Investigación, realizada por el Comité Ética de Investigación Clínicas de la Universidad de Valladolid, contemplada en la directiva Europea 2001/20/EC y el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero.

En estudios experimentales con animales, se considera la normativa de protección de los animales de investigación según el R.D. 223/1998, la Orden 13-X-1989 y la norma de la CCEE 86/608. En los aspectos que sean aplicables al proyecto evaluado:

En investigación ocular se considera la norma de la Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO).

DESCRIPCIÓN DEL PROTOCOLO EVALUADO:

Valladolid 17/02/2011. Código CEIC: Protocolo 2011/14

Nº EUDRACT: No procede

Promotor: IOBA

Versión/fecha del protocolo: VI, 5 Febrero 2011

Hoja de información al paciente/sujeto (versión/fecha):

Título: Estudio de la eficacia del suero autólogo tópico en defectos epiteliales corneales y para el tratamiento preventivo del ojo seco inducido por cirugía refractiva tipo Ablación Superficial Avanzada.

Diseñado como (Metodología):

Con los objetivos de:

Para ser realizado en la Universidad de Valladolid, en el Instituto de Oftalmobiología Aplicada.

Cuyo Investigador Responsable es: Margarita Calonge Cano y Miguel J. Maldonado López.

Investigadores colaboradores: Giovana M. Murillo Paz, Luis Alberto Real Enderica, Noelia García Sanz

El CEIC resuelve **INFORMAR FAVORABLEMENTE**, la realización del estudio reseñado.

Valladolid a 17 de 02 de 2011



Fdo.: Dr. José Luis García Roldán

Secretario Técnico del CEIC de la Universidad de Valladolid.

COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA
Universidad de Valladolid
Facultad de Medicina
C/ Ramón y Cajal, 7
47005 Valladolid

ANEXO II. Información al paciente sobre el estudio

EFICACIA DEL SUERO AUTÓLOGO *VERSUS* VEHÍCULO EN LA ENFERMEDAD DE OJO SECO INDUCIDA POR CIRUGÍA REFRACTIVA CORNEAL: ESTUDIO PROSPECTIVO, RANDOMIZADO Y DOBLE-ENMASCARADO

Propósito del estudio

Está invitado a participar en un estudio de evaluación de la eficacia del Suero Autólogo en cirugía refractiva de la córnea con técnica superficial asistida con láser excimer. El suero autólogo es comúnmente usado con éxito para tratar patologías de la superficie ocular. Con el presente estudio, se pretende demostrar que el suero autólogo es beneficioso para la superficie ocular después de cirugía refractiva de la córnea con técnica superficial asistida con laser excimer.

Condiciones del estudio.

Si se decide a participar, se le evaluará la velocidad de cicatrización epitelial, la función visual, el estado de la superficie ocular y la sensibilidad corneal en un gabinete del Área Clínica del IOBA.

El número total de visitas que tendrá que realizar será de: una visita previa al procedimiento quirúrgico, 1 diaria hasta la cicatrización epitelial completa (entre 4 y 6 aproximadamente), en el 7mo día post-quirúrgico, 1 mes post-quirúrgico y 3 y 6 meses post quirúrgico. En la visita previa se le tomarán los datos iniciales previos al estudio y se determinará si usted es candidato a este estudio. En caso afirmativo, firmará el consentimiento informado y se realizará la extracción del suero autólogo en el laboratorio de inmunología del IOBA.

Instrucciones

Las evaluaciones serán realizadas por un optometrista, y un médico oftalmólogo.

Pruebas que se realizarán durante el estudio

Los procedimientos que se realizarán durante las revisiones incluyen:

1. Visita 0 (Inclusión):
 - a. Informe verbal de las características del estudio
 - b. Cuestionario: Historia ocular y general.
 - c. Biomicroscopía de polo anterior: evaluación de la salud ocular de la parte anterior del ojo mediante aumento y con la ayuda de tinciones vitales (fluoresceína).
 - d. TBUT: Medida invasiva que evalúa el tiempo que tarda la película lagrimal (PL) en desaparecer de la superficie de la córnea.
 - e. Test de Schirmer sin anestesia: Se medirá la cantidad de lágrima que segrega durante 5 minutos mediante la aplicación de una tira absorbente en el párpado inferior.

- f. Se le informará si es candidato o no para el estudio. En caso favorable, se le incluirá en el estudio.
 - g. Firma del consentimiento informado.
 - h. Recoger 2 microlitros de lágrima para analizar la presencia de citoquinas diana
 - i. Recoger 1 microlitro de lágrima para realizar osmometría
 - j. Osmolaridad lagrimal con TearLab
 - k. Toma de datos de sensibilidad mecánica y térmica (calor/frío).
 - l. Rellenar el Cuestionario sobre la discapacidad de la superficie ocular
 - m. Obtención del Suero Autólogo por parte del personal de enfermería y procesado por el personal de laboratorio de inmunología del IOBA
2. Realización del procedimiento quirúrgico y realización de fotografías digitales postquirúrgicas.
 3. Visita 1 a 5 aproximadamente (hasta la cicatrización epitelial): Se tomarán fotografías digitales de ambos ojos diariamente hasta la cicatrización epitelial completa.
 4. Visita del 7mo día postoperatorio:
 - a. Evaluación general de córnea y conjuntiva con biomicroscopía.
 - b. Tinción con fluoresceína y evaluación del estado corneal y conjuntival.
 - c. Evaluación de la función visual del paciente
 - d. Fotografía digital de ambos ojos.
 - e. Realización de Cuestionario de dolor postoperatorio
 5. Visita del primer, tercer y sexto mes postoperatorio:
 - a. Evaluación general de córnea y conjuntiva con biomicroscopía.
 - b. Toma de datos de sensibilidad mecánica y térmica.
 - a. Evaluación de la función visual del paciente.
 - b. Fotografía digital de ambos ojos.
 - c. Osmolaridad lagrimal con TearLab
 - d. Recoger 2 microlitros de lágrima para analizar la presencia de citoquinas diana
 - e. Recoger 1 microlitro de lágrima para realizar osmometría
 - f. TBUT: Medida no invasiva que evalúa el tiempo que tarda la película lagrimal (PL) en desaparecer de la superficie de la córnea.
 - g. Tinción con fluoresceína y evaluación del estado corneal y conjuntival.

- h. Test de Schirmer con anestesia: Se medirá la cantidad de lágrima que segrega durante 5 minutos mediante la aplicación de una tira absorbente en el párpado inferior.

*Ninguno de los procedimientos descritos resulta necesariamente doloroso.

Riesgos que entraña el presente estudio

No ha sido reportado ningún daño derivado de los procedimientos diagnósticos indicados más arriba. El estesiómetro es un instrumento de medida no invasivo (en ningún momento entra en contacto directo con el ojo). La toma de medidas que se van a llevar a cabo pretenden determinar el umbral de sensibilidad corneal en los sujetos de estudio, pero no rebasarlo, por lo que no existe riesgo de daño para el ojo.

El Suero Autólogo es un fluido biológico sin conservantes por lo que, aunque poco frecuente, está presente el riesgo de infección. Para evitar este riesgo se explicará al paciente las medidas de higiene y conservación a tomar por parte del laboratorio de inmunología del IOBA.

Para cualquier duda sobre el estudio puede dirigirse a:

Dr. Miguel Maldonado

Telf.: 983- 423559 y 983-423260 Correo electrónico: Maldonado@ioba.med.uva.es

Giovana Murillo Correo electrónico: gmurillop@ioba.med.uva.es

Luis Alberto Real Correo electrónico: lareale@ioba.med.uva.es

IOBA área clínica (3ª Planta), Campus Miguel Delibes. Calle del cementerio s/n. 47011 Valladolid.

ANEXO III. Consentimiento informado

D/Dña. _____ con DNI nº _____ y _____ años de edad, con domicilio en _____ provincia de _____ manifiesto que he sido informado/a por _____ sobre los detalles del proyecto de investigación que lleva por título **“EFICACIA DEL SUERO AUTÓLOGO VERSUS VEHÍCULO EN EL SÍNDROME DE OJO SECO INDUCIDO POR CIRUGÍA REFRACTIVA CORNEAL: ESTUDIO PROSPECTIVO, RANDOMIZADO Y DOBLE-ENMASCARADO”**

Su decisión de participar o no en el estudio es enteramente voluntaria y no perjudicará su futura relación con el centro investigador. Si decide participar, en cualquier momento puede dejar de colaborar con el proyecto sin tener que dar ninguna explicación a los investigadores y sin ningún tipo de perjuicio. Además, los investigadores pueden retirarle del estudio si desarrolla alguna complicación que contraindique la continuación del estudio.

Estoy de acuerdo en que mis datos personales relativos a este estudio sean almacenados, procesados electrónicamente y transmitidos, con propósitos de análisis de los datos derivados de este estudio. Doy mi consentimiento para que el personal autorizado del IOBA o las autoridades sanitarias revisen que el estudio se está llevando a cabo de manera correcta e inspeccionen mi historial referente a mi colaboración en el estudio.

Así mismo autorizo al investigador a que revele la información necesaria recogida en el estudio para que pueda ser procesada y difundida a la comunidad científica, sin que en ningún momento sea revelada mi identidad.

Declaro que todas mis dudas y preguntas han sido aclaradas, que he comprendido toda la información que se me ha proporcionado. Por ello doy mi consentimiento para participar en el estudio.

En _____, a _____ de _____ de _____

Firma del paciente

Firma del testigo

Firma del investigador

ANEXO IV. Información al paciente sobre el suero autólogo

FÓRMULA MAGISTRAL: SUERO AUTÓLOGO COLIRIO 50%

Presentación: 12 ENVASES de 3 ml

CONSERVACIÓN: CONGELADOR (~-20°C: 3 meses)

FRIGO (2-8°C: 1 semana)

PROTOCOLO DE ELABORACIÓN:

A) Extracción de Sangre:

Se citará a los pacientes para la extracción de sangre preferiblemente los miércoles entre las 9:00 y las 9:30 de la mañana.

Se le informará al paciente que podrá pasar a recoger el colirio a partir de las 17:00 horas.

Se le explicará al paciente que para la recogida es conveniente que acuda con una “mininevera” como las de insulina, para evitar el calentamiento de la preparación.

Se etiquetará el volante de petición y los tubos con las etiquetas de código de barras y **se indicará de modo bien visible en el volante la “hora exacta de la extracción”**.

Se extraerá por veno-punción 50 ml de sangre completa en 5 tubos de 10 ml sin anticoagulante y con gel separador (si los tubos no se llenan completamente, será preferible la extracción de un tubo extra).

Los celadores transferirán volante, tubos y etiquetas sobrantes a la zona de entrega de muestras de laboratorio (laboratorio de Patología Ocular, bancada frontal según se entra).

B) Procesamiento en el Laboratorio:

Se dejarán los tubos en reposo a temperatura ambiente y durante 2 horas (preferiblemente en oscuridad) por lo menos para que se produzca correctamente la coagulación.

Entretanto se prepararán e imprimirán las etiquetas adhesivas para los viales de colirio, indicando nombre y apellidos del paciente, nº de historia clínica, identificador y fecha de la extracción.

Se prepararán e imprimirán 2 etiquetas grandes (una para el prospecto y otra para la caja final). Se adherirá una etiqueta al prospecto indicando el identificador de la extracción (etiqueta de los tubos).

A partir de las 11:30 se centrifugarán los tubos a 4.000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente.

Se preparará el “kit para la Farmacia” (Usar caja refrigerada)

- los tubos de sangre centrifugados en gradilla (posición vertical)
- un tubo falcón estéril de 50 ml etiquetado con la ID de la extracción
- las 12 etiquetas identificativas de los tubos de colirio
- el prospecto del Colirio con etiqueta grande identificativa
- 2 copias de la receta para la farmacia.

Se transportarán por los celadores a la Farmacia concertada (como muy tarde a las 13:00 horas del día de la extracción). El transporte y conservación se hará en mini-neveras refrigeradas (4°C).

C) Procesamiento en la Farmacia concertada:

Se volcará la totalidad de todos los sueros (4 o 5 tubos) en el falcón de 50 ml estéril, en condiciones de esterilidad (cabina de flujo laminar, guantes y mascarilla).

Añadir al falcón estéril, la misma cantidad de BSS estéril que de suero se haya obtenido (cantidad variable en función del hematocrito de cada individuo y del volumen de sangre obtenido en cada caso particular). Cerrar el falcón y homogeneizar la mezcla.

Abrir la bolsa de frascos de colirio previamente esterilizados por gas-plasma (en la bolsa hay 3 tipos de piezas independientes: frasco, gotero y tapón a rosca)

Dispensar en cada frasco de colirio 3 ml de suero autólogo diluido al 50% (12 viales por paciente)

Colocar los goteros a los 12 viales.

Colocar los tapones a los 12 viales, asegurándose del cierre completo.

El resto del colirio restante se conservará en el Falcón de 50 ml.

Se etiquetan los 12 viales con las etiquetas adhesivas identificativas que han sido suministradas. Se mantendrán en nevera (4°C) hasta su recogida por personal del IOBA (en torno a las 17:00 horas del día de la extracción).

D) Recepción en el IOBA y dispensación a los pacientes:

El celador transportará los envases preparados desde la Farmacia concertada hasta el laboratorio de Inmunología del IOBA.

En el laboratorio se procederá a congelar el resto del suero de cada paciente, y a preparar una caja con los 12 viales y el prospecto de Colirio Autólogo, así como una etiqueta exterior indicando el contenido de los viales y el nombre del paciente.

El personal del laboratorio de Inmunología trasladará la caja así preparada a la nevera del área Clínica (sala de extracciones) informando al personal de enfermería de turno de su ubicación.

E) Dispensación a los pacientes:

Cuando el paciente se presente en admisión, el Oftalmólogo o personal de enfermería llamarán al paciente a un Gabinete y serán los encargados de entregar el producto al paciente, explicándole detalladamente la pauta de administración, así como la conservación del producto. Habrá que hacer incidencia en los siguientes aspectos:

- Refrigeración: un vial en nevera y el resto siempre congelado. Cuando se descongele un nuevo vial, mantenerlo 1-2 horas a temperatura ambiente previo al uso.
 - Caducidad: cada vial refrigerado se debe utilizar un máximo de 7 días
 - Asepsia: el paciente se debe lavar las manos antes y después de cada aplicación. No debe tocar la parte interna del tapón ni el gotero para evitar contaminaciones. No debe colocar los dispensadores del colirio al alcance de niños.
 - Posología: 4-5 aplicaciones en cada ojo al día (salvo otra pauta dictada por el oftalmólogo). Sólo 1 gota por aplicación. No es necesario aplicarse durante el sueño.
 - Problemas: posibles escozores pasajeros. Si el problema persiste, que llame inmediatamente al médico.
 - Terminación del producto: si el tratamiento es crónico o prolongado, debe avisar cuando abra el último envase de colirio. El médico responsable decidirá si se repite el protocolo o se descansa por un determinado periodo. O alternatively, revisará al paciente para evaluar efectos del tratamiento.
- Si el paciente no va a acudir el día de la extracción, sino al día siguiente. La caja con los 12 viales de colirio ha de mantenerse por lo menos a -20°C.

Anexo V. Información al paciente sobre el preoperatorio

Instrucciones para los 3 días previos a la cirugía LASEK

Dado que la cirugía es el martes, debe empezar a seguir estas instrucciones desde el domingo.

- Limpieza de los párpados (tanto superior como inferior) con las **toallitas LEPHANET**. El mismo día de la intervención, hágalo por la mañana.
- **Viscofresh 0,5 %**. Administrar 4 veces al día.

Ambos productos puede adquirirlos en cualquier farmacia.

Además de lo anterior, el mismo día de la intervención debe entrar en quirófano con la cara completamente lavada, sin cremas ni maquillaje y sin ningún tipo de perfume, tal y como se indica en otro documento que le adjunto.

Reciba un cordial saludo.

Anexo VI. Información al paciente sobre el postoperatorio

Paciente:

CIRUGIA ASA: Tratamiento y pautas postoperatorias

Los medicamentos que se subrayan a continuación deben ser adquiridos en una farmacia. El resto se administran en el IOBA. Mientras se pueda, es mejor guardar todas las gotas y colirios que se utilizan –en especial durante las 2 primeras semanas- en el frigorífico porque, cuando se administran frescas, proporcionan un alivio adicional (no se tiene que despertar por la noche para ponerlas). En este primer bloque se indican los que seguro son necesarios:

- **CASCARITA PROTECTORA**, colocar en el ojo durante las primeras 5 noches.
- **Trankimacin 0.5**, 1 compr. x las dos primeras noches (se da en el IOBA).
- **REDOXÓN (comprimidos efervescentes de 1 gramo de vit. C)** 1 compr./día x 30 días (cubre habitualmente el postoperatorio de los dos ojos).
- **HIDROXIL B12-B6-B1 (comprimidos)** 1 compr./día x 30 días (cubre habitualmente el postoperatorio de los dos ojos).
- **Ofloxacina 0,3%** colirio (**Exocin®**, Allergan Inc., Irvine, CA, USA) 1 gota 4 veces/día x 2 semanas.
- **Dexametasona 0,1%** (**Dexafree unidose®**, Laboratories Théa, Clermont-Ferrand, France) 1 gota 4 veces/día x 2 semanas. Después, Fluorometolona (**FML®**, Allergan Inc.) colirio, 3 veces/día x 2 semanas, 2/día x 2 semanas, 1/día x 2 semanas (si se va a exponer al sol de modo intenso, el FML se administrará en pasos de 4 semanas en vez de 2 semanas).
- **Hialuronato de sodio 0,18%** monodosis (**Vimed**, BRUDYLAB S.L., Barcelona, Spain) 1 gota 4 veces al día x 2 semanas. Después, Hialuronato de sodio colirio 0,15% (**Hyabak®**, Laboratories Théa), 4 veces al día durante 4 meses o durante todo el estudio. Desde el principio, si se siente sequedad ocular, añadir Carmelosa sódica monodosis 0.5% (**VISCOFRESH®**, Allergan Inc.), tanto como sea necesario para mitigar la sensación de sequedad.

SOLO SI pese a la medicación arriba indicada se produjeran molestias fuertes o dolor mal tolerado se puede seguir la siguiente pauta progresivamente:

CICLOPLÉJICO (coliro)...1 gota 3 veces al día x 2 ó 3 días. Si transcurridos 30 minutos de la primera gota resultara insuficiente para controlar la molestia añadir,

✓ **IMIGRAM NEO (compr. 50 mg)**.... 1 comprimido, y si persisten las molestias fuertes, un segundo a las 8 horas sin exceder 2 en 24 horas. No administrar más allá de estas dos ocasiones por cirugía. No administrar si se conoce que padece algún problema cardiovascular -incluida hipertensión arterial- o está tomando algún antidepresivo (saltar entonces al siguiente escalón). Si resultara insuficiente añadir,

✓ **ZALDIAR (compr.)**....1 compr. c/6h las durante las primeras 36h. Si resultara insuficiente añadir,

✓ **PRESCAÍNA 0.2% ó 0.4% ó ANESTÉSICO DOBLE (colirio)**...utilizar cualquiera de ellos pero restringir su uso al máximo sin exceder 4 veces al día durante 4 días.

Será bueno que utilice una gafa de sol adquirida en una óptica si la iluminación exterior es media-alta. Puede traerla a la intervención y salir con ella puesta aunque no es estrictamente necesario. Durante los primeros 6 meses desde la intervención, y en general durante el primer año, es bueno que se proteja del sol a dos niveles: ocular (con las gafas de sol) y cutáneo (aplicando factores de protección altos a la piel expuesta para que no se queme ni tampoco que llegue a ponerse excesivamente morena). Lea más recomendaciones en la siguiente página.

Fdo: Dr. Miguel J. Maldonado; Especialista en Cirugía Refractiva, IOBA (Nº Colegiado: 473102686).

RECOMENDACIONES GENERALES POSTOPERATORIAS:

- ✓ Será bueno que utilice una gafa de sol adquirida en una óptica si la iluminación exterior es media-alta. Puede traerla a la intervención y salir con ella puesta aunque no es estrictamente necesario. Durante los primeros 6 meses después de la intervención la utilización de la gafa de sol se será especialmente útil para sobrellevar la hipersensibilidad a la luz exterior que se experimenta con frecuencia.
- ✓ En la primera semana se recomienda lavarse la cara con cuidado de no frotar fuerte los ojos y el secado de los párpados es mejor hacerlo de arriba abajo, suavemente. En general las secreciones se acumulan en el lado nasal, cerca del lagrimal, y ahí no hay problema por limpiarse con cuidado utilizando los medios habituales o las toallitas de limpieza Lephaneet o similares.
- ✓ Durante dos semanas es mejor no abrir los ojos en agua de piscina o mar y después se recomienda el uso de una gafa de natación.
- ✓ A la semana se puede utilizar con prudencia maquillaje para los ojos, cuidando especialmente en el desmaquillado que no se frote el globo ocular con fuerza.
- ✓ Si algo entrara en el ojo se recomienda aplicar varias gotas de cualquiera de las lágrimas artificiales reseñadas en el último punto de las medicaciones y no frotar el ojo.

ANEXO VII. Cuaderno de recogida de datos

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS (CRD)

Estudio de la eficacia del suero autólogo tópico para el tratamiento preventivo del ojo seco inducido por cirugía refractiva tipo ASA

I.P.: / Prof. Dr. Miguel Maldonado López/ Profa. Dra. Margarita Calonge Cano/

Profa. Dra. María J. González García

Cirujano: Prof. Dr. Miguel Maldonado López

I.Cs.: Lda. Giovana M. Murillo Paz/ Ldo. Luis Alberto Real Enderica/ Noelia García Sanz

Apellidos y Nombre: _____

Nº Hª: _____

Diagnóstico: 1º: _____ 2º: _____

Fecha de nacimiento: _____ Edad: _____ Hombre Mujer OD OI

- | | <u>Día/Mes/Año</u> |
|--|--------------------|
| <input type="checkbox"/> VISITA 1 (Basal 7 y 10 días antes de la CRC) | ___/___/20__ |
| <input type="checkbox"/> VISITA 2 (Quirúrgico) | ___/___/20__ |
| <input type="checkbox"/> VISITA 3 (1 día post CRC) | ___/___/20__ |
| <input type="checkbox"/> VISITA 4 (1 semana post CRC) | ___/___/20__ |
| <input type="checkbox"/> VISITA 5 (2 semanas post CRC) | ___/___/20__ |
| <input type="checkbox"/> VISITA 6 (1mes post CRC) | ___/___/20__ |
| <input type="checkbox"/> VISITA 7 (3 meses post CRC) | ___/___/20__ |
| <input type="checkbox"/> VISITA 8 (6 meses post CRC) | ___/___/20__ |

Visita 1

Pre -Quirúrgico / 1 mes / 3meses/ 6 meses

Fecha: _____ Hora de inicio: _____

AV con EDTRS RX con cicloplejia
 OD: s/c _____ C/C _____ OD: _____
 OI: s/c _____ C/C _____ OI: _____

Examen externo: OD _____ / OI _____

Osmolaridad con tearlab OD _____ / OI _____ mosm

Hora.....

BPA: OD _____ / OI _____

Hiperemia conjuntival OD 0 1 2 3 4 (Escala de Efron)
 OI 0 1 2 3 4 (Escala de Efron)



Recogida de lágrima para citoquinas (1 µL) depositar en Ependorf con solución preparada.

Hora.....

Recogida de lágrima para osmolaridad (2 µL) depositar en Ependorf vacío

Hora:.....

Esperar 10 minutos

Colorantes Vitales: Aplicar tira de fluoresceína humedecida con suero fisiológico en el fondo de saco conjuntival

T-BUT
 OD _____ / _____ / _____
 OI _____ / _____ / _____

Esperar 2 minutos (Esquema Oxford) valorar córnea

Fluoresceína: OD 0 1 2 3 4 5

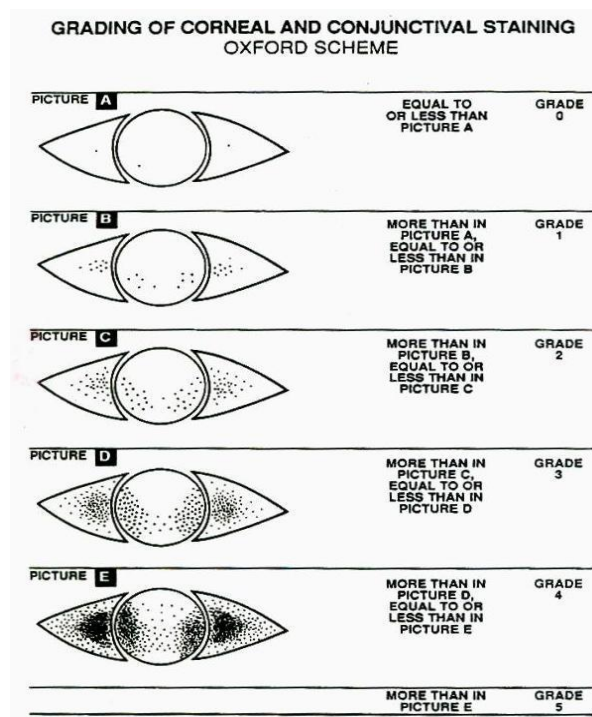
OI 0 1 2 3 4 5

Aplicar tira de Verde de lisamina humedecida con suero fisiológico sobre el menisco inferior (valorar conjuntiva)

Esperar 1 minuto (Esquema de Oxford)

Verde de Lisamina: OD 0 1 2 3 4 5

OI 0 1 2 3 4 5



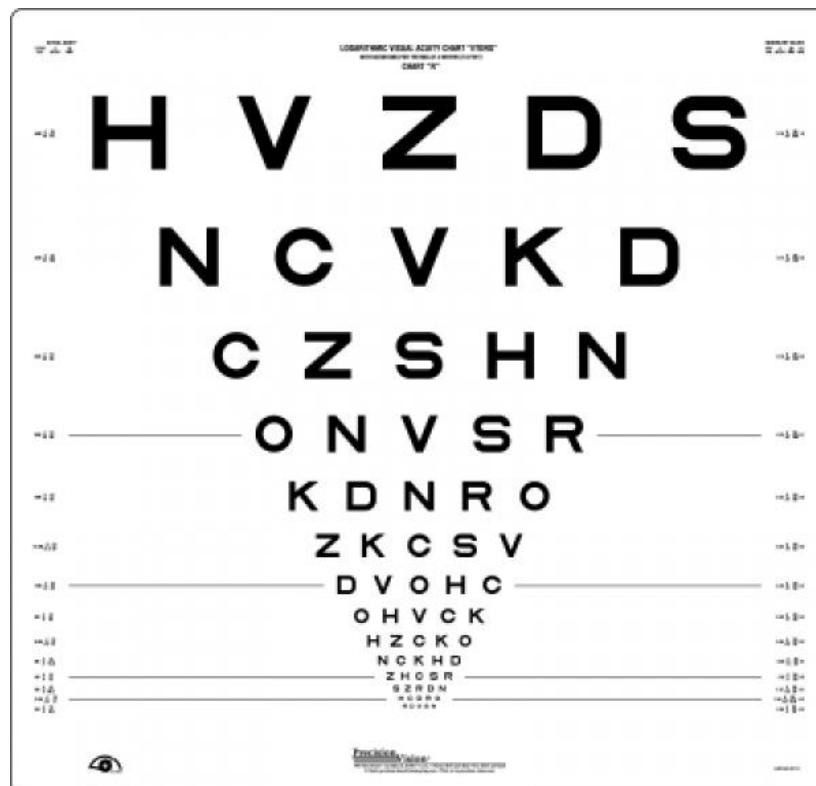
Test de Schirmer II OD _____ / OI _____ mm

PIO OD..... /OI..... mmHg hora.....

Estesiometría mecánica y térmica de Belmonte (rellenar cuadro adjunto)

ANEXO VIII. Escala para la toma de agudeza visual

Logarithmic Visual Acuity Chart "ETDRS" with notations for testing at 4 meters



ANEXO IX. Cuestionario enfermedad de la superficie ocular (OSDI)

(versión española homologada del "Ocular Surface Disease Index" –OSDI-)

Por favor, conteste a las siguientes preguntas marcando con una cruz (X) la casilla que mejor describa su respuesta

¿Ha experimentado algunos de los siguientes síntomas durante la pasada semana?

	Siempre (4)		Casi siempre (3)		La mitad del tiempo (2)		Algunas veces (1)		Nunca (0)	
	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
1. Ojos sensibles a la luz										
2. Sensación de tener arena en los ojos										
3. Ojos doloridos (dolor/escozor)										
4. Visión Borrosa										
5. Mala Visión										

Subtotal suma respuestas 1 a 5 : A:

¿Los problemas con sus ojos le han limitado a la hora de realizar alguna de las siguientes actividades durante la pasada semana?

	Siempre (4)		Casi siempre (3)		La mitad del tiempo (2)		Algunas veces (1)		Nunca (0)		No procede	
	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
6. Lectura.												
7. Conducir de noche												
8. Usar un ordenador o un cajero automático												
9. Ver la televisión												

Subtotal de respuestas 6 a 9 : B:.....

¿Ha sentido molestias en los ojos en alguna de las siguientes situaciones, durante la pasada semana?

	Siempre (4)		Casi siempre (3)		La mitad del tiempo (2)		Algunas veces (1)		Nunca (0)		No procede	
	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
10. Cuando hacía viento												
11. En lugares con una humedad baja (muy secos)												
12. En lugares con aire acondicionado												

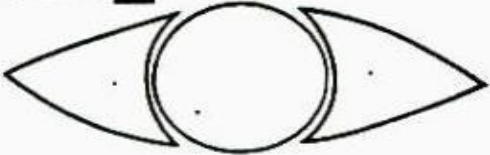

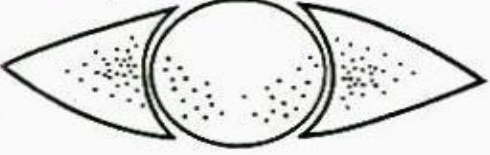
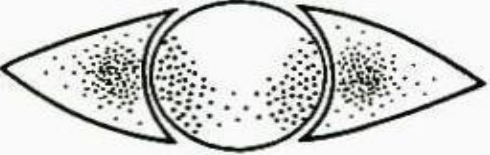
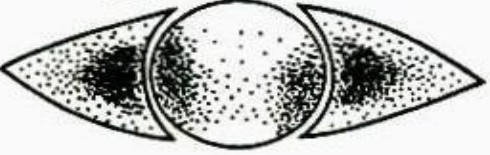
ANEXO X. Valoración de la Hiperemia de la Superficie Ocular

Por Nathan Efron (Escala subjetiva de 0-4+)



Enrojecimiento conjuntival		
Clasificación		Descripción
0	Normal	Conjuntiva bulbar blanca Un vaso más grande Cornea transparente
1	Indicios	Leve aumento del enrojecimiento conjuntival Vasos grandes mas ingurgitados
2	Leve	Mayor aumento del enrojecimiento conjuntival Enrojecimiento límbico Leve inyección ciliar
3	Moderado	Conjuntiva muy enrojecida Mayor enrojecimiento límbico Inyección ciliar
4	Grave	Enrojecimiento conjuntival extremo Limbo muy enrojecido Inyección ciliar intensa Reflujo en los vasos grandes

ANEXO XI. Valoración de la tinción corneal (fluoresceína) y conjuntival (verde de lisamina) según el esquema de Oxford

GRADING OF CORNEAL AND CONJUNCTIVAL STAINING OXFORD SCHEME		
<p>PICTURE A</p> 	<p>EQUAL TO OR LESS THAN PICTURE A</p>	<p>GRADE 0</p>
<p>PICTURE B</p> 	<p>MORE THAN IN PICTURE A, EQUAL TO OR LESS THAN IN PICTURE B</p>	<p>GRADE 1</p>
<p>PICTURE C</p> 	<p>MORE THAN IN PICTURE B, EQUAL TO OR LESS THAN IN PICTURE C</p>	<p>GRADE 2</p>
<p>PICTURE D</p> 	<p>MORE THAN IN PICTURE C, EQUAL TO OR LESS THAN IN PICTURE D</p>	<p>GRADE 3</p>
<p>PICTURE E</p> 	<p>MORE THAN IN PICTURE D, EQUAL TO OR LESS THAN IN PICTURE E</p>	<p>GRADE 4</p>
	<p>MORE THAN IN PICTURE E</p>	<p>GRADE 5</p>