

VALIDACIÓN DE UN MODELO CLÍNICO EN HUMANOS PARA LA EVALUACIÓN DEL DOLOR AGUDO POSTOPERATORIO

Eva María Sobas Abad

Tesis Doctoral

Directores:

Dr. José Carlos Pastor Jimeno

Dr. Miguel Maldonado López

MAYO 2017





Universidad de Valladolid



**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA VISIÓN
INSTITUTO UNIVERSITARIO DE OFTALMOBIOLOGÍA APLICADA
DE LA UNIVERSIDAD DE VALLADOLID**

TESIS DOCTORAL:

**VALIDACIÓN DE UN MODELO CLÍNICO EN
HUMANOS PARA LA EVALUACIÓN DEL DOLOR
AGUDO POSTOPERATORIO**

Presentada por D.^a EVA MARÍA SOBAS ABAD para optar al
grado de

Doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por los doctores:

J. CARLOS PASTOR JIMENO y MIGUEL J. MALDONADO LÓPEZ

2017



AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE TESIS

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

El Dr. J. Carlos Pastor Jimeno, con D.N.I. 15.771.327-T, Catedrático de Oftalmología. Profesor del Departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia. Universidad de Valladolid.

El Dr. Miguel J. Maldonado López, con D.N.I 25.149.971-T, Profesor Titular de Oftalmología, Departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia. Universidad de Valladolid.

Dirección a efecto de notificaciones: Edificio IOBA, Paseo de Belén 17, Campus Miguel Delibes, 47011, Valladolid.

Como Directores de la Tesis Doctoral Titulada "Validación de un modelo clínico en humanos para la evaluación del dolor agudo postoperatorio", realizada por Doña Eva María Sobas Abad, alumna del Programa de Doctorado en Ciencias de la Visión del IOBA, autorizan la presentación considerando que es apta para su defensa.

El Director de la Tesis,

José Carlos Pastor Jimeno

El Director de la Tesis,


Miguel José Maldonado López

Valladolid, a 13 de Marzo de 2017

A mi familia,

A mi madre:

Recuerdo cuando se pasaba esto por tu mente: "Algún día diré, no fue fácil, pero lo logré".

Tuviste coraje y lo conseguiste. 

A mi padre:

Tú me has escrito esta frase: "El éxito está detrás del trabajo y del sacrificio".

A mi hermano:

Por decirme las cosas más difíciles cuando lo más fácil era callar.

A Nuria:

Por saber decir las cosas importantes desde el silencio.

He sido afortunada porque los valores que no vienen en los libros

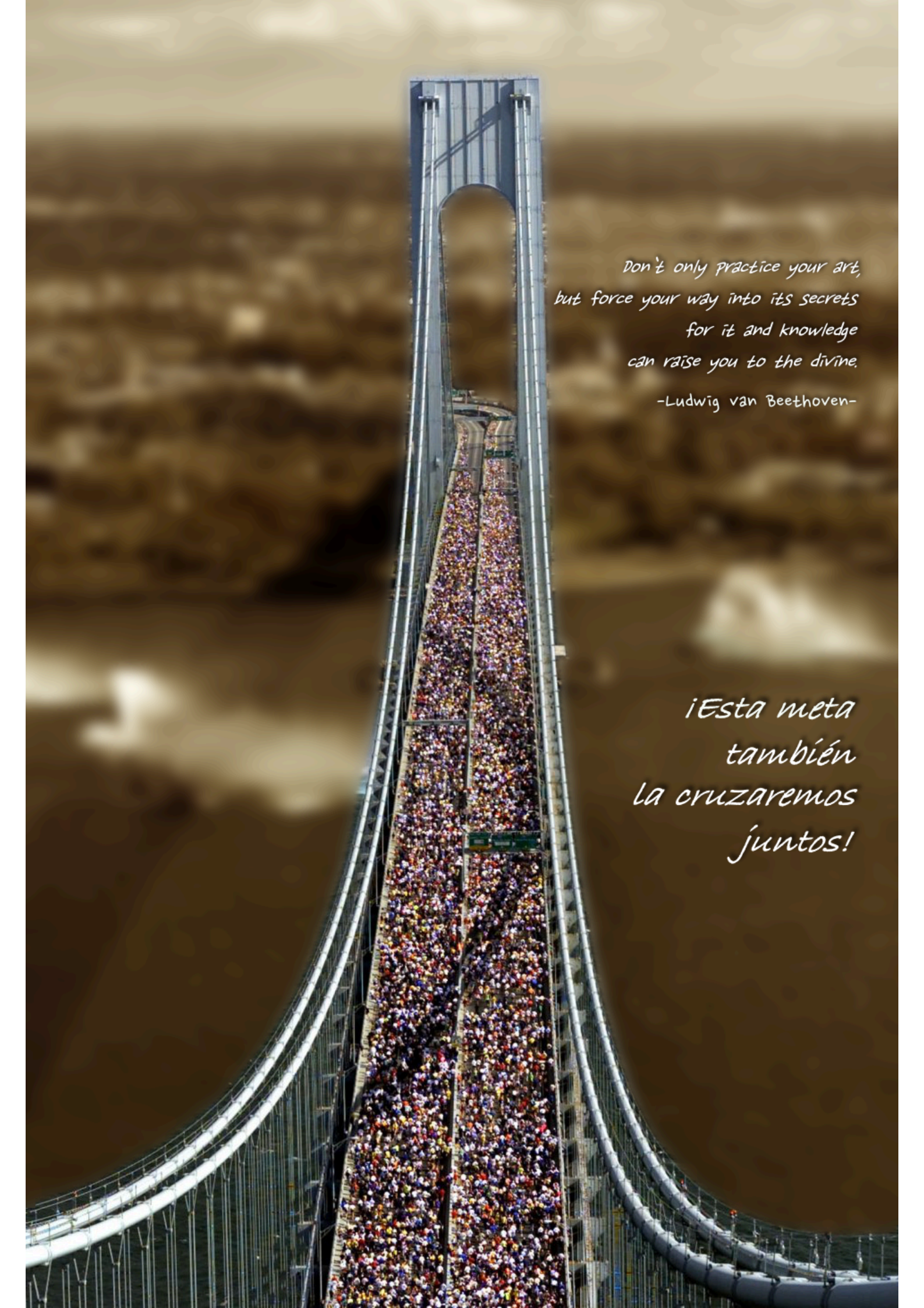
los he aprendido de vosotros.

De mi maestro:

“But I know this: you were determined to win and I was just as determined to die if I lost. Thus was the difference between us”.

“Today I am a wiser man than I was yesterday. I’m a human being, and a human being is a vulnerable creature, who cannot possibly be perfect. After he dies, he returns to the elements. Matter is void. All is vanity. We are like blades of grass or trees of the forest, creations of the universe, of the spirit of the universe, and the spirit of the universe has neither life nor death. Vanity is the only obstacle to life”.

Matsumura’s words in Karate do, by Gichin Funakoshi



*Don't only practice your art,
but force your way into its secrets
for it and knowledge
can raise you to the divine.*

-Ludwig van Beethoven-

*¡Esta meta
también
la cruzaremos
juntos!*

AGRADECIMIENTOS

Pues sí, lo conseguí: ¡llegué a la línea de meta!

Echo la mirada hacia atrás y no me atrevo a poner la fecha de cuándo empezó esta aventura, que ha sido una buena carrera de fondo. Pero lo que sí me atrevo a decir, y bien alto, es que no hubiese podido conseguirlo sin las personas que de una o de otra manera han estado presentes, me han ayudado y han hecho posible que llegase hasta la línea de meta.

No hubiese podido escribir estas líneas si no me hubiesen enseñado a soñar y a perseguir mis sueños. Gracias “jefe” por apostar, por confiar y por tirar de mí. Gracias por las horas que ha invertido intentando transmitirme esos conocimientos que solo se adquieren con la experiencia. Gracias por atreverse a ser mi Director. He abierto el primer documento de tesis y la verdad es que tuvo mucho valor por afrontar este reto. Pero escribir estos agradecimientos me han servido para repasar las etapas de esta carrera, y debo decir que también hemos pasado por momentos difíciles y amargos. Se han derramado lágrimas y no han sido por llevar el viento en contra. Pero superar estas dificultades es lo que me ha permitido llegar a una conclusión final: gracias por haberme dejado formar parte de su sueño.



Gracias a mi otro director, el doctor Maldonado, especialmente por estar en los momentos más difíciles y por darme la oportunidad de aprovecharme de su prestigio, que nos abrió las puertas de la Clínica Baviera y que el doctor Manolo Marcos no dudase ni un segundo en colaborar con un proyecto que venía de la mano del primero. Aprovecho para agradecerles a ambos su disposición, su colaboración y el honor de trabajar con ellos.



En esta carrera se cruzó muy al principio un “caminante” peculiar. No lo digo porque sea catalán, sino porque a día de hoy sigue ahí, no ha perdido la paciencia y sigue enseñándome con una capacidad asombrosa a transformar en fáciles las cosas que yo veo complicadas. Hablo de Sebas, mi director en la sombra, a quien agradezco su complicidad.



Gracias a los Laboratorios Esteve porque sin su ayuda los proyectos no hubiesen podido llevarse a cabo, aunque lo más importante es que nos han dado la posibilidad de seguir apuntándonos a otras carreras y de otro nivel. Gracias por mantener la Cátedra, que nos permite seguir incorporando a personas dispuestas a soñar, y gracias por apostar por la Unidad del Dolor Ocular. Para mí, poner a punto la misma ha sido igual de ilusionante que el día que me pueda preparar para disputar mi maratón más deseada, la de Nueva York.

No me puedo olvidar de la Facultad en donde me formé. Dar las gracias especialmente a las doctoras Malén y María José por darme la oportunidad de volver a ella y poder hacer una de las cosas que más me gusta: enseñar.



Y tengo que decir que esto no ha sido fruto de la casualidad. Rita, tú tienes la culpa de ponerme en contacto con el “mundo del ojo”. Siempre he pensado que la profesionalidad y la pasión que me mostraste en esas prácticas en el quirófano de neurología me hizo ir a buscarte un año más tarde para aceptar un reto del que tú formabas parte.

Pensar en Rita va ligado a la necesidad de dar un abrazo a la persona que me hizo participe de un equipo humano muy especial, y que ella misma creó. Gracias María Ángeles por ser capaz de transmitirnos esa esencia, clave de que todavía seguimos juntas. Sí, sí, me refiero a vosotras: Esther, Inés, Anita, Marisa, Maku, María. Gracias por ser mis compañeras y en ocasiones mis confidentes. Y, tú Pepe, ¿qué piensas?, ¿que me he olvidado de ti? Imposible: hemos vivido demasiadas cosas juntos como para no darte las gracias por seguir ahí a mi lado, a pesar de mis... repentes.



Y hablando de repentes: tengo que agradecer de una manera muy especial a Rubén, por no haberme dicho nunca un NO.

¡Compañeros del IOBA! Alfredo, Laura, Marina, Nieves, Sara, Pinto, Ana, Antonio, Carmen, Mari Paz, Alberto, Charly, Mario, Antonio, porque vuestras aportaciones están en este trabajo, pero también hay algo más, el cariño que me habéis dado dentro y fuera del IOBA con las zapatillas puestas bajo la lluvia.



Una mención especial a José Albero, Ángela y Ana por ayudarme en numerosas ocasiones.

A las secretarias, en especial a Virginia, por ayudarme en mis momentos bajos y a una persona que aunque ya no esté en el IOBA es imposible no recordar. Lurdes: gracias por estar siempre disponible.



Debo agradecer a tres personas del IOBA que han sido fundamentales en el desarrollo de este trabajo. A la doctora Calonge por su empuje en la última etapa, y a los doctores Itziar y Roberto por su labor metódica impecable que ha permitido obtener los resultados que ahora se ven.

Gracias, Eduardo Tamayo, por facilitarme tus contactos porque creo que van a ser una pieza clave en todo lo que está por llegar.

Gracias también a una persona que en ocasiones ha sido “mi cómplice”: Paco Cantalapiedra.

A mis amigos, porque siempre tenéis una palabra de aliento y apoyo en el momento más oportuno. Gracias Belver por ese abrazo cuando más lo necesitaba.

Gracias Isa por enseñarme que siempre hay un lado bueno en todas las cosas y una excusa para sonreír, ánimo luchadora. Patri, Sonia, Bego, Neli, gracias chicas por entenderme y apoyarme en todo momento. Moni gracias por seguir ahí aunque no he sabido ayudarte como necesitabas. Vane y Eva, gracias por confiar en mí y por hacerme sonreír recordando nuestras locuras.



A mis compis del running, por ser una vía de escape, pero especialmente a Pedrito. En este trabajo también está tu esencia.



Ahora solo me queda cruzar la línea de meta, pero tengo ganas de seguir, e incluso estoy nerviosa por todo lo que viene. Amanda, Elena: preparad las zapatillas de trail porque en la próxima carrera las vamos a necesitar.

A mi familia: tíos y prima, porque siempre he recibido una palabra de cariño.



Y para terminar agradecer a las personas que ni un solo día han dejado de estar a mi lado, celebrando éxitos y fracasos. Gracias a mis padres y a mi hermano por modelarme, o por lo menos intentarlo, porque esta señorita es como el cemento. Gracias Nuria por ser el engranaje perfecto en esta familia. Gracias “enano”, tú no eres consciente pero has hecho que momentos muy difíciles se transformasen en llevaderos.

Y el toque final le dejo para ti, “rubito”. Ya sé que a ti te gustan las cosas más formales pero yo soy así. Estoy segura de que sin ti, esta última etapa no hubiese sido lo mismo. Gracias por hacerme el trabajo más llevadero, por tu paciencia, por dar tranquilidad a mis turbulencias, e incluso gracias por acelerarme cuando estaba en calma. Pero te aviso: aunque estemos cruzando juntos esta meta, cuando tengamos un dorsal puesto intentaré pasarte aunque sea en el sprint.



¡Gracias a todos por cruzar la meta a mi lado!

FINANCIACION

El tercer trabajo de esta memoria ha recibido financiación de los Laboratorios Dr. ESTEVE, S.A.U.

Comunicaciones a las que ha dado lugar:

- Título del trabajo: Biomarcadores y dolor
Nombre del congreso: Seminario de Investigación dentro del Programa de Doctorado en Ciencias de la Visión
Ciudad de Celebración: Valladolid
Fecha de Celebración: 29/10/2014
Entidad organizadora: Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), Universidad de Valladolid
Eva María Sobas Abad
- Título del trabajo: Biomarcadores en dolor Ocular
Nombre del congreso: XIII Reunión anual del Grupo Español de Superficie Ocular y Córnea (GESOC)
Ciudad de celebración: Oviedo
Fecha de celebración: 20/03/2015
Entidad organizadora: Instituto Oftalmológico Fernández-Vega
Eva María Sobas Abad
- Título del trabajo: Tratamientos para el dolor ocular derivado de la cirugía de Ablación de Superficie Avanzada: revisión sistemática
Nombre del Congreso: XIV Congreso de la SEEOF
Ciudad de celebración: Sevilla
Fecha de celebración: 24/09/2015
Fecha de finalización: 26/09/2015
Entidad Organizadora: Sociedad Española de Enfermería Oftalmológica (SEEOF)
Amanda Vázquez Hernández, Eva María Sobas Abad
- Titulo del trabajo: sIgA and sTNF α have the best profile to be considered good salivary biomarkers for pain
Nombre del Congreso: 19th International Nursing Research Conference
Ciudad de celebración: Cuenca
Fecha de celebración: 17/11/2015
Fecha de finalización: 20/11/2015
Eva María Sobas Abad, Amanda Vázquez Hernández

- Título del trabajo: Tratamientos para el dolor ocular derivado de la cirugía de Ablación de Superficie Avanzada: revisión sistemática.
Nombre del Congreso: 19th International Nursing Research Conference
Ciudad de celebración: Cuenca
Fecha de celebración: 17/11/2015
Fecha de finalización: 20/11/2015
Amanda Vázquez Hernández, Eva María Sobas Abad
- Título del trabajo: El dolor ocular y el disconfort después de la cirugía de Ablación de Superficie Avanzada: unas quejas desconocidas
Nombre del congreso: XIII Congreso Nacional de la Sociedad Española del Dolor (SED)
Ciudad de celebración: Pamplona
Fecha de celebración: 02/06/2016
Fecha de finalización: 04/06/2016
Entidad organizadora: Sociedad Española del Dolor
Eva María Sobas Abad, Amanda Vázquez Hernández
- Título del Trabajo: Dolor ocular crónico: revisión sistemática. XIII Congreso de la Sociedad Española de Dolor
Nombre del congreso: XIII Congreso Nacional de la Sociedad Española del Dolor (SED)
Ciudad de celebración: Pamplona
Fecha de celebración: 02/06/2016
Fecha de finalización: 04/06/2016
Entidad organizadora: Sociedad Española del Dolor
Amanda Vázquez Hernández, Verónica Velasco González, Elena Martínez Plaza, Eva María Sobas Abad

Premios a los que ha dado lugar:

- **Primer premio en el Concurso “Desafío Universidad-Empresa 2016”**
Título de la Propuesta Universitaria: Caracterización clínica y molecular de pacientes con dolor ocular crónico
Grupo Investigador: Grupo de Superficie Ocular del Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), Universidad de Valladolid
Entidad organizadora: Consejería de Castilla y León y Fundación Universidades y Enseñanzas Superiores de Castilla y León (FUESCYL)
Fecha de resolución: 09/03/2017



CURRICULUM VITAE

Eva María Sobas Abad

Enfermera Especialista en Oftalmología (1996–1999)

Profesora Asociada de la Universidad de Valladolid (desde 2008)

Formación Académica

- 1996-1999: Diplomado Universitario en Enfermería (BSc)
- 1999-2000: Especialista Universitario en Enfermería Oftalmológica. Título propio de la Universidad de Valladolid.
- 2008-2009. Master Interuniversitario en Ciencias de la Visión IOBA Universidad de Valladolid (MSc).

Publicaciones científicas

- Sobas EM, Videla S, Maldonado MJ, Pastor JC. Ocular pain and discomfort after advanced surface ablation: an ignored complaint. *Clinical Ophthalmology*. 2015. Sep 4;9:1625-32.
- Sobas EM, Reinoso R, Cuadrado-Asensio R, Fernández I, Maldonado MJ, Pastor JC. Reliability of Potential Pain Biomarkers in the Saliva of Healthy Subjects: Inter-Individual Differences and Intersession Variability. *PLoS One*. 2016 Dec 1;11(12):e0166976.
- Sobas EM, Videla S, Vázquez A, Fernández I, Maldonado MJ, Pastor JC. Pain Perception Description After Advanced Surface Ablation. *Clinical Ophthalmology*. 2017. Aceptado pendiente de publicación.

Comunicaciones en congresos

- Título del trabajo: Biomarcadores en dolor Ocular
Nombre del congreso: XIII Reunión anual del Grupo Español de Superficie Ocular y Córnea (GESOC)
Ciudad de celebración: Oviedo
Fecha de celebración: 20/03/2015
Entidad organizadora: Instituto Oftalmológico Fernández-Vega

- Título del trabajo: Medición del dolor y disconfort en el postoperatorio de la cirugía refractiva
 Nombre del congreso: III Congreso de enfermería Oftalmológica (SECOIR-E)
 Ciudad de celebración: Barcelona
 Fecha de celebración: 15/05/2015
 Fecha de Finalización: 16/05/2015
 Entidad organizadora: Sociedad Española de Enfermería Oftalmológica
- Título del trabajo: sIgA and sTNF α have the best profile to be considered good salivary biomarkers for pain
 Nombre del congreso: 19th International Nursing Research Conference
 Ciudad de celebración: Cuenca
 Fecha de celebración: 17/11/2015
 Fecha de Finalización: 20/11/2015
 Entidad organizadora: Investén-isciii
- Título del trabajo: El dolor ocular y el disconfort después de la cirugía de Ablación de Superficie Avanzada: unas quejas desconocidas
 Nombre del congreso: XIII Congreso Nacional de la Sociedad Española del Dolor (SED)
 Ciudad de celebración: Pamplona
 Fecha de celebración: 02/06/2016
 Fecha de finalización: 04/06/2016
 Entidad organizadora: Sociedad Española del Dolor

Premios

- **Primer premio en el Concurso “Desafío Universidad-Empresa 2016”**
 Título de la Propuesta Universitaria: Caracterización clínica y molecular de pacientes con dolor ocular crónico
 Grupo Investigador: Grupo de Superficie Ocular del Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), Universidad de Valladolid
 Entidad organizadora: Consejería de Castilla y León y Fundación Universidades y Enseñanzas Superiores de Castilla y León (FUESCYL)
 Fecha de resolución: 09/03/2017

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| ABREVIATURAS | 1 |
| JUSTIFICACIÓN | 3 |
| ESTADO ACTUAL DEL TEMA | 7 |
| RELACIÓN TEMÁTICA DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS | 23 |
| HIPÓTESIS..... | 27 |
| OBJETIVOS..... | 29 |
| METODOLOGÍA | 31 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 43 |
| LIMITACIONES DE LOS TRABAJOS | 65 |
| CONCLUSIONES | 69 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 71 |
| TRABAJOS | |
| ANEXOS | |

ABREVIATURAS

- AAS: Alfa Amilasa Salival
- ACP: Análisis de Componentes Principales
- AINES: Antiinflamatorio no Esteroideos
- ASA: Ablación de Superficie Avanzada
- BSS: Solución Salina Balanceada
- CCI: Coeficiente de Correlación Intraclase
- COX: Ciclooxygenasa
- CCV: Cuestionario de Calidad de Vida
- CFV: Cuestionario sobre la Función Visual
- DE: Desviación Estándar
- Epi-LASIK: Queratomileusis Asistida por Laser realizada por el epiqueratomo
- EN: Escala Numérica de Dolor
- ENV: Escala Numérica Verbal
- EVA: Escala Visual Analógica
- FDA: Organismo Federal para Medicamentos y Alimentos de los EEUU
- GABA: Ácido Gamma-Aminobutírico
- HAD: Cuestionario Hospitalario de Ansiedad y Depresión
- IgAs: Inmunoglobulina A Secretora
- IC: Intervalo de Confianza
- LASEK: Queratomileusis Subepitelial Asistida por Láser

- LASIK: Queratomileusis Asistida por Laser in situ
- LCB: Lente de Contacto Blanda
- LoA: Limites de Acuerdo
- PRK: Queratectomía Fotorrefractiva
- PTK: Queratectomía Fototerapéutica
- Receptores 5-HT: Receptores de 5-Hidroxitriptamina
- S1RA: Antagonista del receptor sigma 1
- sRIITNF α : Fracción Soluble del Receptor II del Factor de Necrosis Tumoral α
- S_w : Desviación estándar intra-sujeto

JUSTIFICACIÓN

La corrección de las ametropías con láser es uno de los procedimientos quirúrgicos electivos más utilizados en oftalmología. Dentro de todos ellos, la cirugía de ablación de superficie avanzada (ASA), la queratectomía fotorrefractiva (PRK) y sus variaciones se consideran procedimientos seguros y eficaces para corregir los errores refractivos.¹ Entre todos ellos, la cirugía de ASA presenta actualmente una tendencia a una mayor realización que la Queratomileusis Asistida por Laser in situ (LASIK) por estar considerada como una cirugía mas eficaz y sobre todo segura.² Pero una de las principales limitaciones de esta cirugía (ASA) es la aparición de sintomatología aguda post-operatoria de cierta intensidad como son el dolor y el discomfort.³ En general, la literatura no recoge demasiada información sobre esta sintomatología subjetiva⁴ por lo que en estos momentos los esfuerzos de la investigación se centran en intentar definir las mejor, caracterizarlas adecuadamente y si es posible reducirlas. Entre ellas, destaca por su prevalencia e intensidad el dolor postoperatorio.⁵

Si se definiera adecuadamente su comportamiento en el postoperatorio de la cirugía de ASA, es decir, si se conociera exactamente cuándo empieza, cuando alcanza su pico máximo, cuanto es su duración, e incluso si se averiguara si se produce de igual manera en todos los sujetos, se podrían aportar datos de utilidad para abrir nuevas líneas de investigación y sobre todo, para prevenirlo y controlarlo adecuadamente.

Una de estas actuaciones sería la mejora de los protocolos analgésicos que existen en la actualidad. Es evidente que los protocolos que ahora se emplean no son todo lo efectivos que deberían ser y hasta ahora, ninguno ha sido considerado como ideal o se encuentra universalmente aceptado.⁶

Pero también parece interesante profundizar en otra cuestión no directamente relacionada con la corrección de ametropías. Parece evidente que hacen falta nuevos modelos clínicos para evaluar fármacos analgésicos por vía sistémica y se ha pensado que por sus características, la cirugía de ASA pudiera ser útil como modelo de evaluación de dolor agudo post-operatorio. Por muchas razones que se discutirán posteriormente, esta cirugía reglada sobre el tejido

mas inervado de la anatomía⁷, presenta muchas de las características que la hacen apropiada para competir con otros modelos de evaluación clínica del dolor que hoy están aceptados, tales como los de la cirugía de impactación de los molares⁸ o la mastectomía⁹, y que a priori parecen más complejos y quizás menos estandarizables. De esa manera se abriría una nueva línea de investigación mas allá de las alteraciones oculares de la cirugía refractiva, que podría ser útil a la industria farmacéutica que necesita ese tipo de modelos clínicos para evaluar los nuevos fármacos.

Dentro de este contexto se encuadra la búsqueda de biomarcadores de dolor en determinados fluidos como la saliva. La medición objetiva del dolor sigue siendo un reto, especialmente para el dolor agudo postoperatorio y para el dolor crónico. Actualmente, en clínica se utilizan los métodos subjetivos basados en escalas analógicas visuales para medir el dolor y para evaluar la utilidad de los tratamientos.¹⁰ Sin embargo, a pesar de la amplia aceptación de estas escalas para fines de investigación¹⁰⁻¹², existe la necesidad de encontrar sistemas de medición del dolor más objetivos. En los últimos años, se han descrito algunos posibles biomarcadores en saliva¹³⁻¹⁵, pero hasta ahora ninguno, ha sido validado para estudios clínicos de estas características. Además, no existen estudios que los analicen como grupo, en sujetos normales para establecer la reproducibilidad y la fiabilidad de las mediciones en el tiempo, factores clave si se desea que sustituyan a las escalas.

Como se ha mencionado, en este proyecto se ha analizado la variabilidad de cinco posibles biomarcadores descritos en la literatura como relacionados con dolor en población normal, tema que no había sido abordado según la extensa revisión efectuada.

Y sin embargo, este tema ha cobrado interés en los últimos años, como lo demuestran el número creciente de autores que participan en estas investigaciones.¹⁶⁻¹⁸

El objetivo final de este proyecto es el iniciar una línea de investigación en dolor ocular, en el IOBA de la Universidad de Valladolid y como primer resultado el establecer si la cirugía de ASA puede ser la base para establecer un nuevo modelo clínico para el estudio del dolor agudo postoperatorio.

Además, es factible que estos trabajos consoliden una línea de investigación aplicada y que aborde uno de los temas prioritarios del programa Horizonte 2020 de la Unión Europea.

Enlaces web programa Horizonte 2020:

<https://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en/area/health>

<https://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en/news/what-your-saliva-tells-you-about-your-heart-health>

ESTADO ACTUAL DEL TEMA

Evolución de la Cirugía Refractiva

La queratectomía fotorrefractiva (PRK) fue desarrollada a principios de la década de los 80. Pero no fue hasta 1995 cuando la FDA (Food and Drug Administration) aprobó el primer procedimiento de cirugía refractiva utilizando el láser excimer de forma segura para la corrección de la miopía, la hipermetropía y el astigmatismo. La desventaja más importante que presenta esta técnica es la producción de dolor postoperatorio asociado a la desepitelización y a la exposición de las terminaciones nerviosas corneales.^{19, 20} Este dolor postoperatorio y la lenta recuperación visual de la PRK han limitado la aceptación de este procedimiento impulsando la popularidad de la cirugía denominada queratomileusis asistida por laser in situ (LASIK).^{21, 22}

La técnica LASIK apareció en 1990. Se sirve de un anillo de succión corneal que inmoviliza el ojo del paciente y permite realizar un colgajo o “*flap*” corneal por medio de un microqueratomo o utilizando un láser de femtosegundos. Después de la aplicación del láser se reposiciona el “*flap*”. Esto hace que el paciente tenga una recuperación más rápida y menos molestas que con la PRK.²³

Sin embargo, el que en la PRK la remodelación de la córnea se realice sin incisión del estroma corneal, le convierte en un procedimiento más seguro para las corneas más finas, más curvadas o más planas; para los pacientes con glaucoma; o con antecedentes de desprendimiento de retina.^{24, 25}

En la PRK, la técnica original del desbridamiento del epitelio se realizaba mecánicamente usando una espátula. Pero se han ido incluyendo otras técnicas de eliminación del epitelio dentro de la técnica de PRK como son el láser transepitelial, o mediante la realización de un cepillado o por medio de alcohol diluido aplicado sobre el epitelio de la cornea. El objetivo de estas investigaciones es encontrar métodos más seguros, que no dañen la superficie del estroma, más rápidos y con una rehabilitación visual más rápida.²⁶⁻²⁸

Con la idea de crear una cirugía menos dolorosa y más eficiente han ido surgiendo otras técnicas de ablación de superficie como son la queratomileusis subepitelial asistida por láser (LASEK), la queratomileusis asistida por laser realizada por el epiqueratomo (epi-LASIK) y la ablación de superficie avanzada (ASA).^{29, 30}

En la cirugía LASEK se usa el alcohol para eliminar el epitelio, el cual es eliminado manualmente y reemplazado después del tratamiento con el láser excimer.³¹

EL epi-LASIK es una variante del LASEK, en la cual el epitelio corneal se separa usando un instrumento llamado epiqueratomo y se reposiciona después de la ablación estromal. Si el “*flap*” epitelial no puede recolocarse recibiría el nombre de “off-flap epi-LASIK”.³²

El ASA es una técnica similar a la PRK, donde la diferencia fundamental radica en que el desbridamiento del epitelio se realiza a través de alcohol etílico diluido al 18% en lugar de mecánicamente como se realiza tradicionalmente en la PRK, y además; se delimita la desepitelización a un borde uniforme previamente marcado, se utilizan sustancias frías de irrigación durante la intervención y frío local postoperatorio tras colocar una lente de contacto terapéutica en vez de ocluir el ojo. La razón de realizar ASA en lugar de PRK se ha basado en las observaciones de que el desbridamiento del epitelio corneal con la ayuda del alcohol etílico es altamente eficiente,³³ crea una superficie de ablación más suave,³⁴ acelera la recuperación visual,²⁸ y disminuye la posibilidad de la opacificación corneal.³³ Aunque algunos estudios señalan que el alcohol etílico es tóxico para el epitelio corneal y los queratocitos, como lo demuestra el aumento de la apoptosis celular,³⁵ otros resultados indican que no influye significativamente en la reepitelización durante el periodo postoperatorio.^{28, 33}

En la actualidad, la cirugía de ASA se ha convertido en una alternativa a otros procedimientos de ablación de superficie como son la PRK y el LASEK.³⁶

Inervación corneal

La córnea humana es el tejido más densamente inervado del cuerpo. La densidad nerviosa corneal es entre 20 y 40 veces superior a la que posee la pulpa dental y de entre 300 a 600 veces superior a la de la piel.³⁷ La mayor parte de la inervación, tanto corneal como de la conjuntiva bulbar, proviene de la rama oftálmica del trigémino (V par craneal).³⁸ Cada córnea esta inervada por las fibras provenientes del ganglio trigémino ipsilateral.³⁹ Además, parte de la inervación corneal inferior procede de la rama maxilar.³⁷

La sensibilidad corneal es recogida por tres tipos diferentes de fibras nerviosas: las fibras mecanosensoriales (aproximadamente el 20%) que son activadas únicamente mediante fuerzas mecánicas,⁴⁰ las fibras nociceptivas polimodales (aproximadamente el 70%) que responden a una gran variedad de estímulos (fuerzas mecánicas, sustancias irritantes, temperaturas extremas y mediadores inflamatorios endógenos)⁴¹ y las fibras frías (aproximadamente el 10%) que responden preferentemente a descensos de temperatura de la superficie ocular.⁴²

Las fibras mecanosensoriales son fibras de tipo A-delta (Δ - δ), que pierden su envoltura de mielina al entrar en el estroma corneal donde forman el plexo subepitelial. Son fibras básicas, por lo que únicamente indican la intensidad del estímulo y no su duración.⁴³ Las fibras nociceptivas polimodales están formadas por fibras de tipo C.³⁹ Son fibras complejas sin envoltura de mielina, por lo que poseen una menor velocidad de transmisión que las fibras Δ - δ . Señalan tanto la intensidad como la duración del estímulo. Las fibras frías se comportan tanto como fibras Δ - δ , como fibras C modificadas, que aumentan su frecuencia de disparo cuando la temperatura corneal varía, detectando variaciones de temperatura de 0,1°C o menores. Las fibras frías están presentes en córnea y limbo, así como en áreas no expuestas del iris y de la esclera posterior.⁴²

Distribución del plexo nervioso

La descripción de la morfología de los nervios corneales mediante fotomicroscopía fue realizada por Schimmelpfenning⁴⁴ en 1982 y Maurice

describió la distribución de los mismos en corneas humanas. Más recientemente, la microscopía confocal *in vivo* permitió visualizar los nervios corneales, lo que ha permitido una mayor comprensión anatómica de los mismos.⁴⁵

Los estudios realizados con microscopía confocal *in vivo* muestran que la mayor parte de los nervios corneales presentan una orientación preferente de las fibras en dirección supero inferior (fig. 1),⁴⁶ sin embargo, aún se desconocen las localizaciones exactas de las fibras nerviosas dentro del epitelio.⁴⁷

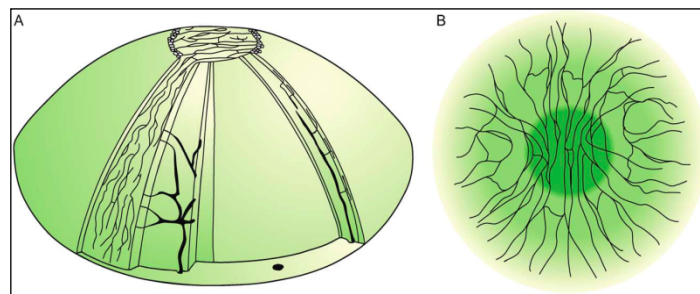


Fig.1 la figura A muestra la distribución de los nervios en el plexo subbasal y el estroma en la córnea humana. La figura B muestra la orientación superoinferior de los nervios en córnea central cambiando la orientación preferencial a nasal-temporal en la zona periférica. Tomada de: Muller LJ, Vrensen GF, Pels L, Cardozo BN, Willekens B. Architecture of human corneal nerves. Invest Ophthalmol Vis Sci 1997;38:985-994, con permiso del autor.

Los paquetes nerviosos corneales están formados por dos tipos principales de fibras: las fibras “rectas” (*straight fibers*) y las fibras “arrosariadas” (*beaded fibers*), penetrando a nivel del tercio inferior del estroma de forma radial y paralela a la superficie.⁴⁶ Antes de llegar al limbo (aproximadamente a 1 mm), se liberan de la vaina de mielina y son envueltas por las células de Schwann a fin de mantener la transparencia corneal. Los paquetes de fibras giran 90° y ascienden para atravesar la membrana de Bowman tanto por la parte central como por la parte periférica.⁴⁷

Posteriormente giran de nuevo siguiendo paralelas a la superficie ocular y se bifurcan formando paquetes de fibras de menor tamaño. Las fibras “rectas” siguen viajando paralelas a la superficie ocular entre la membrana de Bowman

y la capa basal de células epiteliales, originando ramificaciones que siguen la misma disposición. Sin embargo, las fibras “arrosariadas” son las únicas que giran 90° de nuevo y ascienden perpendiculares a la superficie ocular, bifurcándose y proporcionando terminaciones nerviosas en el epitelio corneal (fig. 2).^{46, 47}

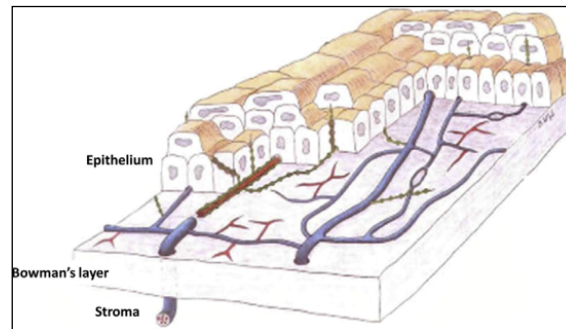


Fig. 2. Dibujo esquemático tridimensional en el que se describe la entrada de los nervios corneales en el plexo subbasal y la distribución y bifurcación de las fibras “rectas” y “arrosariadas”. Tomado de: Muller LJ, Vrensen GF, Pels L, Cardozo BN, Willekens B. Architecture of human corneal nerves. Invest Ophthalmol Vis Sci 1997;38:985-994, con permiso del autor.

Debido a la rápida degeneración que sufren los nervios corneales tras la muerte (aproximadamente a las 9 horas posmortem de las fibras nerviosas corneales comienzan a degenerarse), no se ha podido concretar la densidad de inervación.⁴⁶ Sin embargo, basándose en estudios de Muller et al, en 1997,⁴⁶ se estima que la córnea posee aproximadamente 7.000 nociceptores por mm². En la córnea central y central-periférica la densidad nerviosa es muy similar, mientras que en córnea periférica es entre 5 y 6 veces menor,⁴⁶ por lo que la córnea central y central-periférica es más sensible que la periférica.

Dolor en el postoperatorio de la cirugía refractiva corneal

Los procedimientos quirúrgicos corneales causan diferentes niveles de inflamación y/o daño en la inervación corneal, que activan las fibras sensoriales corneales en diferentes grados. El dolor corneal se produce cuando predomina la inflamación porque se estimulan y se sensibilizan los nociceptores polimodales. Y las sensaciones desagradables de sequedad, que se engloban dentro del término discomfort, se producen cuando predomina la lesión nerviosa. Parece ser que los que se afectan preferentemente, son los

termorreceptores de frío.⁴⁸ De aquí que el principal inconveniente de la PRK es el dolor y el disconfort en el postoperatorio, que suelen estar presentes entre los dos y tres días posteriores a la cirugía.⁴⁹⁻⁵¹

Abordaje del dolor en el postoperatorio de la cirugía refractiva corneal

El dolor en el postoperatorio de la cirugía de refractiva se ha intentado abordar de diferentes maneras diferentes:

1. Utilizando diferentes técnicas de la eliminación del epitelio.
2. Desarrollando nuevas técnicas que intentan preservar el epitelio después del tratamiento con el láser excimer.
3. Aplicando colirios fríos.
4. Colocando una lente de contacto.
5. Modificando las pautas de tratamiento analgésico postoperatorias.

1. Técnicas de eliminación de epitelio

En la PRK, la técnica originaria de eliminación del epitelio es la mecánica, usando la espátula de Paton o de Blade.⁵² Otra técnica incluye el cepillado del epitelio a través del cepillo de Amoils.⁵² La aplicación de alcohol diluido sobre el epitelio corneal es otra variante junto con la aplicación del láser transepitelial.⁵² Blake comparó el dolor postoperatorio cuando el epitelio es eliminado con alcohol diluido al 18%, técnica de ASA, frente a la eliminación mecánica, PRK, y encontró que los sometidos a la cirugía de ASA, tenían más dolor en el primer día del postoperatorio pero en el tercer día las diferencias ya no eran significativas.³⁶

2. Técnicas que intentan preservar el epitelio después del tratamiento con el láser excimer

Conviene recordar que el objetivo de la preservación del epitelio era intentar disminuir el dolor postoperatorio pero sobre este punto existe bastante controversia. La primera técnica que reemplazó el epitelio después del tratamiento con el láser excimer fué el LASEK, desarrollada por Camellin en 1998.³¹ Después Pallikaris desarrolló una modificación de este procedimiento denominada epi-LASIK.⁵³ Si en el epi-LASIK, el “*flap*” no puede recolocarse, se llamaría off-flap epi-LASIK. No se tiene muy claro que esto pueda influir en el

dolor postoperatorio y en el tiempo de curación epitelial. Kalyvianaki comparó cirugías con ambos grupos y encontró que las puntuaciones subjetivas de dolor fueron inferiores a las 2 horas después de una cirugía el grupo en el que no se recolocó el “flap”, pero no hubo diferencias a las 4, 6, 8, 10, o 24 horas. Además los tiempos de curación epiteliales fueron similares entre el dos grupos.³² Sin embargo, Wang encontró que el dolor postoperatorio fue similar entre los dos grupos pero que en el off-flap epi-LASIK la reepitelialización parece ser más rápida⁵⁴ y Zhang encontró que el grupo con off-flap epi-LASIK presentaba mayor discomfort a las dos horas del postoperatorio y los de epi-LASIK tenían más dolor en el quinto día. Este grupo también presentaba una mayor reepitelización es este día quinto.⁵⁵

Tampoco está claro que el LASEK y el epi-LASIK tengan un postoperatorio menos doloroso que la PRK. Lee realizó un estudio con 27 pacientes en el que cada ojo fue tratado con una técnica, en uno PRK y en el otro LASEK, y los ojos tratados con LASEK presentaban menos dolor en el periodo postoperatorio.⁵⁶ Pero Litwak en otro estudio que comparó el dolor en el postoperatorio inmediato siguiendo la misma metodología que Lee, es decir, en uno de los ojos se le realizó PRK y en el otro LASEK, y encontró que los pacientes presentaron menos discomfort en el ojo sometido a PRK.⁵⁷ Torres demostró que los pacientes sometidos a epi-LASIK y a PRK presentaban puntuaciones de dolor similares en el día 1º del postoperatorio, pero los sometidos a epi-LASIK tenían más dolor en los días 3º y 6º.⁵⁸ Lee comparó la curación epitelial tras la eliminación epitelial con una espátula, con láser, y con alcohol diluido al 20% y encontró que el grupo de láser reepitelizó más rápidamente y que el grupo de alcohol diluido tenía la velocidad más rápida en la curación epitelial. Sin embargo, estas diferencias no se tradujeron en menos dolor, ya que las puntuaciones en los días 1 y 2 del postoperatorio no fueron significativamente diferentes entre los tres grupos.⁵⁹

3. Aplicación de colirios fríos

Se estima que la aplicación de colirios fríos sobre la córnea proporciona una analgesia debido a que se produce un bloqueo en la conducción del impulso nervioso.³ Muchos cirujanos aplican solución salina balanceada (BSS) refrigerada después de la ablación y recomiendan el uso de lágrimas artificiales

frías.³ Niizuma publicó que bajar la temperatura de la córnea con BSS refrigerado antes y después de la ablación reduce el dolor y el “haze” corneal.⁶⁰ Y en esta misma línea, Larson encontró que los pacientes tratados previos a la cirugía de epi-LASIK con 40 a 50 gotas semicongeladas de BSS provocaba una media de dolor significativamente mas baja que los que no estaban tratados.⁶¹

4. Colocación de una lente de contacto

Después de la PRK, a los pacientes se les coloca una lente de contacto blanda (LCB) durante 4-5 días para proteger al estroma, permitir una re-epitelización más rápida y disminuir el dolor.⁶² Las lentes que se utilizan con mayor frecuencia después de la cirugía refractiva son las de baja permeabilidad al oxígeno pero su uso puede conducir a edema corneal y al retraso en la epitelialization.⁶² La introducción de lentes de contacto de hidrogel de silicona, con coeficientes de transmisión de oxígeno cinco veces mayor que las lentes de hidrogel convencional lentes, pueden ofrecer algunas ventajas en este sentido. Engle encontró que las lentes con mas alta permeabilidad de oxígeno se acompañaban de una epitelización corneal más rápida (ente 1 y 2 días) y reducían las molestias del paciente.⁶³ Edwards encontró que los pacientes portadores de una lente de baja transmisión de oxígeno (Proclear, Cooper Vision, Nueva York) en comparación con los una alta transmisión de oxígeno (Focus Night & Day, Ciba Vision, Georgia) presentaron mayores niveles de dolor en los días 1 y 4 en el postoperatorio, pero que no existían diferencias significativas en la re-epitelización.⁶⁴

Para el manejo del dolor, en ocasiones, se combina la LCB con la aplicación de antiinflamatorios no esteroideos y anestésicos tópicos.⁵⁰ Recientemente, Peng describió una lente de contacto con agregados hidrofóbicos de vitamina E que prolongan la liberación de anestésico durante 7 días.⁶⁵ El único efecto adverso importante de utilizar esta lente es el riesgo mayor de desarrollar queratitis microbiana e infiltrados subepiteliales, pero esta lente podría ser muy útil para el control del dolor después de cirugías de ablación de superficie corneal.⁶⁶

5. Pautas de tratamiento analgésico postoperatorias

Hay muchas publicaciones sobre las pautas de tratamiento para el manejo del

dolor en el postoperatorio después de la PRK pero, a día de hoy, no existe ningún consenso sobre cual es la pauta de tratamiento más efectiva y el dolor sigue siendo una limitación para una mayor expansión de este procedimiento refractivo.⁶

Estos son los fármacos que se han empleado:

5.1 Anestésico tópico

Algunos autores defienden el uso limitado de anestésico tópico después de la PRK, fármacos que pueden interferir con el proceso de cicatrización corneal. Un estudio doble ciego utilizando tetracaína tópica al 1% en comparación con placebo después de la PRK demostró que los pacientes que usaron tetracaína tuvieron menos dolor que el placebo. Ambos grupos mostraron una epitelización completa a las 72 horas.⁶⁷ Brilakis y Deustsch demostraron que el uso limitado de tetracaína al 0.5%, con una media de 2-3 gotas al día durante 3 días, no retrasa la epitelización.⁶⁸ Verma demostró que la tetracaína proporcionaba un mejor control del dolor que la bupivacaína.⁶⁹ Shahinian demostró la efectividad de otro anestésico, la proparacaína diluida (0,05%) en la reducción del dolor en el postoperatorio de la PRK.⁷⁰ Pero, hay que añadir que se han reportado casos de queratopatías causadas por el uso de anestésicos después de la PRK, por lo que estos medicamentos deben emplearse con precaución.^{71, 72} Además también está descrito que los anestésicos tópicos pueden resultar tóxicos para los queratocitos reduciendo la viabilidad celular.⁷³

5.2 Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) tópicos

Los AINES tópicos utilizados a nivel ocular actúan principalmente, a través de la inhibición de las dos isoformas de la ciclooxigenasa (COX); la COX1 y la COX2. Aunque está considerado que no son selectivos a la hora de inhibir las isoformas, se ha encontrado que existe un ratio de inhibición potencial diferente para COX1 y COX2 en cada fármaco que difiere notablemente.³

Los AINEs se utilizan frecuentemente para tratar el dolor y el disconfort en el postoperatorio de la cirugía refractiva corneal. Existen varios en el mercado pero solo el diclofenaco 0.1% y el ketorolaco al 0.4% y al 0.5% están aprobados para esta indicación.

5.2.1 Diclofenaco sódico

El diclofenaco sódico atenúa la actividad neuronal en la cornea del conejo después de la ablación del laser excimer.⁷⁴ En un estudio retrospectivo, controlado con placebo sobre 20 pacientes sometidos a PRK, los que recibieron 0.1% diclofenaco tuvieron puntuaciones más bajas de dolor.⁷⁵ Sher encontró que los pacientes que recibieron diclofenaco tuvieron menos dolor que los que recibieron placebo a las 72 horas en el postoperatorio, además necesitaron menos analgésicos orales y experimentaron menos fotofobia, quemazón y escozor.⁷⁶ Un estudio más grande, aleatorizado, doble ciego y también controlado con placebo, con 50 pacientes que tenían miopía tratada con PRK tuvo resultados similares.⁷⁷ En otro ensayo con 70 pacientes que se sometieron a PRK bilateral administrando una dosis única de diclofenaco tópico, pero 2 horas antes en el preoperatorio, también disminuyó el dolor a las 24 horas en el postoperatorio.⁷⁸

5.2.2 Trometamina ketorolaco

La Trometamina ketorolaco 0.5% es un AINE con actividad analgésica y antiinflamatoria probada, pero que produce quemazón y escozor en la instilación.⁷⁹ En un ensayo controlado y aleatorizado en el que se aplicaba ketorolaco de forma tópica en las abrasiones corneales, los que recibieron ketorolaco necesitaron significativamente menos analgesia oral que los que se sometieron a placebo.⁸⁰ Solomon evaluó el efecto del ketorolaco 0.4% en el control del dolor en el postoperatorio de la PRK⁷⁹ mediante un estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo en el que incluyó a 313 pacientes. Encontraron que los pacientes que recibieron ketorolaco 0.4% cuatro veces al día, durante un máximo de cuatro días después de la cirugía, presentaron mas alivio de dolor que los controles. Los autores comentan que esta concentración más baja puede producir menor irritación ocular. Además, hay disponible una preparación sin conservantes con efectos similares.⁸¹ Winstock encontró que el diclofenaco 0.1% era mejor que el ketorolaco

0.5% en la reducción del disconfort en general después de la PRK. Aunque no influyó en los niveles máximos ni a la necesidad de analgesia oral que en este caso fueron acetaminofén y codeína.⁵⁵ Razmju demostró que una gota de diclofenaco o ketorolaco 0.5% instilado 30 minutos antes de la cirugía disminuye el dolor en el primero y en el segundo día del postoperatorio.⁸²

5.2.3 Nepafenaco

Todos los AINEs tópicos son ácidos libres a excepción de nepafenaco, que es una amida análoga del amfenaco.⁸³ Debido a ello, puede presentar una mayor permeabilidad corneal frente a otros NSAIDs.⁸⁴ Colin encontró que nepafenaco 0,1% tenía el mismo efecto sobre el dolor en el postoperatorio de la PRK que el diclofenaco 0,1%, excepto en el día 2, cuando la puntuación media del dolor, al ir a acostarse, fue menor con el nepafenaco.⁸⁵ Además, Donnenfeld encontró que ni el nepafenaco ni el ketorolaco reducían el tiempo de cicatrización del epitelio córnea después de la PRK, y que ambos fármacos tenían un efecto beneficioso sobre el dolor.⁸⁶

5.2.4 Bromfenaco

El bromfenaco es estructuralmente idéntico al amfenaco con la excepción de un átomo de bromo en la posición C₄, lo que puede aumentar la penetración en el tejido ocular y prolongar la actividad antiinflamatoria.⁸⁴ Sher no encontró diferencias significativas en el alivio del dolor en el postoperatorio de la PRK entre el bromfenaco 0.09% aplicado dos veces al día y el ketorolaco 0.4% aplicado 4 veces al día.⁸⁷ Aunque anteriormente Durrie, en un estudio en el que comparó los efectos de los tres AINEs aprobados a nivel oftalmológico, que son el nepafenaco 0.1%, el ketorolaco 0.4% y el bromfenaco 0.09% encontró que había una reducción significativa del dolor con el nepafenaco 0.1% en el día 1 y en el día 3 y con ketorolaco 0.4% y el bromfenaco 0.09% en el día 3. Añade este autor que los ojos tratados con nepafenaco 0.09% y ketorolaco 0.4% consiguen una reepitelización

significativamente más rápida que los tratados con bromfenaco 0.09%. Concluye que el nepafenaco 0.1% consigue una liberación más rápida del dolor que el ketorolaco 0.4% y el bromfenaco 0.09%.⁸⁸

5.2.5 Furbiprofen sódico

El flubiprofen 0.03% reduce el dolor en pacientes sometidos a queratotomía radial,⁸⁹ pero este fármaco no está aprobado por la FDA para su uso en cirugía refractiva.

5.2.6 Indometacina

Un estudio prospectivo, aleatorizado comparó indometacina 0.1%, diclofenaco 0.1% y placebo y demostró que la indometacina reducía subjetivamente el dolor y la fotofobia severa en el postoperatorio de la PRK en comparación con el placebo, mientras que el diclofenaco 0.1% no lo conseguía e incluso retardaba la cicatrización corneal.⁹⁰ Este estudio contradice a otros por lo que sus conclusiones necesitan ser reevaluados antes de ser aceptadas.⁹¹

5.2.7 Efectos adversos

Los efectos secundarios oculares más comunes de los AINEs tópicos incluyen las sensaciones transitorias de quemazón, escozor y de hiperemia conjuntival. Como efectos más serios están la queratitis punteada superficial, los infiltrados corneales, los defectos epiteliales y las úlceras corneales.⁸⁴ Basándose en una encuesta canadiense, la incidencia de los infiltrados subepiteliales en asociación con el uso de LCB y el uso de AINEs tópicos, sin corticoides, es de 1 caso cada 250 ojos.⁹² La mayoría de estos infiltrados aparecieron entre las 24 y las 48 horas después de la cirugía y en un 90% de los casos originaron una pérdida de la agudeza visual entre una o dos líneas.⁹²

Otra de las preocupaciones del uso de AINEs tópicos es el retraso en la cicatrización epitelial. Assouline encontró que el diclofenaco retrasaba significativamente la cicatrización corneal tras la PRK por el contrario la indometiacina no parece alterarla.⁹⁰ Debido a que el nepafenaco se presenta en forma de suspensión, esta

fórmula galénica puede aumentar el tiempo del fármaco en contacto con el epitelio corneal y por lo tanto puede incrementar su toxicidad. Trattler y McDonald demostraron que los ojos tratados con nepafenaco presentaron menor transparencia corneal y una tendencia hacia el retraso en la cicatrización después de la ablación de superficie en comparación con los ojos tratados con ketorolaco 0.4%.⁹³ Sin embargo, un estudio más reciente, mostró que el nepafenaco no causó ningún retraso en la re-epitelización en comparación con el placebo.⁴⁹ No obstante y debido a la posibilidad de efectos secundarios graves, la administración tópica AINE debe limitarse a cuatro veces al día durante los primeros 2-3 días después de la cirugía.⁹²

5.3. *Morfina tópica*

En la cornea humana están presentes los tres tipos receptores opioides (m, k, y d), localizados en las fibras aferentes sensoriales primarias. Estos receptores pueden ser activados cuando el tejido se inflama.⁹⁴ Pero parece ser, que el tipo de estímulo nociceptivo puede regular el tipo de receptor opioide implicado en la respuesta analgesia.⁹⁵ Autores como Peyman estudiaron el efecto analgésico de la morfina tópica 0.5% en pacientes con abrasiones corneales.⁹⁶ Más recientemente, Faktorovich publicó que la administración de este mismo tipo de morfina también de forma tópica en el postoperatorio de la PRK disminuía la media de dolor y los valores máximos sin interferir en la re-epitelización.⁹⁷

5.4. *Gabapentina oral*

La gabapentina (Neurontín®) es un análogo del ácido gamma-aminobutírico (GABA) que se comercializó por primera vez como un fármaco anticolvulsivante, con efectividad para reducir diferentes tipos de dolor neuropático.⁹⁸ Su mecanismo de acción no se conoce exactamente pero se cree que su acción terapéutica en este tipo de dolor es el resultado de una acción farmacológica retardada e indirecta, producida por un bloqueo en la liberación de los neurotransmisores excitadores de los canales de calcio o de los receptores GABA B.⁶

Destacan cuatro estudios sobre la eficacia de la gabapentina en la reducción del dolor después de PRK, que muestran resultados contradictorios.^{6, 99-101} Nissman no encontró diferencias significativas en las valoraciones globales de dolor después de la PRK entre la gabapentina y la oxicodona/acetaminofeno 5 mg/325 mg, aunque conviene aclarar que la gabapentina se asoció con un uso significativamente más frecuente de tetracaína tópica.⁶ Kuhnle publicó que los pacientes que recibieron 300 mg de gabapentina por vía oral tres veces al día no tuvieron diferencias significativas en dolor postoperatorio respecto al placebo.⁹⁹ Sin embargo en otro estudio también controlado con placebo, el grupo al que se administró gabapentina redujo significativamente el dolor postoperatorio durante las primeras 72 horas después de PRK.¹⁰⁰ Y recientemente, se han publicado los resultados de un ensayo clínico aleatorizado demostrando que los pacientes que recibieron gabapentina y pregabalina (Lyrica) tenían menos dolor que los que recibieron placebo.¹⁰¹

5.5. Sumatriptan oral

El sumatriptan (Imigran®) presenta un efecto agonista, altamente selectivo, sobre los receptores de serotonina también conocidos como receptores de 5-hidroxitriptamina (receptores 5-HT). Se utiliza para el tratamiento de las migrañas¹⁰² y su uso está siendo investigado para el tratamiento postoperatorio del dolor en la PRK.³

En un estudio piloto de 13 pacientes con dolor intratable después de la PRK, el 87% reportaron un alivio rápido después de recibir 100 mg de sumatriptan oral.¹⁰³ En otro estudio hecho con posterioridad, sobre 15 pacientes tratados con 100 mg de sumatriptan oral y tras cirugía de PRK, de igual manera que se hizo en el estudio anterior, el 88,9% de los pacientes informó de un alivio del dolor excelente y rápido después de tomar dicha medicación.¹⁰⁴ En la actualidad, se está analizando el uso del sumatriptan de manera tópica mediante los ensayos clínicos adecuados.³

5.6. Analgésicos orales

Aunque no se han estudiado específicamente para el tratamiento del dolor en el postoperatorio de la cirugía de ablación de superficie, los AINEs orales son excelentes analgésicos para muchos tipos de dolor agudo,¹⁰⁵ aunque no

pueden olvidarse sus serios efectos adversos, dentro de los que se incluyen la insuficiencia renal y las úlceras gástricas y duodenales, que limitan su uso diario.¹⁰⁵

Ya se ha comentado que los opioides orales, incluyendo la hidrocodona, la oxycodona y la codeína pueden utilizarse para el tratamiento del dolor moderado y severo después de la PRK. Pero a menudo, estos fármacos se prescriben en combinación con el acetaminofén (Vicodin y Percet). Los efectos secundarios asociados a estas combinaciones son el estreñimiento, prurito, somnolencia, náuseas, vómitos y sequedad de boca.³

5.7 Conclusiones

La cirugía de ablación de superficie avanzada se traduce en una compleja cascada de eventos que desencadenan la lesión en las fibras aferentes sensoriales de la córnea, produciendo varios grados de discomfort. Las estrategias de manejo del dolor incluyen el uso de gotas frías durante el procedimiento y el postoperatorio y la colocación de BCLs de uso prolongado hasta que se produce la re-epitelización. Además, los anestésicos tópicos y los AINES puede ser útiles cuando se usan con prudencia. Los medicamentos de forma oral aprobados para el dolor neuropático, tales como la gabapentina y la pregabalina, son fármacos complementarios que ayudan a minimizar el uso de medicamentos tópicos. Los analgésicos orales, como la opioides y los AINES, también se pueden prescribir. En la cornea, los receptores de los opioides y los receptores 5-HT presentes responden a la morfina tópica y sumatriptán oral. Con la aparición de nuevos métodos analgésicos orientados hacia la actuación sobre los nociceptores aferentes corneales, se puede disminuir el discomfort con un menor impacto sobre la re-epitelización corneal.

Nuevos tratamientos posibles

Antagonistas del receptor sigma 1 (S1RA)

Los receptores sigma se descubrieron en los años 70. Se encontraron dos subtipos, los sigma-1 y los sigma-2.¹⁰⁶ S1RA es un antagonista potente y altamente selectivo del receptor Sigma-1. El S1RA incorpora un nuevo enfoque y un nuevo mecanismo de acción para el tratamiento del dolor en un campo que presenta una necesidad importante de nuevas terapias más efectivas y

seguras. Se ha demostrado una sólida actividad *in-vitro* e *in-vivo* en múltiples modelos animales de dolor neuropático (incluyendo las lesiones de nervios, la neuropatía diabética y la neuropatía inducida por quimioterapia), dolor óseo asociado a cáncer, y la potenciación de la analgesia opiode.

Estudios recientes en fase II han aportado evidencias del efecto analgésico y neuroprotector del S1AR.^{107, 108} Se estima que la cuantificación de la densidad de los receptores sigma-1 en el sistema nervioso central a través de la tomografía por emisión de positrones (PET) permitirá el seguimiento del tratamiento.¹⁰⁹ Los investigadores están realizando tremendos esfuerzos para identificar los ligandos de los receptores sigma-1 que de manera potente y selectiva detecten a estos receptores a través de dicha técnica de imagen.¹¹⁰

RELACIÓN TEMÁTICA DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS

Los trabajos presentados en la presente tesis forman parte de una línea de investigación desarrollada a partir del dolor ocular.

Todos ellos tienen en común el intento de evaluar si la cirugía de ASA podría ser considerada como un modelo clínico humano para la evaluación del dolor agudo postoperatorio, así como la posibilidad de identificar potenciales biomarcadores en saliva útiles para la medición objetiva del dolor que complementen o sustituyan a las escalas analógicas y visuales.

Los esfuerzos se han orientado en identificar los síntomas subjetivos más relevantes en el postoperatorio de la cirugía de ASA, en investigar el comportamiento del dolor agudo en el postoperatorio de la cirugía de ASA y en la búsqueda de posibles biomarcadores en saliva relacionados con el dolor para aportar información sobre su reproducibilidad.

Trabajos presentados en esta tesis:

Trabajo 1: Identificación de los síntomas subjetivos en el postoperatorio de la cirugía de ASA

Sobas EM, Videla S, Maldonado MJ, Pastor JC. Ocular pain and discomfort after advanced surface ablation: an ignored complaint. Clinical Ophthalmology. 2015. Sep 4;9:1625-32.

En este primer trabajo, se ha pretendido proporcionar datos sobre los síntomas subjetivos presentes en el postoperatorio de la cirugía de ASA y sobre su relevancia.

Aunque el dolor es una de las limitaciones más importantes de la cirugía de ASA, se han observado otros síntomas, denominados genéricamente “molestias”, que están presentes en la mayoría de los pacientes. Estos síntomas suponen otra limitación importante este tipo de cirugía y han recibido poca atención en la bibliografía existente. Así pues, el propósito de este estudio ha sido también el proporcionar datos sobre las sensaciones oculares que el paciente refiere en términos de dolor postoperatorio durante y después de la

cirugía de ASA, durante más de una semana, y prestando atención a otros síntomas relevantes como son la fotofobia, el ardor, el lagrimeo y la sensación de cuerpo extraño.

Trabajo 2: Caracterización de la percepción del dolor después de la cirugía de ASA

Sobas EM, Videla S, Vázquez A, Reinoso R, Fernández I, Maldonado MJ, Pastor JC. Pain Perception Description After Advanced Surface Ablation. Clinical Ophthalmology. 2017. Aceptado pendiente de publicación.

Con el estudio anterior se confirmó que el dolor postoperatorio en la cirugía de ASA debe ser tenido en cuenta por su prevalencia e intensidad. Por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo ha sido describir la historia natural del dolor en el postoperatorio de la cirugía de ASA. Hay estudios previos que recogen como es la evolución del este dolor, pero este es el primer trabajo que lo evalúa tan detalladamente, lo que resulta importante para proponerlo como modelo y para evaluar la eficacia de protocolos de prevención del dolor.

Los resultados de ambos estudios justifican que son necesarios protocolos analgésicos más eficaces. Hasta ahora ningún método de control del dolor ha sido considerado como ideal.⁶

El objetivo principal de este estudio ha sido el analizar con detalle el dolor postoperatorio después de la cirugía de ASA, con el fin de mejorar el manejo de los pacientes. Pero además, esta caracterización es una pieza clave de una línea de investigación desarrollada para proponer nuevos modelos clínicos para evaluar el dolor agudo postquirúrgico. La cirugía de ASA tiene algunas características interesantes: en primer lugar, la lesión inducida es bastante homogénea en todas los sujetos; en segundo lugar, después de la operación el dolor ocular agudo después de ASA mostró una evolución característica y reproducible; tercero, el dolor postoperatorio es moderado, pero el aumento relativo es relevante (de 0 a 6); y, finalmente, esta cirugía se realiza en sujetos sanos, jóvenes y libres de dolor. Estas características permiten suponer que la cirugía ASA podría ser un modelo humano, novedoso y útil de dolor agudo post-quirúrgico.

Trabajo 3: Biomarcadores en saliva relacionados con el dolor

Sobas EM, Reinoso R, Cuadrado-Asensio R, Fernández I, Maldonado MJ, Pastor JC. Reliability of Potential Pain Biomarkers in the Saliva of Healthy Subjects: Inter-Individual Differences and Intersession Variability. PLoS One. 2016 Dec 1;11(12):e0166976.

En este último trabajo, se han recogido los conocimientos existentes sobre los biomarcadores salivares relacionados con el dolor. La hipótesis de este trabajo es que el análisis de biomarcadores en la saliva podría ser un método objetivo para cuantificar el dolor agudo y crónico, una idea que ha cobrado interés en los últimos años. El gran número de autores interesados actualmente en esta investigación demuestra la relevancia e interés de este tema.¹¹¹⁻¹¹³

Un buen marcador biológico para aplicaciones clínicas del dolor debe presentar ciertas características. Debe ser seguro, fácil, y recogerse de forma no invasiva.¹¹⁴ Además, un buen marcador biológico debe ser fiable, es decir, reproducible cuando se mide en diferentes días, un aspecto que no ha sido investigado adecuadamente en la mayoría de los estudios orientados a detectar biomarcadores salivares para el dolor.

Dentro de este proyecto se ha analizado si el cortisol salival, la AAS, la IgAs, la testosterona, y la sRIITNF α podrían servir como medidas objetivas de dolor, analizando su variabilidad en una población de sujetos normales.

La idea de disponer de algún biomarcador salivar que sea fiable para la medición del dolor de forma objetiva, añadido a que la cirugía de ASA pueda ser un modelo de evaluación de dolor agudo postoperatoria puede servir para testar la eficacia de fármacos analgésicos no solo aplicados en el ámbito de la oftalmología.

HIPÓTESIS

Es posible utilizar la cirugía de Ablación de Superficie Avanzada (ASA) para desarrollar un modelo de evaluación clínica del dolor post-operatorio que incluya medidas objetivas basadas en variaciones de biomarcadores en saliva.

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo ha sido evaluar y caracterizar de forma prospectiva la evolución del dolor en el postoperatorio, en un grupo de pacientes sometidos a ASA, que recibieron el tratamiento tópico estándar y la medicación de rescate habitual y analizar la fiabilidad de potenciales biomarcadores de dolor en la saliva en sujetos sanos.

El objetivo principal se puede subdividir en los siguientes objetivos secundarios:

- Proporcionar datos sobre la prevalencia y la relevancia del dolor, la fotofobia, la sensación de quemazón, el lagrimeo y la sensación de cuerpo extraño después de la cirugía ASA. Objetivo del trabajo número 1.
- Analizar la experiencia de dolor postoperatorio y molestia percibidos comúnmente por pacientes sometidos a cirugía de ASA utilizando un protocolo estándar de mínima analgesia. Objetivo del trabajo número 1.
- Caracterizar la evolución del dolor después de la cirugía de ASA para proponer la cirugía de ASA con un modelo clínico humano de evaluación de dolor agudo postoperatorio. Objetivo del trabajo número 2.
- Valorar la fiabilidad en términos de variabilidad inter-individual e inter-sesión de los siguientes potenciales biomarcadores en dolor (cortisol salivar, la AAs, la IgAs, la testosterona, y la sRIITNF α) en la saliva de sujetos sanos y libres de dolor. Objetivo del trabajo número 3.

METODOLOGÍA

Aspectos éticos y normativas

Las muestras incluidas en los trabajos presentados, han sido utilizadas de acuerdo con las leyes aplicables para la investigación con muestras humanas para cumplir con lo establecido en el Real Decreto 1716/2011, del 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de muestras biológicas de origen humano. Las muestras se destruirán a los tres meses de finalizar el proyecto.

Los tres trabajos fueron aprobados por la Comisión de Investigación del Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid.

El **trabajo 2 y el trabajo 3** fueron aprobados por el Comité Ético del Hospital Clínico Universitario Valladolid, el trabajo 2 a fecha de 21-Febrero de 2013. Para dicho trabajo se firmó un convenio marco de colaboración entre la Universidad de Valladolid a través del IOBA y la Clínica Baviera, S.A. de Valladolid a fecha de 22-enero de 2015 y el trabajo 3 fue aprobado por la Comisión de Investigación del IOBA, con fecha de 7-Julio de 2014. (Anexo I y Anexo II).

En el **trabajo 1** después de la explicación a cada paciente del estudio y antes de iniciar la entrevista telefónica, se solicitó el consentimiento informado de manera verbal.

En los **trabajos 2 y 3** todos los pacientes firmaron y otorgaron su consentimiento tras haber sido informados antes de entrar en el estudio. (Anexo III y Anexo IV)

Todos los estudios cumplen con los postulados de la declaración de Helsinki, y se garantiza la confidencialidad de los datos personales como se requiere por la ley española: LOPD 15/1999.

Todos los análisis estadísticos de los **trabajos 2 y 3** se llevaron a cabo por la Dra. Itziar Fernández (Sct, PhD), de la unidad estadística del IOBA.

Trabajo 1:

En el **trabajo 1**, fue un estudio retrospectivo en el que se llevó a cabo una encuesta telefónica, basada en un cuestionario estructurado con respecto a los síntomas percibidos por los pacientes después de la cirugía de ASA. Se realizó en un solo centro, en el IOBA.

Población de estudio

Todos los participantes incluidos en el estudio cumplieron los siguientes criterios de inclusión: sujetos ≥ 18 años, sin ninguna enfermedad ocular, con miopía comprendida entre 0,75 y 9 dioptrías y con o sin astigmatismo. Los sujetos tenían que haber recibido cirugía de ASA en al menos un ojo.

Todos los procedimientos fueron realizados por el mismo cirujano (MJM). Los pacientes, que cumplían los criterios de inclusión, fueron identificados y se estableció contacto a través del teléfono por el mismo entrevistador (EMS).

Procedimiento de la cirugía de Ablación de Superficie Avanzada

La ablación de superficie avanzada (ASA) es una técnica de ablación corneal superficial mediante laser excímer. Esta técnica se realizó de la siguiente manera.

Pre-operatorio: La anestesia tópica en el preoperatorio se realizó con la instilación de Lidocaína 5%, 1 gota, dos veces cada 10 minutos. (20 minutos antes de entrar el paciente en el quirófano). Todos los pacientes tomaron un comprimido de Alprazolam 0.5 mg (Trankimazin®, Pfizer, S. A. Puurs, Bélgica), 30 minutos antes de la intervención.

Per-operatorio: La asepsia de la zona quirúrgica se realizó con Povidona Yodada 10% y en los pacientes alérgicos con Clorhexidina digluconato 4%

(Hibiscrub®, Mab Dental, S. A. Cornell de Llobregat, España). En contacto directo con la superficie corneal se instiló Povidona Yodada al 5%, diluida con BSS. Se usa un paño estéril y un blefaróstato. Se instiló nuevamente Lidocaina 5%.

La manera en la que se desarrolló la ASA es la siguiente: se colocó alcohol al 17,5% sobre un anillo de 8.5 mm durante 30 segundos. La concentración de alcohol al 17% se obtiene diluyendo 2 ml de alcohol al 70% con 6 ml de BSS. Con una hemosteta Merocel (Medtronic Xomed Ophthalmics®, Inc.) se absorbió el exceso de alcohol. Después se lavó con abundante BSS frío. El epitelio fue eliminado con una espátula roma y se realizó la fotoablación con el láser excimer MEL 70 G (Carl Zeiss Meditec, Jena, Germany). Este es un láser excimer que tiene incorporado un ordenador capaz de seguir el movimiento ocular (“eye-tracking”). El diámetro mínimo de la zona de tratamiento total fue de 6 mm con una transición hasta los 9mm. La zona ablacionada se lavó rápidamente con BSS frío y posteriormente se aplicó una gota de Ofloxacin 0.3% (Exocin®, Allergan, Madrid, España), una gota de hialuronato sódico al 0.18% (Vismed®, Laboratorios Thea, S. A.) y una lente de contacto terapéutica a 7°C (Acuvue Oasis®, Johnson & Johnson, Limerick, Ireland).

Post-operatorio: Inmediatamente después de la cirugía, todos los pacientes se aplicaron frío por medio de los paquetes “fredo Kit” (KRZ, Barcelona, España) durante 15 minutos. Se les proporcionaron las instrucciones de que todas las gotas que se tenían que aplicar debían mantenerse en el frigorífico a una temperatura de 4°C (temperatura del frigorífico).

El tratamiento farmacológico ha sufrido cambios a lo largo de la realización del proyecto. Lo que no ha tenido modificaciones ha sido el antibiótico tópico de Ofloxacin 0.3% (Exocin®, Allergan, Barcelona, España), 4 veces al día durante dos semanas, el corticoide tópico de Dexametasona 1mg/ml (Dexafree®, Laboratorios Théa SA, Barcelona, España) 3 veces al día durante dos semanas, el Alprazolam 0.5 mg (Trankimazin®, Pfizer, Puurs SA, Bélgica) durante las dos primera noches en el periodo postoperatorio, la Vitamina C 1g (Redoxon®, Bayer, Barcelona, España) una vez al día durante un mes, el Hialuronato Sódico 0,18%, (Vismed®, Laboratorios Thea, SA, España) 4 veces al día durante dos semanas, y las lágrimas artificiales monodosis (Viscofresh®

0.5%, Allergan, Barcelona, España), tanto como fue necesario para mitigar la sensación de sequedad.

A partir de la realización del segundo trabajo en la pauta de tratamiento postoperatoria se incorporó Paracetamol 1g (Efferalgan®, Bristol-Myers Squibb, S.A. Madrid, España), entre las 4 y las 6 horas después de la cirugía, cada 8 horas, y durante 3 días máximo, según las molestias.

Solo si pese a la medicación anteriormente indicada se produjeran molestias fuertes o dolor mal tolerado, se tenía pautada una medicación de rescate que debería ser la siguiente:

Medicación de rescate: Sumatriptán 50 mg (Imigram Neo®, GlaxoSmithKline, S.A. Madrid, España) 1 comprimido, y si persistían 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. Tampoco se debía administrar si se conocía que padecía algún problema cardiovascular, incluida hipertensión arterial, o se está tomando algún antidepresivo. (En estos casos se debía saltar directamente al siguiente escalón).

Si resultara insuficiente añadir Oxibuprovacaína 0.2% o 0.4% (Prescaína Colirio®, Laboratorio Llorens, S.A. Barcelona, España) ó Tetracaína y Oxibuprovacaína (Anestésico Doble, Alcón Cusí, Barcelona, España). Se podía utilizar cualquiera de ellos pero se debía restringir su uso al máximo sin exceder 4 veces al día durante 4 días. Servía para mitigar picos de dolor agudo, si los había.

Cuestionario: intensidad de dolor y otros síntomas después de la cirugía de ASA

Se creó un cuestionario *ad-hoc* para registrar los síntomas percibidos por los pacientes después de ASA (se adjunta en el trabajo 1). El cuestionario consta de cinco partes o dominios: 1) orientación cognitiva 2) percepción del dolor, 3) otros síntomas (fotofobia, quemazón, lagrimeo y sensación de cuerpo extraño), 4) el tratamiento del dolor prescrito, y 5) Miscelánea. Además, la intensidad del

dolor fue evaluado por medio de un NRS, es decir, 0- ningún dolor y 10 el peor dolor imaginable.¹¹⁵

Análisis estadístico

Este estudio fue diseñado asumiendo que el 95% (datos internos) de los participantes presentarían el dolor después del procedimiento de ASA. Se calculó que una muestra representativa para un estudio basado en una encuesta debería incluir 73 sujetos, en base a la aproximación normal con un rango de $\pm 2,5\%$ para un intervalo de confianza de dos caras 95% (IC).

Las características basales fueron resumidas con la estadística descriptiva estándar. Se estimó la prevalencia de los síntomas después de la cirugía de ASA. Se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman para evaluar la relación entre la sensación subjetiva de dolor y la edad y la cantidad de ablación; y entre el discomfort y la edad y la cantidad de ablación. El análisis de datos se realizó con el programa SPSS versión 15.0 del software estadístico (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.) y StatXact-8 (Cytel Inc., Cambridge, MA, EE.UU.).

Trabajo 2:

En el **trabajo 2**, fue un estudio prospectivo, de cohortes, en el que se llevó a cabo la medición del dolor y de las comorbilidades que presentaban los sujetos antes y después de ser sometidos a cirugía de ASA en ambos ojos. Se llevo a cabo en dos centros, en el I.O.B.A. y en la Clínica Baviera de Valladolid.

Población de estudio

Los pacientes incluidos en este estudio tenían que cumplir los siguientes criterios de inclusión: sujetos de edad comprendida entre 18 y 60 años, de raza blanca, sin dolor ocular (por cualquier razón), sin enfermedad ocular que no fuese la ametropía, con miopía comprendida entre 0,75 y 9 dioptrías y con o sin astigmatismo. Los sujetos tenían que haber recibido cirugía de ASA en ambos ojos.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes: dolor en otra parte del cuerpo (en los últimos 7 días), cirugías oculares previas en los últimos 12 meses, diagnóstico de una enfermedad autoinmune, el tratamiento con analgésicos (incluyendo anti-inflamatorios) o psicotrópicos o anticonvulsivos o antidepresivos, y sujetos que presentasen dificultades para la comunicación.

Todas las cirugías de ASA se realizaron por 2 cirujanos experimentados (MJM, MAM).

Los datos recogidos fueron: sexo, la intensidad del dolor, las comorbilidades oculares, medicación de rescate en las primeras 72 horas después de la cirugía de ASA, el cuestionario hospitalario de ansiedad y depresión (HAD) y el cuestionario de calidad de vida antes de la cirugía de ASA y 6 horas después, y efectos adversos hasta los 7 días después de la cirugía ASA.

Procedimiento de la cirugía de Ablación de Superficie Avanzada

El procedimiento de la cirugía ASA fue el mismo procedimiento que en el trabajo 1.

La pauta de tratamiento postoperatoria sufrió variaciones ya que se incorporó Paracetamol 1g (Efferalgan®, Bristol-Myers Squibb, S.A. Madrid, España), entre las 4 y las 6 horas después de la cirugía, cada 8 horas, y durante 3 días máximo, según las molestias.

La medicación de rescate no sufrió modificaciones con respecto al trabajo 1.

Evaluación del dolor

La intensidad del dolor fue evaluado mediante la Escala Visual Analógica (EVA) y la Escala Numérica de dolor (EN). La intensidad del dolor se evaluó antes de la cirugía de ASA y a las 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 24, 36, 48 (2º día), 60, 72 (3^{er} día), 96 (4º día), 120 (5º día) y 144 (6º día) horas después de la cirugía. Se creó un diario del paciente que se les proporcionó a cada uno de ellos para lo rellenasen en sus casas.

Otros síntomas oculares postoperatorios, cuestionario hospitalario de ansiedad y depresión en el Hospital (HAD), cuestionario de calidad de vida (CCV) y el cuestionario sobre la función visual (CFV)

Otros síntomas oculares

Sobre la base del cuestionario previo que se desarrolló en el trabajo 1.⁵ se recogió la presencia y la intensidad de otros síntomas oculares relacionados con este tipo de cirugía: fotofobia, sensación de cuerpo extraño, lagrimeo, quemazón, picor y dolor de cabeza. La intensidad del ítem se califica en una escala de Likert de 4 puntos (rango 0-3, donde 0 corresponde a ningún síntoma y 3 el peor síntoma imaginable.¹¹⁶ Estos síntomas oculares se evaluaron antes de la cirugía de ASA y a la 1, 6, 48 y 120 horas después de la cirugía. En el diario del paciente se registró esta información.

Cuestionario hospitalario de ansiedad y depresión en el Hospital (HAD)

Se utilizó el cuestionario HAD validado en español.¹¹⁷ Fue evaluado antes de la cirugía de ASA y a las 6, 48 y 120 horas después de la cirugía. Este cuestionario auto-administrado consta de 14 apartados, subdivididos en dos subescalas de 7 ítems cada una, una para la ansiedad y otra para la depresión. Ambas subescalas tienen los mismos valores: 0-7: normal; 8-10: dudosa, y ≥ 11 : existencia de un problema clínico.

Cuestionario de calidad de vida (CCV)

El CCV, SF-12 se evaluó antes de la cirugía de ASA y a las 24 y 72 horas después de la cirugía. Este cuestionario auto-administrado consta de 12 preguntas para medir el estado de salud física y mental. Las puntuaciones se calculan utilizando las puntuaciones de doce preguntas y rango de 0 a 100, donde un 0 puntuación indica el nivel más bajo de la salud medido por la balanza y 100 indica el nivel más alto de la salud.¹¹⁸

Cuestionario sobre la función visual (CFV)

El CFV, VFQ-25 se evaluó antes de la cirugía de ASA y a las 24 y 72 horas después de la cirugía. Este cuestionario auto-administrado consta de un conjunto de 25 preguntas relacionadas con la visión. Cada elemento se convierte en una escala de 0 a 100 de manera que 0 indica la función visual más baja y 100 representa el mejor funcionamiento.¹¹⁸

Análisis estadístico

El tamaño muestral se calculó en base a los datos publicados con anterioridad sobre el dolor ocular en el postoperatorio de la cirugía de ASA⁵ estudio retrospectivo donde un 97% de los pacientes presentaban dolor en el postoperatorio. Con posterioridad a este estudio retrospectivo, los datos basados en nuestro archivo clínicos sugieren que un 99% de los pacientes presentan dolor postoperatorio después de la ASA (datos no publicados). El estudio fue diseñado asumiendo que un 98% de los participantes tendría dolor ocular. Se calculó que una muestra representativa debería incluir 31 sujetos, asumiendo la aproximación normal y un rango de $\pm 2,5\%$ para un intervalo de confianza de dos colas al 95% (IC).

En este estudio se utilizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) para extraer las características más importantes de estos datos multivariantes. Con esta metodología se intentaron construir nuevas variables, (componentes principales), que eran independientes entre sí, y, que el primer componente explicase la mayor variabilidad observada en la muestra, y así sucesivamente. De esta manera, se han reducido los datos originales a un pequeño número de variables independientes.

Las características basales fueron resumidas con la estadística descriptiva estándar y se llevó a cabo un análisis descriptivo. La incidencia de dolor y los síntomas después del procedimiento de ASA fue estimado y se calculó el intervalo de confianza del 95% (IC 95%).

El análisis de datos se realizó mediante el programa SPSS versión 15.0 del software estadístico (Chicago, Illinois, EE.UU.) y StatXact-8 (Cambridge, MA, EE.UU.).

Trabajo 3:

En el **trabajo 3** se llevó a cabo un estudio de la variabilidad y la reproducibilidad inter-sesión de potenciales biomarcadores de dolor, ya descritos en la literatura, en saliva en sujetos normales.

Población de estudio

Los sujetos en este estudio fueron voluntarios sanos en edades comprendidas entre 30 y 40 años.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes: dolor de cualquier origen, diagnóstico de alguna enfermedad autoinmune, tratamiento con corticoides, fármacos antiinflamatorios no esteroideos-inflamatorios o analgésicos, embarazo, lactancia, mujeres en tratamiento hormonal, o alguna enfermedad oral con inflamación o lesiones activas de la boca.

Recogida y análisis de las muestras

Los sujetos fueron instruidos individualmente de la siguiente manera sobre cómo realizar la toma de saliva utilizando el método de la secreción pasiva¹¹⁹:

- (1) Una hora antes de la recogida de muestras, el sujeto no debía comer, beber (excepto el agua), comer chicle, cepillarse los dientes, ingerir cafeína, ni realizar ejercicio físico;
- (2) Cinco minutos antes de la recogida de muestras, el sujeto debía enjuagarse la boca con agua limpia para reducir la contaminación de la saliva con los restos de comida;
- (3) Debía tragar toda la saliva existente en la boca antes de iniciar la recogida de muestras; y posteriormente
- (4) Depositar intermitentemente la saliva acumulada durante un período de 5 min en un tubo de recogida. Se requería colección de al menos 1 ml. Si el tubo de recogida de 5 ml se llenaba antes de 5 min, se registraba la cantidad de tiempo transcurrido. Si había contaminación visible de sangre se descartaba la

muestra, y después de una espera de 10 min, se recogía una nueva. Las recolecciones se llevaron a cabo en un entorno clínico, y siempre supervisadas. Se realizaron entre las 09:00 y las 12.00 de la mañana para minimizar el error potencial asociado con las variaciones diurnas de parámetros neuroendocrinos. Se recogieron dos muestras de la saliva por cada sujeto, con un intervalo entre ellas de 24 horas. Las muestras se recogieron en la misma habitación, donde se realizó un registro de la temperatura y de la humedad. Después de la recogida, las muestras se congelaron a -20°C hasta que se procedió a su análisis.

Con el fin de analizar el efecto potencial del ciclo femenino en los niveles de los biomarcadores, se realizaron búsquedas de las asociaciones entre la concentración de saliva de los biomarcadores en sujetos femeninos y la fase del ciclo menstrual: fase folicular (de 1 a 14 día), la fase lútea (del 15 al 28 día) y la fase hemorrágica.^{120, 121}

Los posibles indicadores salivales de dolor se analizaron mediante un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA): El cortisol (DRG cortisol salival ELISA (DRG Instruments GmbH, Marburg, Alemania), la testosterona (DRG Instruments GmbH), sTNF α RII (Quantikine, Human sTNF RII / TNFRSF1B Inmunoensayo, R & D Systems, Minneapolis, MN, EE.UU.). La AAS se determinó mediante un kit de α -amilasa (Salimetrics™, State College, PA, EE.UU.), y la IgAs se determinó mediante una sola técnica de inmunodifusión radial (El Grupo Binding Site, Ltd., Birmingham, Reino Unido).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó en R (versión 2.15.2).¹²² Para estimar el coeficiente de correlación intraclase (CCI) se utilizó el *package rptR*.¹²³ Las variables cuantitativas fueron resumidas utilizando media \pm desviación típica (DT) o mediana y rango, cuando la asunción de la normalidad no valida. Las variables cualitativas fueron descritas utilizando porcentajes junto con sus intervalos de confianza (IC) del 95%. El nivel de significación se estableció en 0,05. La hipótesis de normalidad se comprobó utilizando el contraste de Shapiro-Wilk.

Con el fin de evaluar la existencia de un posible sesgo sistemático entre medidas consecutivas de cada biomarcador se utilizó el test t-Student para dos muestras pareadas, cuando fue posible asumir normalidad en la diferencia entre dos medidas consecutivas. En caso contrario, se utilizó su alternativa no paramétrica, el test de Wilcoxon. Las diferencias entre sexos en los valores de la testosterona fueron evaluadas mediante el test U Mann-Whitney.

El análisis de Bland-Altman fue utilizado para evaluar la concordancia entre las muestras de saliva. Los límites de acuerdo (LoA) se definieron como la media de las diferencias entre las dos medidas tomadas en cada individuo ± 1.96 DT, donde DT se corresponde con la desviación típica de dichas diferencias.¹²⁴

Previamente, se utilizó el coeficiente de correlación tau de Kendall (τ) para evaluar la posible relación entre las diferencias absolutas de las dos medidas y las medias correspondientes y evaluar la presencia de heterocedasticidad. Cuando se encontró una relación significativa, se analizó la fiabilidad en escala logarítmica (base 10).

Tanto los gráficos Bland-Altman, como los LoAs en escala logarítmica son difíciles de interpretar en la práctica clínica. Por lo que, realizando la transformación inversa, los datos se transformaron de nuevo a la escala original. Concretamente, para un valor de la media (\bar{X}), la diferencia entre mediciones se encuentra entre $\pm \frac{2\bar{X}(10^a-1)}{10^a+1}$, donde $a = 1.96$ DT en la escala logarítmica.¹²⁵

Para evaluar la reproducibilidad de cada biomarcador salival, se utilizaron modelos lineales de efectos aleatorios para estimar la desviación típica intra-sujeto (S_w) como la raíz cuadrada de la suma de la varianza intra-sujeto y del error estimado de la varianza en dicho modelo¹²⁶, es decir, a través de la propagación de las mediciones de diferentes colecciones de saliva en el mismo sujeto. La precisión y la reproducibilidad se calcularon como $1,96 \times S_w$ y $2,77 \times S_w$ respectivamente.^{124, 127} También se calculó el coeficiente de variación intra-sujeto (CV_w). En los casos en los que fue necesario utilizar, la escala

logarítmica, caracterizada por que el 0 no es un mínimo absoluto y la suma es equivalente a la multiplicación en la escala original, el CV_w se calculó usando la expresión $10^{S_w} - 1$, donde S_w se calculó utilizando los datos transformados a log.^{112, 127} También se utilizaron los modelos lineales de efectos aleatorios para calcular los CCI, como medidas de concordancia entre dos muestras. Los IC del 95% fueron estimados utilizando remuestreo con 1000 muestras bootstrap. Los valores de los CCI fueron interpretados siguiendo las directrices de¹²⁸: 0 - 0,2, falta de acuerdo; 0,3 - 0,4, acuerdo mediocre; 0,5 - 0,6, acuerdo moderado; 0,7 - 0,8, acuerdo fuerte; y $>0,8$, acuerdo casi perfecto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Trabajo 1:

En el **trabajo 1** se llevo a cabo una encuesta telefónica, basada en un cuestionario estructurado con respecto a los síntomas percibidos por los pacientes después de la cirugía de ASA.

Características de los pacientes

Se incluyeron un total de 73 pacientes (34 hombres y 39 mujeres). La mediana (rango) de edad fue de 33 años (19-64) y 69 pacientes (95%) recibieron cirugía de ASA en ambos ojos.

Dolor después de la cirugía de ASA

Los resultados del presente estudio mostraron una intensidad del dolor y de otros síntomas que aparecen en la tabla 1: el 51% de los pacientes presentó dolor durante la cirugía; el 8% de los pacientes tuvo más dolor en el primer ojo, el 19% en el segundo ojo y el 73% presentó la misma intensidad de dolor en ambos ojos. El 97% de los pacientes manifestó dolor durante el periodo postoperatorio con puntuaciones ≥ 2 . La mediana (rango) de la intensidad de dolor fue de 7 (0–10) (media $[\pm \text{SD}]$: 6.3 $[\pm 2.5]$) y 49 pacientes (67%) presentaron dolor severo (6 o superior).

Hay que destacar que 38 pacientes (52%) tuvieron una intensidad de dolor mayor de 7. La mediana (rango) de la duración del dolor fue de 3 días (1–7). Veintinueve pacientes (40%) necesitaron recurrir a la medicación de rescate en el periodo postoperatorio, dentro de los cuales 11 pacientes (15%; 95% CI: 8–25) recurrieron a la medicación de rescate pautada en el protocolo postoperatorio y 18 pacientes (25%) usaron otro analgésico diferente al que se proponía.

Referente a la impresión que tuvieron los pacientes sobre la manera en la que se les había tratado el dolor, a 67 pacientes (92%; 95%IC: 83-97) les pareció "satisfactorio" o "muy satisfactoria". Los seis pacientes restantes marcaron como "poco satisfactorio" la manera en el que se había abordado el manejo de su dolor.

Otros síntomas oculares frecuentes tras la cirugía de ASA.

La frecuencia de otros síntomas postoperatorios como son: fotofobia, quemazón, lagrimeo y sensación de cuerpo extraño se muestran en la Tabla 1. Después de dolor, el más frecuente (85%) y el más intenso fue la fotofobia, con una media (\pm DE) 8.0 (\pm 2.2). La quemazón también fue un síntoma muy frecuente (62%) con una intensidad media (\pm DE) de 6.8 (\pm 2.5). Es pertinente mencionar que 36 pacientes (80%) tuvieron valores superiores a 5 para la sensación de ardor.

En referencia al lagrimeo, la puntuación de la intensidad media (\pm DE) fue de 7.2 (\pm 2.5). Un alto porcentaje de los pacientes (63%) marcó una intensidad de lagrimeo superior a 7. El síntoma menos frecuente fue la sensación de cuerpo extraño, con una media (\pm DE) de 6,1 (\pm 2.5); 67% de los pacientes lo presentaron con una intensidad igual o superior a 5.

En la encuesta se incluyó una pregunta para identificar otras quejas que tuviesen los pacientes: incapacidad para abrir los ojos (8 pacientes [11%]); pinchazos (5 pacientes [7%]); hinchazón de los párpados (3 [4%] pacientes); sequedad (4 pacientes [5%]); y migrañas (3 pacientes [4%]).

Hay que destacar que no se encontró relación entre el dolor con la edad y la cantidad de ablación, ni entre el malestar con la edad y la cantidad de ablación.

El control del dolor (gotas frías y ansiolíticos)

En este estudio, se utilizó BSS frío (4°C) durante la cirugía y se recomendaba que los pacientes también utilizaran los colirios que se les pautaba en el postoperatorio a esta temperatura porque según se ha indicado anteriormente el frío reduce el dolor.⁶⁰ En la medicación que se les pautó a los pacientes en el postoperatorio no se incluyó ningún analgésico, que sí se utilizaron a demanda

como medicación de rescate. El porcentaje de pacientes que tuvieron la necesidad adicional de analgesia fue del 40% (29 pacientes), pero sólo once de ellos utilizó la medicación de rescate recomendada. El resto de los pacientes (25%) utilizaron analgésicos no incluidos en el protocolo.

| | Población total (n=73) | Hombres (n=34) | Mujeres (n=39) |
|--|---------------------------|----------------------|--------------------|
| Dolor durante ASA | | | |
| SI [#] , número de pacientes (% , [95%CI]) | 32 (44% [32%-56%]) | 18 (53% [35%-70%]) | 14 (36% [21%-53%]) |
| Dolor postoperatorio | | | |
| SI [#] , número de pacientes (% , [95%CI]) | 71 (97% [90%-100%]) | 34 (100% [89%-100%]) | 37 (95% [83%-99%]) |
| ENV, mediana (rango)* | 7 (2-10) | 6 (2-10) | 7 (2-10) |
| Peor dolor postoperatorio | | | |
| Pain intensity: 2-6, number of patients (% , [95%CI]) | 33 (45% [34%-57%]) | 18 (53% [35%-70%]) | 15 (38% [23%-55%]) |
| Pain intensity: 7-10, number of patients (% , [95%CI]) | 38 (52% [40%-64%]) | 16 (47% [30%-65%]) | 22 (56% [40%-72%]) |
| Fotofobia | | | |
| SI, número de pacientes (% , [95%CI]) | 62 (85% [75%-92%]) | 30 (88% [73%-97%]) | 32 (82% [66%-92%]) |
| ENV, mediana (rango)* | 9 (2-10) | 8 (2-10) | 9 (2-10) |
| Quemazón | | | |
| SI, número de pacientes (% , [95%CI]) | 45 (62% [50%-73%]) | 21 (62% [44%-78%]) | 24 (62% [45%-77%]) |
| ENV, mediana (rango)* | 7 (1-10) | 7 (2-10) | 7 (1-10) |
| Lagrimo | | | |
| SI, número de pacientes (% , [95%CI]) | 43 (59% [47%-70%]) | 20 (59% [41%-75%]) | 23 (59% [42%-74%]) |
| ENV, mediana (rango)* | 8 (2-10) | 8 (4-10) | 8 (2-10) |
| Sensación de cuerpo extraño | | | |
| SI, número de pacientes (% , [95%CI]) | 35 (48% [36%-60%]) | 19 (56% [38%-73%]) | 16 (41% [26%-58%]) |
| ENV, mediana (rango)* | 6 (2-10) | 5 (2-10) | 7 (2-10) |

ENV: escala numérica verbal (0: no dolor y 10 el peor dolor imaginable)

Intensidad de dolor ≥ 2

*La mediana (rango: mínimo-máximo) está basado solo en los pacientes con síntomas.

Tabla1. Dolor y resto de síntomas en la cirugía de ASA y en el postoperatorio.

Estos resultados están en la línea con estudios previos en los que el dolor severo estuvo presente en prácticamente todos los pacientes después de la cirugía de ASA.³⁶ Los resultados de este estudio, de acuerdo con lo publicado anteriormente por Caldwell y Sher,^{49, 76} proporcionan evidencia de que el pico de dolor se produce a las 24 horas y que la duración media del dolor es de 3 días, hasta que la reepitelización corneal se ha completado. Por lo tanto, una evaluación completa del dolor postoperatorio después de la cirugía de ASA se debería de realizar, como mínimo, durante este periodo de tiempo.

Del mismo modo, el dolor intra-operatorio también es un tema importante. Los datos disponibles sobre la percepción del dolor durante la cirugía de ASA son escasos.¹²⁹ Este estudio aporta como resultado novedoso el que la mitad de los pacientes refieren dolor durante la cirugía, y de ellos, el 73% experimentó igual dolor en ambos ojos y solo el 19% sintió más dolor en el segundo ojo operado. Hay estudios que informan que un número significativo de pacientes perciben la cirugía de cataratas en el segundo ojo como un procedimiento más doloroso que el primero,¹³⁰ pero no se ha encontrado ningún resultado a este respecto en relación con la cirugía ASA.

Otro dato interesante es que el 25% de los pacientes utilizó analgésicos fuera del protocolo establecido, actuando por sí mismos en lugar de utilizar la medicación de rescate recomendada. Esta falta de cumplimiento por los pacientes fue atribuida a los potenciales efectos secundarios relacionados con la medicación prescrita. Información a la que los pacientes, evidentemente, tuvieron acceso.

Es de destacar que los pacientes que se sometieron a cirugía refractiva eran generalmente jóvenes y sanos. Además, se les informó previamente sobre la transitoriedad de la incomodidad y el dolor postoperatorio. Por lo tanto, es justo decir que el beneficio de la operación prevalece sobre otras características negativas. Es decir, el aspecto emocional tiende a minimizar los síntomas en el postoperatorio.¹³¹

Un aspecto crucial a la hora de tratar el dolor es la forma de cuantificarlo en la práctica clínica. En este estudio, se utilizó un ENV debido a que se realizó mediante entrevista telefónica. Los métodos más recomendados para la evaluación de la intensidad del dolor son ENV y EVA, porque todos ellos proporcionan la potencia suficiente para describir la intensidad del dolor.¹²

Otra limitación importante de la cirugía refractiva es la existencia de disconfort en el postoperatorio.⁴ En esta línea, se destaca un estudio en el que el autor distingue entre el dolor y el malestar, explicando que el disconfort es un grupo de síntomas que se caracterizan por la fotofobia, ardor, lagrimeo y sensación de cuerpo extraño, y todos ellos fueron evaluados individualmente.¹³² La mayoría de los estudios sólo evalúan algunos de estos síntomas, siendo la fotofobia el más frecuente.⁸⁷ En un estudio reciente,¹³² la mayoría de los pacientes refirieron disconfort con una puntuación de 8 o 9 sobre una escala de 10, mientras que en nuestro estudio, la fotofobia fue el único síntoma con una puntuación de 8. Después del dolor postoperatorio, la fotofobia fue el síntoma predominante, estando presente en el 85% de los pacientes. Estos resultados están en línea con los de otras publicaciones.^{49, 76, 87}

Por otra parte, factores tales como la edad y la cantidad de la ablación no se asociaron con el dolor y el malestar después de ASA. Resultados que están de acuerdo con lo publicado por Carones.¹³²

Trabajo 2:

En el **trabajo 2** se llevó a cabo un estudio prospectivo de la medición del dolor y de las comorbilidades que presentaban los sujetos antes y después de ser sometidos a cirugía de ASA en ambos ojos.

Características de los pacientes

Se incluyeron un total de 32 pacientes (19 hombres y 13 mujeres). La mediana (rango) de edad fue de 28 años (18-47). El 100% de los pacientes recibió cirugía en ambos ojos.

Evolución del dolor después de la cirugía de ASA

Los resultados de este estudio mostraron que la media de dolor ocular en el postoperatorio de la cirugía de ASA (EVA ≥ 20 mm) fue del 100% desde las 0.5 horas hasta las 60 horas después del procedimiento. Un resultado similar se obtuvo con las EN ≥ 2 . Hay que resaltar que sólo 7 pacientes tuvieron un dolor en EVA < 20 mm a las 0.5 horas, ningún paciente a la 1 hora y 5 pacientes a las 2 horas después de la cirugía. Los resultados con EN < 2 fueron los siguientes: 4 pacientes a las 0.5 horas después de la cirugía, un paciente a 1 hora y 2 pacientes a las 2 horas. El pico máximo de dolor ocular en el postoperatorio fue a las 24 horas después de ASA con ambas escalas, EVA=61 \pm 31 y EN=6.0 \pm 2.8.

La evolución de la intensidad media del dolor se muestra en la figura 1. Se observa una gran variabilidad entre las curvas de los diferentes individuos. Pero se puede definir que la curva que representa la media de la intensidad de dolor en el postoperatorio experimentó un rápido crecimiento durante 9 horas después de la cirugía, alcanzando el pico máximo de dolor a las 24 horas, (aproximadamente 6 puntos de diferencia en la escala EVA), se estabilizó hasta las 36 horas y después empezó a disminuir hasta 96 horas, hasta llegar a niveles prácticamente de 0.

El dolor apareció a 0,5 horas [EVA=37 (20) mm ,media (DE)], el dolor máximo se produjo a las 24 horas [61 (31)]. A partir de aquí, el dolor empezó a disminuir progresivamente hasta 72 horas después de la cirugía [19 (20)]. La diferencia entre las EVA y las EN, en la evolución de intensidad del dolor fue pequeña y los rangos fueron desde -0,21 (control a las 2 horas) hasta 0,57 (control a las 48 horas).

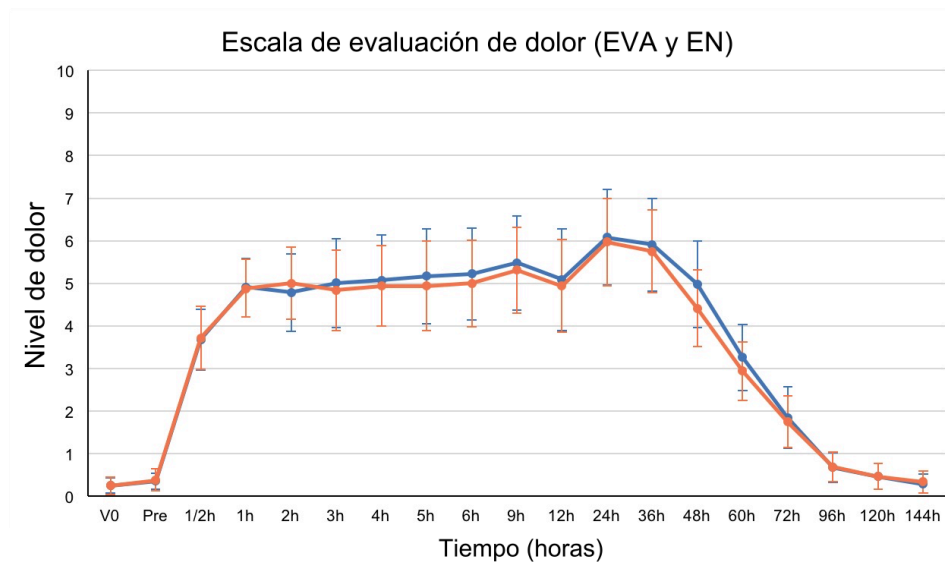


Figura 1. Evolución de la intensidad media del dolor en el postoperatorio de la cirugía de ASA medida con la EVA (línea azul) y con la EN (línea roja).

No se observaron diferencias en la evolución del dolor postoperatorio ni por sexo (Figura 2, $p=0.862$, PCA), ni por edad (Figura 3, $p=0.179$ PCA). Sin embargo, los pacientes mayores de 30 años presentaron una tendencia a una mayor intensidad del dolor entre las 6 y 48 horas después de ASA.

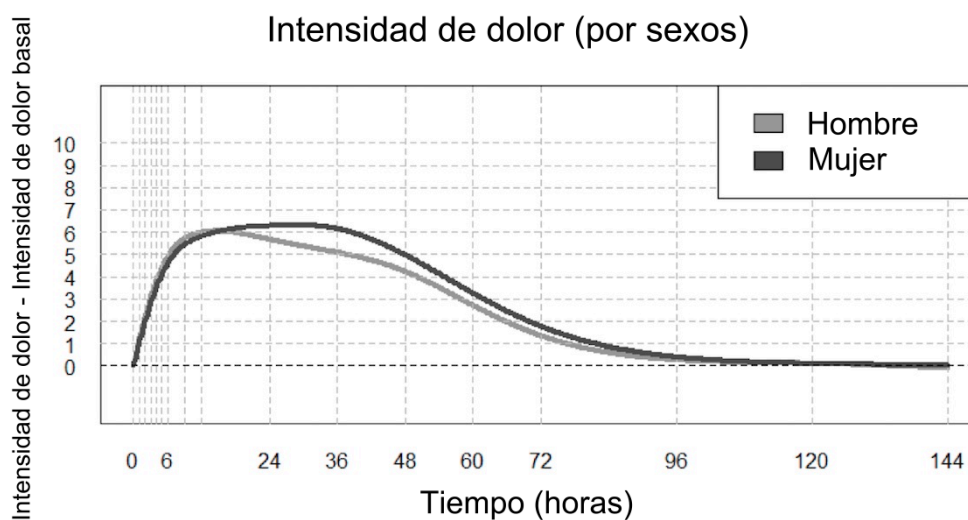


Figura 2. Evolución de la intensidad media de dolor en el postoperatorio de la cirugía de ASA por sexo.

La línea negra representa la intensidad media de dolor en el grupo femenino y la línea gris en el grupo masculino.

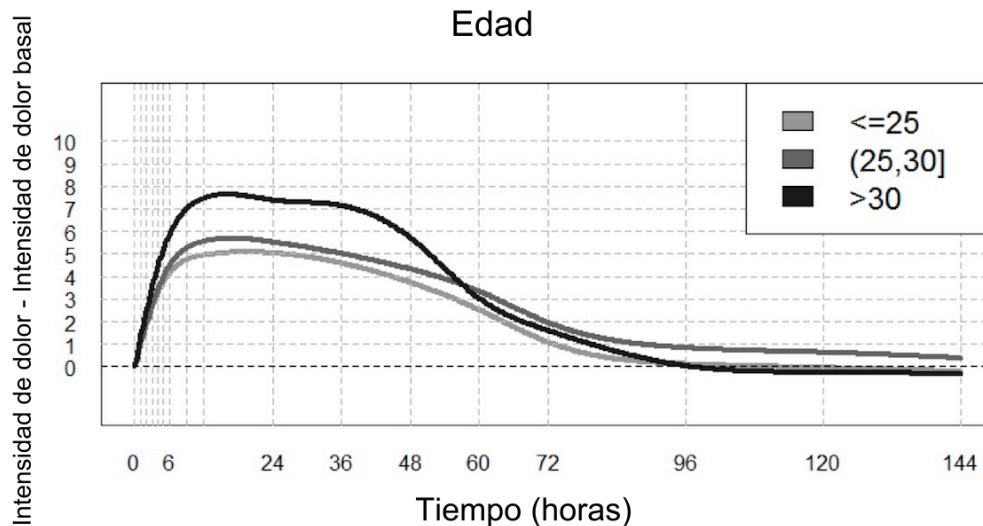


Figura 3. Evolución de la intensidad media de dolor en el postoperatorio de la cirugía de ASA por rangos de edad.

La línea negra representa la intensidad media de dolor en el grupo mayor de 30 años, la línea gris en el grupo entre 25 y 30 años incluidos y la línea gris clara en el grupo de menores o iguales a 25 años.

Siguiendo el análisis de componentes principales para los datos, la primera componente principal (FPC1) se interpretó como nivel de dolor general. Esta componente mostró que todos los sujetos con una puntuación más alta en esta componente tuvieron dolor superior a la media en todo el período de tiempo. Además, mostró ser bastante sensible en valores entre la hora y las 60 horas, ya que valores altos y bajos de las puntuaciones en esta componente se correspondieron con curvas que estaban lejos de la curva media. Por lo tanto, se puede decir que esta componente caracterizó el nivel de dolor especialmente hasta las 60 horas después de la cirugía de ASA. La FPC1 explicó el 78% de la variabilidad total de la muestra y se representa en la Figura 4.

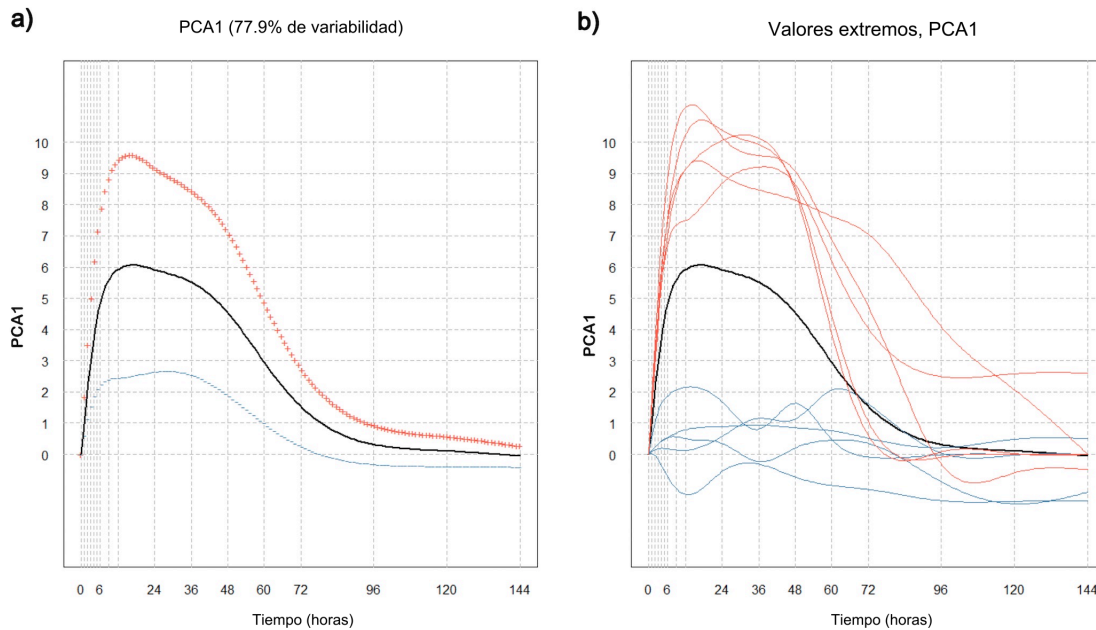


Figura 4. Evolución en el tiempo de la primera componente principal FPC1. En ambos gráficos la línea negra representa la media de la evolución del dolor en el postoperatorio. a) FPC1 que explica el 77.9% de la variabilidad interindividual en el tiempo. La línea roja representa las puntuaciones de las componentes que están 2 desviaciones estándar por encima de la media y la línea azul representa las puntuaciones de las componente que están 2 desviaciones estándar por debajo. b) Valores extremos de FPC1. Las curvas rojas corresponden a los 5 individuos que obtienen las puntuaciones más extremas por arriba y las azules por abajo.

La segunda componente principal (FPC2) se interpretó como el tiempo de recuperación. Se observó que individuos con valores altos en esta componte tardaron más en recuperarse con curvas más sostenidas a lo largo de todo el seguimiento, mientras que valores bajos se correspondían con individuos que alcanzan el pico de dolor a las 24–36 horas, recuperándose rápidamente a partir de las 48 horas después de la cirugía. FPC2 explicó el 12% de la variabilidad total de la muestra. Se representa en la Figura 5. Por lo tanto, considerando únicamente dos componentes principales se logró explicar el 90% de la variabilidad observada en toda la muestra.

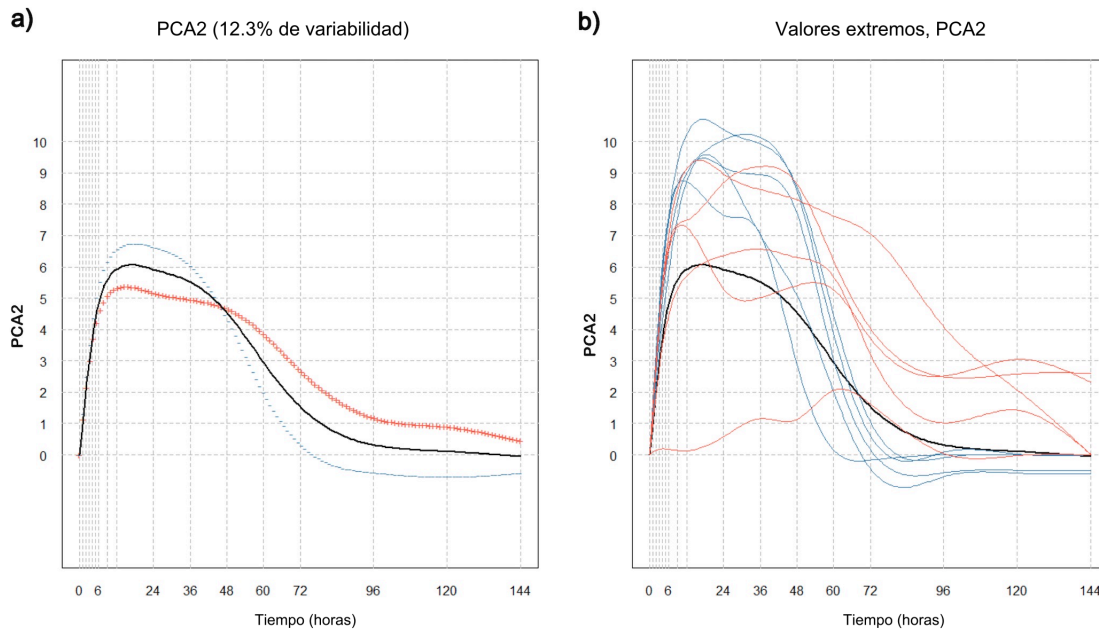


Figura 5. a) FPC2 (12.3% de la variabilidad) b) Valores extremos de FPC2. En ambos gráficos la línea negra representa la media del tiempo de recuperación. a) La línea roja representa las puntuaciones de las componentes que están 2 desviaciones estándar por encima de la media y la línea azul representa las puntuaciones de las componente que están 2 desviaciones estándar por debajo. b) Las curvas rojas corresponden a los 5 individuos que obtienen las puntuaciones más extremas por arriba y las azules por abajo.

Todos los pacientes tomaron paracetamol (1g) entre las 4 y las 6 horas después de el ASA, y luego cada 8 horas hasta las 72 horas. En este estudio, 14 pacientes (44%) necesitaron medicación de rescate. Estos pacientes presentaron una mayor intensidad del dolor, aunque esta tendencia a un dolor mas elevado no fue estadísticamente significativa ($p = 0,107$). Se muestra en la Figura 6.

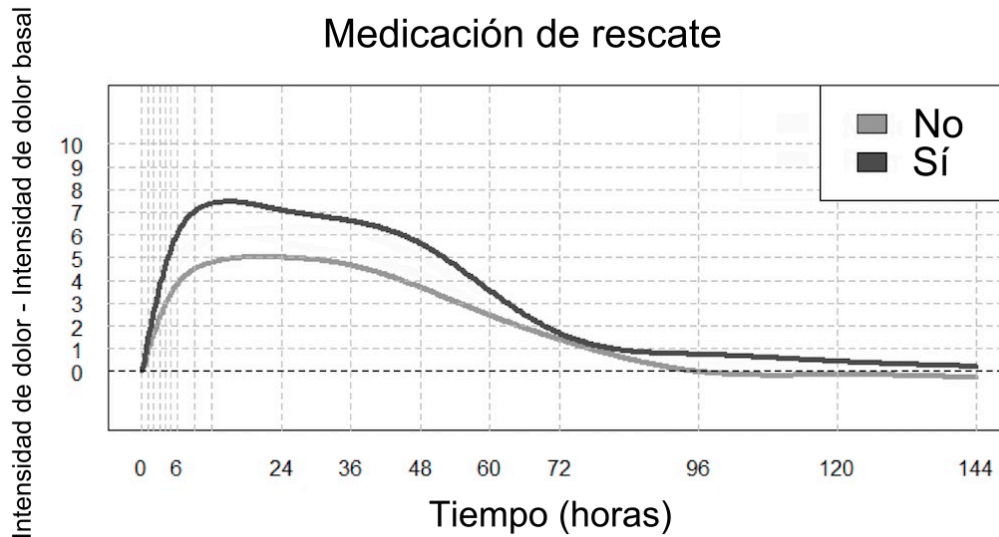


Figura 6. Evolución de la intensidad media de dolor en el postoperatorio de la cirugía de ASA en función de la medicación de rescate.

La línea negra representa la intensidad media de dolor en el grupo que tomó medicación de rescate. La línea gris representa la intensidad media de dolor en el grupo que no recurrió a ella.

Otros síntomas oculares después de la cirugía de ASA

En cuanto a otros síntomas post-operatorias tales como fotofobia, quemazón, lagrimeo, sensación de cuerpo extraño, picor y dolor de cabeza los resultados se muestran en la Tabla 1. Todos los pacientes (100%) presentaron fotofobia y 27 pacientes (84%) quemazón.

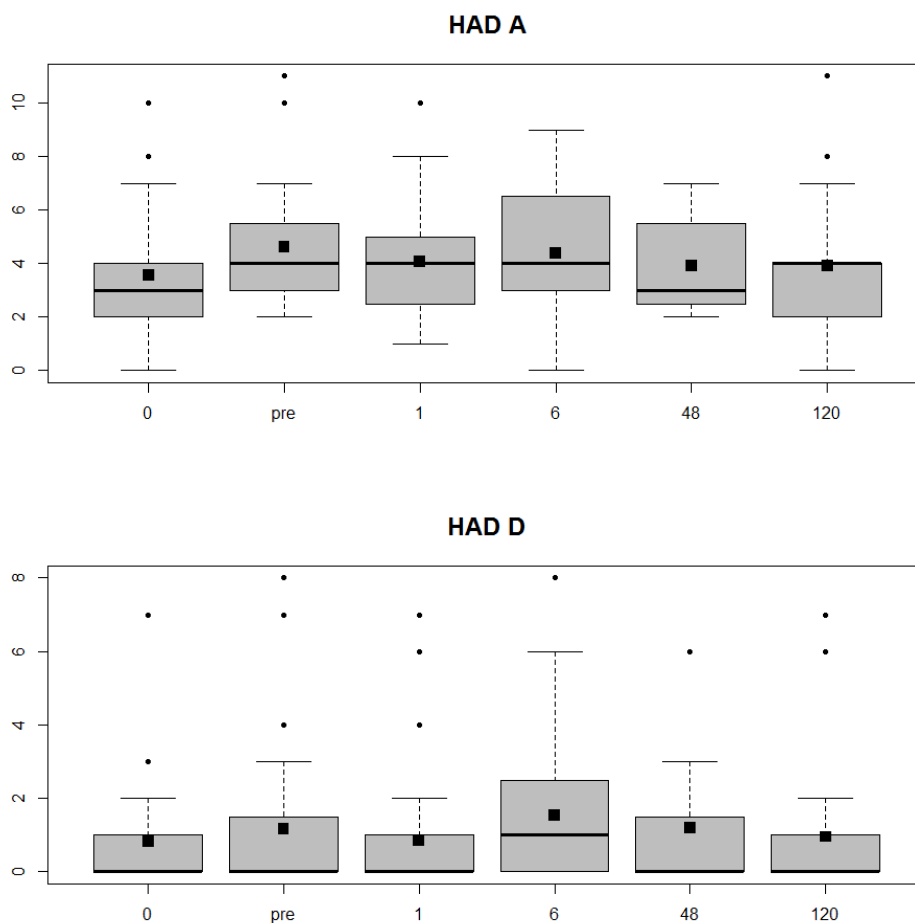
| Síntomas | Visita | N | Mediana | Intervalo de confianza 95% | |
|-----------------|--------|----|---------|----------------------------|----------|
| | | | | Inferior | Superior |
| Cuerpo extraño | Pre | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1h | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 6h | 32 | 1 | 0 | 2 |
| | 48h | 11 | 0 | 0 | 2 |
| | 120h | 21 | 0 | 0 | 0 |
| Fotofobia | Pre | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1h | 32 | 3 | 2 | 3 |
| | 6h | 32 | 3 | 2 | 3 |
| | 48h | 11 | 2 | 1 | 3 |
| | 120h | 21 | 1 | 0 | 1 |
| Dolor de cabeza | Pre | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1h | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 6h | 32 | 0 | 0 | 1 |
| | 48h | 11 | 0 | 0 | 0 |
| | 120h | 21 | 0 | 0 | 0 |
| Escozor | Pre | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1h | 32 | 1 | 1 | 2 |
| | 6h | 32 | 1 | 1 | 2 |
| | 48h | 11 | 1 | 0 | 2 |
| | 120h | 21 | 0 | 0 | 0 |
| Picor | Pre | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1h | 32 | 1 | 0 | 1 |
| | 6h | 32 | 1 | 0 | 2 |
| | 48h | 11 | 1 | 0 | 2 |
| | 120h | 21 | 0 | 0 | 0 |
| Lagrimeo | Pre | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1h | 32 | 2.5 | 2 | 3 |
| | 6h | 32 | 2 | 1 | 3 |
| | 48h | 11 | 1 | 0 | 2 |
| | 120h | 21 | 0 | 0 | 0 |

N= 32 (visitas Precirugía, 1h y 6h post cirugía), N=11 (visita 48h) y N=21 (visita 120h)

Tabla 1. Sintomatología ocular referida por los pacientes antes y después de realización de Cirugía de superficie avanzada, gradada en escala Likert de 4 puntos (0=sin sintomatología a 3=peor sintomatología imaginable).

Cuestionario Hospitalario de Ansiedad y Depresión (HAD) antes y después de la cirugía de ASA

Los resultados de HAD previo al ASA y a las 6 horas después de la cirugía se representan en la figura 7. Presentan un valor de media (SD) 4,4 (3,6) y 5,4 (3,9) previo a la cirugía y a las 6 horas después de ASA, respectivamente. En la subescala de ansiedad, en la evaluación previa a la cirugía, 29 pacientes (91%) obtuvieron una puntuación entre 0 y 7, solo un paciente (3%) marcó la puntuación de 10 y también, un único paciente (3%) presentó una puntuación ≥ 11 . A las 6 horas después de la cirugía, todos los pacientes anotaron puntuaciones entre 0 y 7. En la subescala de depresión, ningún paciente tuvo una puntuación ≥ 11 previa a la cirugía de ASA, todos los pacientes puntuaron entre 0 y 7, excepto uno que marcó una puntuación de 8. Se obtuvieron resultados similares a las 6 horas después de la cirugía de ASA.



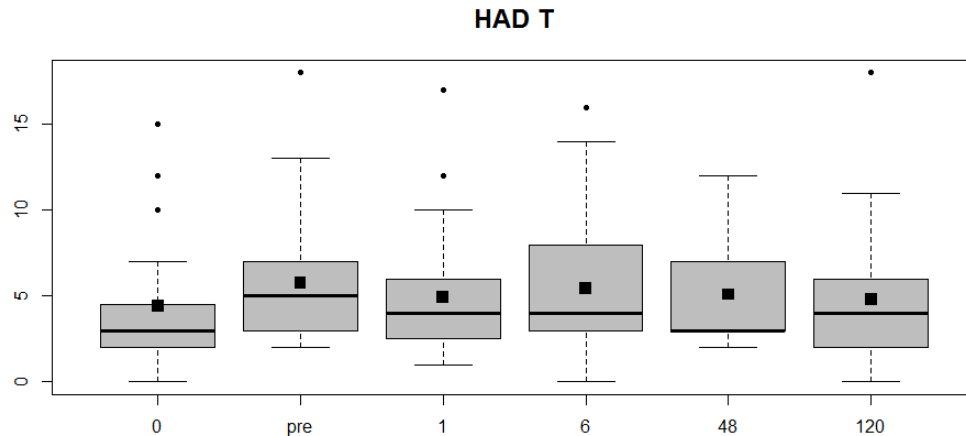


Figura 7. Cuestionario Hospitalario de Ansiedad y Depresión (HAD) después de la cirugía de ASA. La línea negra representa la mediana y el cuadro negro representa la media. HAD A representa la subescala para la ansiedad, HAD D representa la subescala para la depresión y HAD T representa la totalidad.

Cuestionario de calidad de vida (SF-12) antes y después de la cirugía de ASA

Los resultados del cuestionario SF-12 presentan diferencias significativas entre las 24h después de la cirugía y el resto de las visitas (p-valor 24h-0: <0,0001, p-valor de 72h-24h: 0,0079). La puntuación a las 24 horas después de la cirugía fue menor que en la visita basal y en las 72 horas posteriores a la cirugía.

Cuestionario función visual (VFQ-25) antes y después de la cirugía de ASA

Los resultados del cuestionario VFQ-25 presentaron diferencias significativas entre la visita basal y después de la cirugía 24h (p-valor 24-0: <0,0016). La puntuación más baja, por lo tanto la peor calidad visual, fue en las 24h después de la cirugía.

Según la búsqueda bibliográfica que se ha realizado este parece ser el primer

estudio en evaluar el dolor en el postoperatorio de la cirugía de ASA de manera tan detallada, porque el objetivo principal fue describir la evolución natural del dolor en el postoperatorio de la cirugía de ASA. Generalmente, los estudios están diseñados para analizar si los tratamientos que se aplican en el postoperatorio retrasan la epitelización corneal y la valoración del dolor no es el propósito principal.^{3, 133}

Los resultados que se obtuvieron estuvieron de acuerdo con otros estudios. La curva de dolor experimentó un rápido crecimiento hasta las 9h después de la cirugía, el pico máximo de dolor fue a las 24 horas, con un valor de 6, se estabilizó hasta 48h y empezó a disminuir hasta 72 horas.^{36, 133, 134} Pero hay que resaltar que el presente protocolo analgésico postoperatorio no incluyó AINES.

Los hallazgos clínicos también estuvieron de acuerdo con los estudios experimentales que demostraron que el dolor en el postoperatorio de la cirugía de ASA es debido a la alteración de las fibras sensoriales de la cornea,¹³⁵ puesto que el dolor desaparecía a las 72 horas, cuando la cornea estaba reepitelizada.

El estudiar la evolución de dolor en tantos momentos originó unos resultados bastante novedosos. Se identificaron dos perfiles de sujetos; aquellos con dolor severo, que alcanzaron el pico de dolor entre las 24-36 horas después de la cirugía, y que tenían un tiempo de recuperación más rápido de 48 horas. Y aquellos con un ligero dolor y una recuperación más lenta. Esto podría ser un punto importante a tener en cuenta con el fin de diseñar un nuevo tratamiento postoperatorio personalizado.

Otro hallazgo importante es que las personas con mayores puntuaciones de dolor tuvieron una mayor media de dolor a lo largo de todo el intervalo de tiempo. Y, como era de esperar, las personas que tomaron la medicación de rescate tenían niveles más altos de dolor en el postoperatorio aunque las diferencias no fueron significativas.

Como se ha mencionado, una limitación importante de la cirugía de ASA es la existencia de molestias en el postoperatorio.^{4, 5} Después de dolor postoperatorio, en este estudio, la fotofobia fue el síntoma más frecuente presente en el 100% de los sujetos y con las puntuaciones más altas. Estos resultados están en línea con los presentados por otros autores^{76, 87, 136}

Además del objetivo principal de este estudio que ha sido la caracterización del dolor postoperatorio después de la ASA para mejorar su manejo y la calidad asistencial a los pacientes, estos resultados suponen una pieza fundamental de una línea de investigación desarrollada para proponer nuevos modelos clínicos para evaluar el dolor post-quirúrgico. La cirugía de ASA presenta, en este sentido, algunas características interesantes: en primer lugar, la lesión inducida es bastante homogénea en todos los sujetos; en segundo lugar, el dolor ocular agudo después de la cirugía mostró una evolución característica y reproducible; tercero, el dolor postoperatorio es moderado, pero el aumento relativo es relevante (0 a 6); y, finalmente, esta cirugía se realiza en sujetos jóvenes, sanos y libres de dolor.

El dolor de origen corneal es muy molesto para los pacientes.³ Y hasta ahora, no existe ningún método de control del dolor que se haya considerado ideal o haya sido ampliamente aceptado.⁶ Este estudio demuestra que el 43% de los sujetos necesitan medicación de rescate. Esto confirma la necesidad de establecer un protocolo de analgesia postoperatoria más completo y eficiente.

Trabajo 3:

En el **trabajo 3** se llevó a cabo un estudio de la variabilidad y la reproducibilidad inter-sesión de potenciales biomarcadores en saliva en sujetos normales.

Características de los pacientes

Se incluyeron un total de 34 voluntarios sanos (11 hombres y 23 mujeres) para evaluar la reproducibilidad de cada biomarcador. La mediana (rango) de edad fue de 34 años (30 - 40).

Variabilidad y reproducibilidad inter-sesión de los potenciales biomarcadores en saliva

Para la mayoría de los participantes, la segunda muestra se obtuvo 24 horas después de la primera. Sin embargo, en tres sujetos, la segunda muestra se

tomó a las 21 horas después de la primera, y en cinco sujetos, a las 22 horas después de la primera. La mediana (rango) del tiempo transcurrido desde la última comida fue de 115 min (60 - 720 min) para la primera colección y 135 min (60 - 780 min) para la segunda ($p=0.45$). Cuatro sujetos estaban bajo tratamiento sistémico: dos con levotiroxina, uno con la vitamina C, y otro con ebastina. Después de revisar la información técnica sobre estos tratamientos, se consideró que era poco probable que estas medicaciones influyesen en las medidas, por lo que las muestras no fueron excluidas del análisis final. La mediana de tiempo transcurrido desde la última menstruación en las mujeres fue de 9 días en ambas muestras, con un rango de (0 - 26 días) para la primera y (0 - 29 días) para la segunda muestra ($p=0.008$). Sin embargo, teniendo en cuenta tres fases del ciclo menstrual: la fase folicular (de día 1 al día 14), la fase lútea (del día 15 al día 28) y la fase hemorrágica; el efecto del ciclo menstrual no fue significativo para ninguno de los potenciales biomarcadores (cortisol p -valor: 0.8473; ASS p -valor: 0.5389; IgAs p -valor: 0.8819; testosterona: 0.0997; sRIITNF α : 0.5318). La temperatura ambiente y la humedad presentaron una mediana de 24.2°C (rango 19.6 - 26.1°C) y 35% (rango 23.2 a 58.1%) para la primera medición. En la segunda medición, los resultados fueron similares pero no del todo idénticos respecto a la primera; 22.9°C (rango 17.2 - 26.1°C; $p=0.001$) y 30.2% (rango 26.7 - 47.3%; $p=0.05$). La mediana en el tiempo de recogida fue de 266 seg (rango 120 - 300 seg) para la primera colección y de 281 seg (rango 170 - 300 seg; $p=0.08$).

En ambas muestras, los datos para el cortisol, la IgAs, la AAs, y sRIITNF α siguieron una distribución normal, pero no ocurrió lo mismo con los datos de la testosterona. No hubo diferencias significativas para ninguno de los posibles biomarcadores salivares entre la primera y la segunda muestra a excepción de la testosterona, que sí mostró una disminución significativa ($p < 0,001$, test de Wilcoxon). La Tabla 1. muestra los valores para todos los biomarcadores. Estos valores se calcularon independientemente del sexo de los sujetos.

| Biomarcador | 1ª muestra | | 2ª muestra | | Media de la diferencia | | |
|----------------------------|----------------|--------------------|----------------|--------------------|------------------------|------------------|---------|
| | Concentración | IC 95% | Concentración | IC 95% | | IC 95% | p-valor |
| Cortisol | 1.20 ± 0.91 | 0.89 – 1.52 | 1.15 ± 1.14 | 0.75 – 1.54 | -0.06 | -0.27, +0.38 | 0.7215 |
| IgAs | 169.70 ± 44.55 | 154.15 – 185.24 | 168.74 ± 42.32 | 153.97 – 183.50 | -0.96 | -6.47, +8.38 | 0.7944 |
| AAs | 53.13 ± 19.27 | 46.41 – 59.86 | 47.00 ± 20.28 | 39.92 – 54.07 | -6.14 | -1.44, +13.72 | 0.109 |
| Testosterona (hombres)* | 75.30 ± 33.89 | 52.53 – 98.07 | 46.97 ± 22.63 | 31.77 – 62.18 | -28.32 | -54.3, -2.35 | 0.0355 |
| Testosterona (mujeres)* | 22.99 ± 16.72 | 15.76 – 30.21 | 10.62 ± 5.86 | 8.09 – 13.16 | -9.4 | -12.95, -3.48 | 0.0001 |
| sRIITNF α | 79.46 ± 66.24 | 56.34 – 102.57 | 75.77 ± 64.10 | 53.38 – 98.16 | -3.69 | -9.23, +16.61 | 0.5652 |

n = 34 para cada biomarcador; cortisol, $\mu\text{g/dL}$; IgAs, $\mu\text{g/mL}$; AAs, U/mL ; testosterona, ng/mL ; sRIITNF α , pg/mL ; *, p-valor <0.0001 para las diferencias entre hombres y mujeres en las concentraciones de testosterona en ambas muestras. (11 hombres y 23 mujeres).

Tabla 1. Diferencias entre las dos muestras de las concentraciones de los potenciales biomarcadores.

La Figura 1. muestra los gráficos de Bland-Altman que se crearon para evaluar la diferencia en la medición individual para cada biomarcador, en función de la media de las dos mediciones. El diagrama de dispersión mostró que la diferencia de las medidas de los biomarcadores, entre las dos muestras, fueron independientes de la media para la AAs y para la IgAs. Sin embargo, la testosterona ($\tau=0.49$; $p=0.0001$), el cortisol ($\tau=0.37$; $p = 0.002$) y la sRIITNF α ($\tau=0.41$; $p=0.0005$) mostraron correlaciones directas que desaparecieron después de la transformación al logaritmo decimal. Los límites de acuerdo al 95% (LoA) transformados a la escala decimal se calcularon como se ha mencionado anteriormente sobre la (testosterona: $-17.53+0.66X$, el cortisol: $-0.06+0.9X$, sRIITNF α : $-3.69+0.05X$), y se muestran en la Figura 1C, 1D y 1E.

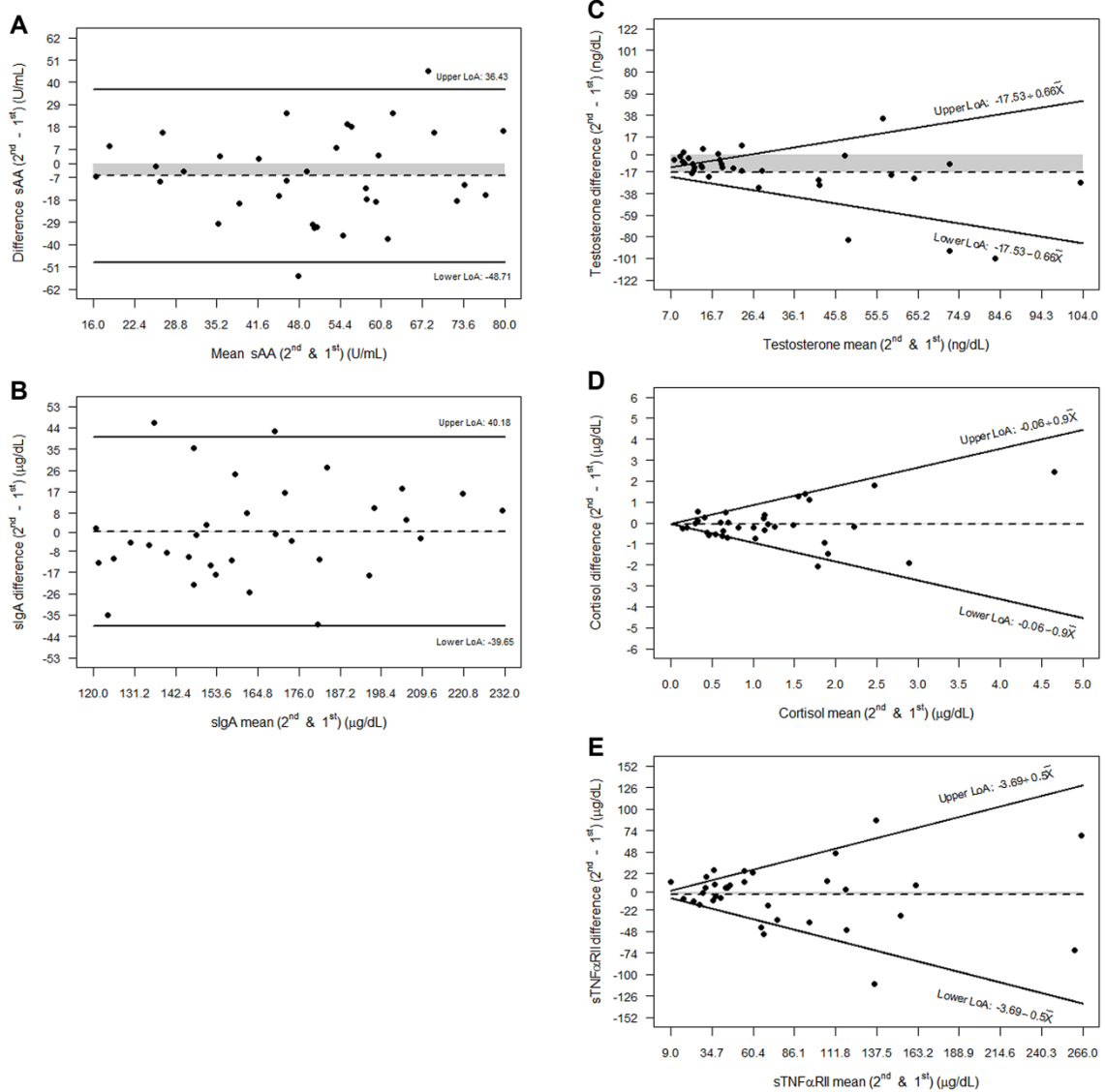


Figura 1. Los gráficos de Bland-Altman que muestran la reproducibilidad intersección para cada biomarcador: (A) AAS, (B) IgAs, (C) Testosterona, (D) Cortisol y (E) sRIITNFαR. Las líneas negras representan los LoA superior e inferior: en A y B los LoA 95% se representan en bruto y en C, D y E se representan como funciones de la media de las dos mediciones después de ser transformados al logaritmo decimal (\bar{X} representa la media de cada biomarcador). La línea punteada representa la media de la diferencia entre la segunda y la primera medición y el área entre las líneas negras representa la magnitud entre este valor de la diferencia media y cero.

La Tabla 2. muestra los LoA 95% correspondientes a la variabilidad intersesión para cada biomarcador. Para la AAs y para la IgAs, se muestran los LoA en bruto, mientras que para la testosterona, el cortisol y la sRIITNF α , los LoA se muestran como funciones de la media de las dos mediciones, después de ser transformados al logaritmo decimal.

| | AAs (r: 13.16 - 90.95) | Testosterona (r: 2.83 - 134) | Cortisol (r: 0.01 - 5.88) | sRIITNFα (r: 3.33 - 299.4) | IgAs (r: 106.55 - 235.95) |
|--------------|----------------------------------|--|--|--|-------------------------------------|
| LoA superior | 36.43 | $-17.53 + 0.66 \times$ media Testosterona | $-0.06 + 0.9 \times$ media Cortisol | $-3.69 + 0.5 \times$ media sRIITNF α | 40.18 |
| LoA inferior | -48.71 | $-17.53 - 0.66 \times$ media Testosterona | $-0.06 - 0.9 \times$ media Cortisol | $-3.69 - 0.5 \times$ media sRIITNF α | -39.65 |

r: rango

Tabla 2: LoA 95% superior e inferior correspondientes a la variabilidad intersesión para cada biomarcador.

La Tabla 3. muestra la Intersesión S_w , la precisión ($S_w \times 1.96$), la reproducibilidad ($S_w \times 2.77$) y el CV $_w$ (IC del 95%), para el análisis intersesión de cada biomarcador.

| Biomarcador | S_w (IC 95%) | Precisión $S_w \times 1.96$ | Reproducibilidad $S_w \times 2.77$ | CV$_w$ (%) (IC 95%) |
|----------------------|--|---|--|---|
| AAs | 12.88 (9.73;16.03) | 25.2448 | 35.6776 | 26.38 (20.21;32.54) |
| Testosterona (*) | 14.54 (8.57;20.51) | 28.4984 | 40.2758 | 47.93 (37.38;58.47) |
| Cortisol (*) | 0.46 (0.30;0.62) | 0.9016 | 1.2742 | 43.77 (33.05;54.49) |
| sRIITNF α (*) | 18.29 (11.88;24.69) | 35.8484 | 50.6633 | 26.11 (19.46;32.75) |
| IgAs | 11.7 (8.53; 14.88) | 22.932 | 32.409 | 7.1 (5.07; 9.12) |

Tabla 3. Intersesión S_w , precisión ($S_w \times 1.96$), reproducibilidad ($S_w \times 2.77$) y el CV $_w$ (IC del 95%), para el análisis intersesión de cada biomarcador.

La Tabla 4. muestra que la AAs mantuvo el valor más bajo del CCI, lo que indica una muy baja repetibilidad entre las dos mediciones. La sRIITNF α y IgAs tuvieron una repetibilidad más alta, 0.828 y 0.879, respectivamente, lo que indicó una buena reproducibilidad intersesión. El CCI para el cortisol fue 0.526, lo que se situaba en el límite de aceptabilidad.

| Biomarcador | CCI | 95% IC CCI | Rango de reproducibilidad |
|--------------------|------------|-------------------|----------------------------------|
| AAs | 0.003 | 0.000 – 0.546 | Muy bajo |
| Testosterona | 0.412 | 0.107 – 0.662 | Bajo |
| Cortisol | 0.526 | 0.262 – 0.752 | Moderado |
| sRIITNF α | 0.828 | 0.689 – 0.920 | Muy bueno |
| IgAS | 0.879 | 0.805 – 0.942 | Muy bueno |

n = 34 para cada biomarcador

Tabla 4. Fiabilidad de los potenciales biomarcadores.

La hipótesis de este tercer trabajo fue que el análisis de biomarcadores en la saliva podría ser un método objetivo para cuantificar el dolor agudo y crónico, una idea que ha ganado interés en los últimos años. El gran número de autores que participan actualmente en esta investigación demuestra la relevancia y el interés de este tema.¹⁶⁻¹⁸

Hay que partir de la base que un buen marcador biológico para aplicaciones clínicas del dolor debe comportar ciertas características. Debe ser reproducible, seguro, fácil, no resultar invasivo a la hora de su obtención, modificarse de acuerdo con el tratamiento y las variaciones de la enfermedad, y transferible a un amplio uso clínico.¹³⁷

Para este trabajo, se utilizaron muestras de saliva debido a que muchos de los biomarcadores presentes en la sangre y en la orina también se pueden detectar en la saliva, y este fluido contiene biomarcadores específicos para la detección precoz de algunas enfermedades cardiovasculares, renales, infecciosas o psicológicas.¹³⁸

Este es el primer trabajo que analiza al mismo tiempo el cortisol, la AAs, la testosterona, la IgAs, y la sRIITNF α para establecer la reproducibilidad de las

mediciones de estos posibles biomarcadores en sujetos normales. La testosterona se incluyó debido a su correlación negativa con el dolor.¹³⁹ Sin embargo, se ha encontrado una alta variabilidad en los niveles de testosterona, tanto en hombres como en mujeres, sanos, adultos y sin dolor. A esto le siguen unos ICC bajos, dejando excluida a la testosterona como un buen marcador biológico del dolor. La AAs presentó los valores más bajos de reproducibilidad entre todos los biomarcadores. Mientras que hay algunos autores que la consideran un biomarcador emergente para el estrés y el dolor^{16, 18}, otros llegaron a la conclusión de que existe un apoyo insuficiente para esa idea.¹⁴⁰ Otros autores consideran AAs como un nuevo marcador biológico para el estrés psicosocial en relación con el sistema simpático adrenomedular.^{16, 141} Se seleccionaron el cortisol, IgAs, y la sRIITNF α para este estudio debido a que en estudios que los analizan de manera separada los correlacionan bien con el dolor.^{111, 142} Los tres biomarcadores tuvieron niveles aceptables de reproducibilidad dentro de sujetos normales. El CCI moderadamente alto que se encontró en el cortisol salival fue similar al de los trabajos anteriores^{143, 144} Entre todos los biomarcadores analizados en investigación la IgAs y la sRIITNF α tuvieron la mayor reproducibilidad entre ambas tomas de un mismo individuo. Es interesante destacar que la variación intersesión se debe esperar que sea mayor con el aumento de los valores de testosterona, de cortisol y de la sRIITNF α , pero no para la AAs y para la IgAs (Fig 1).

A pesar de la importancia de conocer la precisión, es decir, el error aleatorio, de los biomarcadores antes mencionados, el presente estudio es el primero que utiliza un análisis estadístico apropiado para obtener la fiabilidad intersesión. Por eso se calculó el S_w , la precisión, la reproducibilidad, el CV_w y el CCI (Tablas 2-4). Se debe tener en cuenta dos aspectos. Por un lado, la precisión, que indica la diferencia entre la medición de un sujeto y el valor real (valor medio que se obtendría de varias mediciones) para el 95% de las observaciones.^{145, 146} Y por otro lado, la reproducibilidad, que indica el valor por debajo del cual la diferencia entre dos mediciones en diferentes días se encontraría con una probabilidad de 0.95.^{145, 146} Por lo tanto, las estimaciones proporcionadas en el presente documento deberían ayudar a los clínicos a diferenciar los cambios reales de un biomarcador de la variabilidad de las mediciones intersesión.

LIMITACIONES DE LOS TRABAJOS

Limitaciones del trabajo 1

Respecto al trabajo 1 existen varias limitaciones importantes: el diseño del estudio (estudio tipo encuesta), el uso de un cuestionario telefónico en lugar de una entrevista personal, y el tipo de población analizada. Al ser una población de un solo lugar geográfico e intervenidos por un único cirujano podría subestimarse o sobreestimarse la generalización de los resultados más allá de la población y de las condiciones estudiadas. Del mismo modo, el hecho de que a los pacientes se les preguntase directamente sobre el dolor, fotofobia, ardor, lagrimeo y sensación de cuerpo extraño, podría hacer que se sobreestimarán los resultados. Sin embargo, el procedimiento utilizado, un cuestionario telefónico, en un estudio tipo encuesta se considera fiable y válido y se ha utilizado para evaluar el dolor agudo^{147, 148} y el dolor crónico.¹⁴⁹ Por otro lado, uno de los problemas relacionados con las encuestas telefónicas es su duración, lo que podría influir en la calidad de la respuesta. Este estudio se realizó en un período de tiempo de 10 minutos. A pesar de estas limitaciones, este estudio proporciona nuevas evidencias sobre las comorbilidades relacionadas con el procedimiento PRK/ASA.

Limitaciones del trabajo 2

El diseño observacional y el tamaño de la muestra podrían subestimar o sobrestimar la capacidad de generalizar los resultados más allá de la población y las condiciones estudiadas. El tamaño de la muestra fue relativamente pequeño para algunos análisis, un hecho que podría introducir sesgo en los resultados. La percepción del dolor es muy heterogénea y es posible que al incluir un mayor número de pacientes los resultados pudiesen variar algo. Otra limitación es que todos los pacientes tomaron paracetamol oral (1 g) entre 4 y 6 h después de ASA, y luego cada 8 h hasta 72 h, y el 44% de los pacientes tomaron medicación de rescate. Asimismo, todos los pacientes tomaron un ansiolítico antes y después de la cirugía. El impacto potencial de estos fármacos analgésicos y ansiolíticos sobre la evolución del dolor no se

consideró en este análisis. Por lo tanto, es probable que la evolución del dolor entre 4 y 6 horas después de ASA hubiera sido mayor sin estos fármacos. En consecuencia, nuestros resultados podrían subestimar el dolor ocular después de ASA. Además, se ha detectado que factores demográficos y psicológicos han sido identificados como factores que pueden influir en el dolor postoperatorio en otras disciplinas quirúrgicas. Por lo tanto, deberían ser tenidos en consideración en futuras investigaciones.¹⁵⁰ Sin embargo, a pesar de estas limitaciones, estos resultados apoyan la evolución predecible del dolor posquirúrgico después de ASA como un nuevo modelo para el estudio del dolor agudo postoperatorio.

Limitaciones del trabajo 3

El trabajo actual tiene algunas limitaciones. El tamaño muestral fue relativamente pequeño, pero los análisis estadísticos mostraron que el número de observaciones fueron suficientes para proporcionar resultados significativos. A pesar de tener muestras recogidas entre las 09:00 y las 12:00 pueden verse influidas por algunos de los parámetros que originan variabilidad durante las horas de la mañana. Parece más razonable lo que realizan la mayoría de los estudios que, o bien optan por un período de tiempo limitado, pero demasiado temprano en la mañana (de 08:00 a 09:00) u otros que recogen muestras de 08.30 a 17.00 horas. Por otra parte, el análisis detallado de la fase del ciclo menstrual no ha puesto de manifiesto una influencia significativa en cualquiera de los biomarcadores. Hay que añadir, que el sueño y el estrés son variables que no habían sido valoradas estrictamente y pueden haber influido en que las concentraciones de los biomarcadores. Sin embargo, se ha tratado de minimizar su impacto, limitando el rango de edad, antecedentes de enfermedad médica grave o con un trastorno psiquiátrico o en psicoterapia y dejando suficiente tiempo hasta el tiempo de recogida para disminuir la influencia de estas sustancias nada más despertar. Sin embargo, estas influencias se deberían tomar en consideración en estudios posteriores. El flujo salival puede influir en estos biomarcadores potenciales. En este trabajo no se cuantificó y por lo tanto, no se pueden corregir los parámetros para esta variable. Sin embargo, se trató de estandarizar las posibles fuentes de error que pueden

influir en la velocidad de flujo; la técnica, la duración de recogida y la estimulación salivar.¹⁵¹ De todos modos, estudios posteriores deberían considerar cuidadosamente esta variable, sobre todo si analizan a sujetos con dolor que reciben tratamiento analgésico. Los factores ambientales como la temperatura, la hora del día y la humedad podrían haber afectado a las muestras de saliva. Es conocido que estos factores afectan a otras colecciones de biomarcadores como los de las lágrimas.¹⁵² Aunque se ha tratado de recoger todas las muestras en condiciones similares, un control más estricto de todas ellas con el uso de una cámara de ambiente controlado podría mejorar la repetibilidad de los resultados. Pocos autores anteriores han tenido en cuenta estas variables,^{9, 153} por lo que es difícil comparar los resultados con los estudios.

CONCLUSIONES

De los resultados de los diferentes trabajos que conforman esta tesis, pueden extraerse las siguientes conclusiones generales:

1. Estos resultados justifican que es necesario un protocolo analgésico más completo y eficiente que el utilizado de modo preliminar para el postoperatorio de la cirugía de ASA.
2. La cirugía de ASA, podría ser usada como modelo de evaluación de dolor agudo postoperatorio lo que sería útil para probar nuevos protocolos analgésicos e intentar conseguir tratamientos personalizados.
3. El análisis de biomarcadores en la saliva podría ser un método objetivo para cuantificar el dolor agudo y crónico.
4. Los potenciales biomarcadores con unos niveles de reproducibilidad más aceptables en sujetos sanos podrían ser utilizados para desarrollar modelos para la evaluación de nuevos protocolos para el manejo del dolor.

Estas conclusiones generales están basadas en las siguientes sub-conclusiones derivadas de los hallazgos de los tres trabajos:

Conclusiones del trabajo 1:

Los resultados de este estudio sugieren que comorbilidades como el dolor, la fotofobia, la quemazón, el lagrimeo y la sensación de cuerpo extraño son prevalentes después de la cirugía de ASA.

Entre ellos, el dolor postoperatorio debería ser tenido en cuenta por su prevalencia y por su intensidad.

Conclusiones del trabajo 2:

Estos resultados sugieren que el dolor agudo postoperatorio después de la cirugía de ASA presenta una evolución característica. Por esto, este tipo de cirugía podría ser usada como un nuevo modelo de evaluación de dolor agudo

postoperatorio y podría ser útil para la testar nuevos analgésicos.

Conclusiones de trabajo 3:

Los resultados de este estudio muestran que solo la IgAs y la sRIITNF α presentan niveles aceptables de reproducibilidad en sujetos sanos para ser usados como potenciales biomarcadores para medir la existencia de dolor. Además la variabilidad inter-sesión es relativamente uniforme para la IgAs y para la sRIITNF α . Se necesitarían más estudios clínicos para validar y ampliar estos resultados y poder establecer los patrones normales y su variabilidad inter e intra-individual.

Este estudio proporciona los criterios para diferenciar cuáles son los cambios reales en los biomarcadores y las variaciones inter-sesión esperables en sus medidas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Trattler WB, Barnes SD. Current trends in advanced surface ablation. *Curr Opin Ophthalmol* 2008;19:330-334.
2. Moisseiev E, Sela T, Minkev L, Varssano D. Increased preference of surface ablation over laser in situ keratomileusis between 2008-2011 is correlated to risk of ectasia. *Clin Ophthalmol* 2013;7:93-98.
3. Woreta FA, Gupta A, Hochstetler B, Bower KS. Management of post-photorefractive keratectomy pain. *Surv Ophthalmol* 2013;58:529-535.
4. McCarty CA, Garrett SK, Aldred GF, Taylor HR. Assessment of subjective pain following photorefractive keratectomy. Melbourne Excimer Laser Group. *J Refract Surg* 1996;12:365-369.
5. 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.
6. Nissman SA, Tractenberg RE, Babbar-Goel A, Pasternak JF. Oral gabapentin for the treatment of postoperative pain after photorefractive keratectomy. *Am J Ophthalmol* 2008;145:623-629.
7. Marfurt CF, Cox J, Deek S, Dvorscak L. Anatomy of the human corneal innervation. *Exp Eye Res* 2010;90:478-492.
8. Singla NK, Desjardins PJ, Chang PD. A comparison of the clinical and experimental characteristics of four acute surgical pain models: dental extraction, bunionectomy, joint replacement, and soft tissue surgery. *Pain* 2014;155:441-456.
9. Bell RF, Sivertsen A, Mowinkel P, Vindenes H. A bilateral clinical model for the study of acute and chronic pain after breast-reduction surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001;45:576-582.
10. Englbrecht M, Turner IH, van der Heijde DM, Manger B, Bombardier C, Muller-Ladner U. Measuring pain and efficacy of pain treatment in inflammatory arthritis: a systematic literature review. *J Rheumatol Suppl* 2012;90:3-10.
11. Williamson A, Hoggart B. Pain: a review of three commonly used pain rating scales. *J Clin Nurs* 2005;14:798-804.
12. Hjermstad MJ, Fayers PM, Haugen DF, et al. Studies comparing Numerical Rating Scales, Verbal Rating Scales, and Visual Analogue Scales for assessment of pain intensity in adults: a systematic literature review. *J Pain Symptom Manage* 2011;41:1073-1093.
13. Lopez-Jornet P, Cayuela CA, Tvarijonaviciute A, Parra-Perez F, Escribano D, Ceron J. Oral lichen planus: salivary biomarkers cortisol, immunoglobulin A, adiponectin. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology* 2016;45:211-217.
14. Payne LA, Hibell LC, Granger DA, Tsao JC, Zeltzer LK. Relationship of Salivary Alpha Amylase and Cortisol to Social Anxiety in Healthy Children Undergoing Laboratory Pain Tasks. *Journal of child and adolescent behavior* 2014;2.
15. Hussain S, Miller JL, Harvey DJ, et al. Strain-specific antiviral activity of iminosugars against human influenza A viruses. *J Antimicrob Chemother* 2015;70:136-152.
16. Robles TF, Sharma R, Park KS, Harrell L, Yamaguchi M, Shetty V. Utility of a salivary biosensor for objective assessment of surgery-related stress. *J Oral Maxillofac Surg* 2012;70:2256-2263.
17. Hanson D, Hall W, Mills LL, et al. Comparison of distress and pain in infants randomized to groups receiving standard versus multiple immunizations. *Infant Behav Dev* 2010;33:289-296.

18. Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. *Psychoneuroendocrinology* 2009;34:486-496.
19. El-Maghraby A, Salah T, Waring GO, 3rd, Klyce S, Ibrahim O. Randomized bilateral comparison of excimer laser in situ keratomileusis and photorefractive keratectomy for 2.50 to 8.00 diopters of myopia. *Ophthalmology* 1999;106:447-457.
20. Piebenga LW, Matta CS, Deitz MR, Tauber J, Irvine JW, Sabates FN. Excimer photorefractive keratectomy for myopia. *Ophthalmology* 1993;100:1335-1345.
21. Shortt AJ, Allan BD, Evans JR. Laser-assisted in-situ keratomileusis (LASIK) versus photorefractive keratectomy (PRK) for myopia. *The Cochrane database of systematic reviews* 2013;CD005135.
22. Skevas C, Katz T, Wagenfeld L, Richard G, Linke S. Subjective pain, visual recovery and visual quality after LASIK, EpiLASIK (flap off) and APRK - a consecutive, non-randomized study. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie* 2013;251:1175-1183.
23. Ambrosio R, Jr., Wilson S. LASIK vs LASEK vs PRK: advantages and indications. *Seminars in ophthalmology* 2003;18:2-10.
24. Dastjerdi MH, Soong HK. LASEK (laser subepithelial keratomileusis). *Curr Opin Ophthalmol* 2002;13:261-263.
25. Melki SA, Azar DT. LASIK complications: etiology, management, and prevention. *Surv Ophthalmol* 2001;46:95-116.
26. Gimbel HV, DeBroff BM, Beldavs RA, van Westenbrugge JA, Ferensowicz M. Comparison of laser and manual removal of corneal epithelium for photorefractive keratectomy. *J Refract Surg* 1995;11:36-41.
27. Pallikaris IG, Karoutis AD, Lydataki SE, Siganos DS. Rotating brush for fast removal of corneal epithelium. *J Refract Corneal Surg* 1994;10:439-442.
28. Abad JC, Talamo JH, Vidaurri-Leal J, Cantu-Charles C, Helena MC. Dilute ethanol versus mechanical debridement before photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 1996;22:1427-1433.
29. Feit R, Taneri S, Azar DT, Chen CC, Ang RT. LASEK results. *Ophthalmology clinics of North America* 2003;16:127-135, viii.
30. Shah S, Doyle SJ, Chatterjee A, Williams BE, Ilango B. Comparison of 18% ethanol and mechanical debridement for epithelial removal before photorefractive keratectomy. *J Refract Surg* 1998;14:S212-214.
31. Camellin M. Laser epithelial keratomileusis for myopia. *J Refract Surg* 2003;19:666-670.
32. Kalyvianaki MI, Kymionis GD, Kounis GA, Panagopoulou SI, Grentzelos MA, Pallikaris IG. Comparison of Epi-LASIK and off-flap Epi-LASIK for the treatment of low and moderate myopia. *Ophthalmology* 2008;115:2174-2180.
33. Carones F, Fiore T, Brancato R. Mechanical vs. alcohol epithelial removal during photorefractive keratectomy. *J Refract Surg* 1999;15:556-562.
34. Campos M, Hertzog L, Wang XW, Fasano AP, McDonnell PJ. Corneal surface after deepithelialization using a sharp and a dull instrument. *Ophthalmic surgery* 1992;23:618-621.
35. Campos M, Raman S, Lee M, McDonnell PJ. Keratocyte loss after different methods of de-epithelialization. *Ophthalmology* 1994;101:890-894.
36. Blake CR, Cervantes-Castaneda RA, Macias-Rodriguez Y, Anzoulatous G, Anderson R, Chayet AS. Comparison of postoperative pain in patients following photorefractive keratectomy versus advanced surface ablation. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:1314-1319.
37. Muller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res* 2003;76:521-542.
38. Rozsa AJ, Beuerman RW. Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit. *Pain* 1982;14:105-120.

39. Felipe CD, Gonzalez GG, Gallar J, Belmonte C. Quantification and immunocytochemical characteristics of trigeminal ganglion neurons projecting to the cornea: effect of corneal wounding. *Eur J Pain* 1999;3:31-39.
40. Bessou P, Perl ER. Response of cutaneous sensory units with unmyelinated fibers to noxious stimuli. *J Neurophysiol* 1969;32:1025-1043.
41. 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.
42. Gallar J, Pozo MA, Tuckett RP, Belmonte C. Response of sensory units with unmyelinated fibres to mechanical, thermal and chemical stimulation of the cat's cornea. *J Physiol* 1993;468:609-622.
43. Giraldez F, Geijo E, Belmonte C. Response characteristics of corneal sensory fibers to mechanical and thermal stimulation. *Brain Res* 1979;177:571-576.
44. Schimmelpfennig B. Nerve structures in human central corneal epithelium. *Graefes archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie* 1982;218:14-20.
45. Auran JD, Koester CJ, Kleiman NJ, et al. Scanning slit confocal microscopic observation of cell morphology and movement within the normal human anterior cornea. *Ophthalmology* 1995;102:33-41.
46. Muller LJ, Vrensen GF, Pels L, Cardozo BN, Willekens B. Architecture of human corneal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:985-994.
47. Muller LJ, Pels L, Vrensen GF. Ultrastructural organization of human corneal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:476-488.
48. Belmonte C, Acosta MC, Merayo-Llodes J, Gallar J. What Causes Eye Pain? *Current ophthalmology reports* 2015;3:111-121.
49. Caldwell M, Reilly C. Effects of topical nepafenac on corneal epithelial healing time and postoperative pain after PRK: a bilateral, prospective, randomized, masked trial. *J Refract Surg* 2008;24:377-382.
50. Cherry PM, Tutton MK, Adhikary H, et al. The treatment of pain following photorefractive keratectomy. *J Refract Corneal Surg* 1994;10:S222-225.
51. O'Doherty M, Kirwan C, O'Keefe M, O'Doherty J. Postoperative pain following epi-LASIK, LASEK, and PRK for myopia. *J Refract Surg* 2007;23:133-138.
52. Griffith M, Jackson WB, Lafontaine MD, Mintsoulis G, Agapitos P, Hodge W. Evaluation of current techniques of corneal epithelial removal in hyperopic photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 1998;24:1070-1078.
53. Pallikaris IG, Kalyvianaki MI, Katsanevaki VJ, Ginis HS. Epi-LASIK: preliminary clinical results of an alternative surface ablation procedure. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:879-885.
54. Wang QM, Fu AC, Yu Y, et al. Clinical investigation of off-flap epi-LASIK for moderate to high myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:2390-2394.
55. Zhang Y, Chen YG, Xia YJ, Qi H. Comparison of Tear cytokines and clinical outcomes between off-flap and on-flap epi-LASIK with mitomycin C. *J Refract Surg* 2012;28:632-638.
56. Lee JB, Seong GJ, Lee JH, Seo KY, Lee YG, Kim EK. Comparison of laser epithelial keratomileusis and photorefractive keratectomy for low to moderate myopia. *J Cataract Refract Surg* 2001;27:565-570.
57. Litwak S, Zadok D, Garcia-de Quevedo V, Robledo N, Chayet AS. Laser-assisted subepithelial keratectomy versus photorefractive keratectomy for the correction of myopia. A prospective comparative study. *J Cataract Refract Surg* 2002;28:1330-1333.
58. Torres LF, Sancho C, Tan B, Padilla K, Schanzlin DJ, Chayet AS. Early postoperative pain following Epi-LASIK and photorefractive keratectomy: a prospective, comparative, bilateral study. *J Refract Surg* 2007;23:126-132.

59. Lee HK, Lee KS, Kim JK, Kim HC, Seo KR, Kim EK. Epithelial healing and clinical outcomes in excimer laser photorefractive surgery following three epithelial removal techniques: mechanical, alcohol, and excimer laser. *Am J Ophthalmol* 2005;139:56-63.
60. Niizuma T, Ito S, Hayashi M, Futemma M, Utsumi T, Ohashi K. Cooling the cornea to prevent side effects of photorefractive keratectomy. *J Refract Corneal Surg* 1994;10:S262-266.
61. Larson B, Lansal J. Ice-cold BSS pre-treatment limits pain of surface ablation procedures. *Eurotimes*. Dublin: European Society of Cataract and Refractive Surgeons (ESCRS); 2012:1.
62. Holden BA, Mertz GW. Critical oxygen levels to avoid corneal edema for daily and extended wear contact lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1984;25:1161-1167.
63. Engle AT, Laurent JM, Schallhorn SC, et al. Masked comparison of silicone hydrogel lotrafilcon A and etafilcon A extended-wear bandage contact lenses after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:681-686.
64. Edwards JD, Bower KS, Sediq DA, et al. Effects of lotrafilcon A and omafilcon A bandage contact lenses on visual outcomes after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 2008;34:1288-1294.
65. Peng CC, Burke MT, Chauhan A. Transport of topical anesthetics in vitamin E loaded silicone hydrogel contact lenses. *Langmuir* 2012;28:1478-1487.
66. Lim-Bon-Siong R, Valluri S, Gordon ME, Pepose JS. Efficacy and safety of the ProTek (Vifilcon A) therapeutic soft contact lens after photorefractive keratectomy. *Am J Ophthalmol* 1998;125:169-176.
67. Verma S, Corbett MC, Marshall J. A prospective, randomized, double-masked trial to evaluate the role of topical anesthetics in controlling pain after photorefractive keratectomy. *Ophthalmology* 1995;102:1918-1924.
68. Brilakis HS, Deutsch TA. Topical tetracaine with bandage soft contact lens pain control after photorefractive keratectomy. *J Refract Surg* 2000;16:444-447.
69. Verma S, Corbett MC, Patmore A, Heacock G, Marshall J. A comparative study of the duration and efficacy of tetracaine 1% and bupivacaine 0.75% in controlling pain following photorefractive keratectomy (PRK). *Eur J Ophthalmol* 1997;7:327-333.
70. Shahinian L, Jr., Jain S, Jager RD, Lin DT, Sanislo SS, Miller JF. Dilute topical proparacaine for pain relief after photorefractive keratectomy. *Ophthalmology* 1997;104:1327-1332.
71. Kim JY, Choi YS, Lee JH. Keratitis from corneal anesthetic abuse after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 1997;23:447-449.
72. Lee JK, Stark WJ. Anesthetic keratopathy after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 2008;34:1803-1805.
73. Moreira LB, Kasetsuwan N, Sanchez D, Shah SS, LaBree L, McDonnell PJ. Toxicity of topical anesthetic agents to human keratocytes in vivo. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:975-980.
74. Beuerman RW, McDonald MB, Zhang D, Varnell RJ, Thompson HW. Diclofenac sodium attenuates neural activity after photorefractive keratectomy in rabbits. *J Refract Surg* 1996;12:783-791.
75. Eiferman RA, Hoffman RS, Sher NA. Topical diclofenac reduces pain following photorefractive keratectomy. *Arch Ophthalmol* 1993;111:1022.
76. Sher NA, Frantz JM, Talley A, et al. Topical diclofenac in the treatment of ocular pain after excimer photorefractive keratectomy. *Refract Corneal Surg* 1993;9:425-436.
77. Tutton MK, Cherry PM, Raj PS, Fsadni MG. Efficacy and safety of topical diclofenac in reducing ocular pain after excimer photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 1996;22:536-541.
78. Mohammadpour R, Irajizad A, Hagfeldt A, Boschloo G. Investigation on the dynamics of electron transport and recombination in TiO₂ nanotube/nanoparticle composite electrodes for dye-sensitized solar cells. *Phys Chem Chem Phys* 2011;13:21487-21491.

79. Solomon KD, Donnenfeld ED, Raizman M, et al. Safety and efficacy of ketorolac tromethamine 0.4% ophthalmic solution in post-photorefractive keratectomy patients. *J Cataract Refract Surg* 2004;30:1653-1660.
80. Goyal R, Shankar J, Fone DL, Hughes DS. Randomised controlled trial of ketorolac in the management of corneal abrasions. *Acta Ophthalmol Scand* 2001;79:177-179.
81. Brint SF, Cheetham JK, DeGryse R, Abel ML, Thompson VM, Rosenthal A. Efficacy and safety of nonpreserved ketorolac ophthalmic solution in postoperative ocular pain following radial keratotomy. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:41-49.
82. Razmju H, Khalilian A, Peyman A, et al. Preoperative Topical Diclofenac and Ketorolac in Prevention of Pain and Discomfort Following Photorefractive Keratectomy: A Randomized Double-masked Placebo-controlled Clinical Trial. *Int J Prev Med* 2012;3:S199-206.
83. Gaynes BI, Onyekwuluje A. Topical ophthalmic NSAIDs: a discussion with focus on nepafenac ophthalmic suspension. *Clin Ophthalmol* 2008;2:355-368.
84. Kim SJ, Flach AJ, Jampol LM. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in ophthalmology. *Surv Ophthalmol* 2010;55:108-133.
85. Colin J, Paquette B. Comparison of the analgesic efficacy and safety of nepafenac ophthalmic suspension compared with diclofenac ophthalmic solution for ocular pain and photophobia after excimer laser surgery: a phase II, randomized, double-masked trial. *Clin Ther* 2006;28:527-536.
86. Donnenfeld ED, Holland EJ, Durrie DS, Raizman MB. Double-masked study of the effects of nepafenac 0.1% and ketorolac 0.4% on corneal epithelial wound healing and pain after photorefractive keratectomy. *Adv Ther* 2007;24:852-862.
87. Sher NA, Golben MR, Bond W, Trattler WB, Tauber S, Voirin TG. Topical bromfenac 0.09% vs. ketorolac 0.4% for the control of pain, photophobia, and discomfort following PRK. *J Refract Surg* 2009;25:214-220.
88. Durrie DS, Kennard MG, Boghossian AJ. Effects of nonsteroidal ophthalmic drops on epithelial healing and pain in patients undergoing bilateral photorefractive keratectomy (PRK). *Adv Ther* 2007;24:1278-1285.
89. Gwon A, Vaughan ER, Cheetham JK, DeGryse R. Ocufer (flurbiprofen) in the treatment of ocular pain after radial keratotomy. *The CLAO journal : official publication of the Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc* 1994;20:131-138.
90. Assouline M, Renard G, Arne JL, et al. A prospective randomized trial of topical soluble 0.1% indomethacin versus 0.1% diclofenac versus placebo for the control of pain following excimer laser photorefractive keratectomy. *Ophthalmic Surg Lasers* 1998;29:365-374.
91. Goes F, Richard C, Trinquand C. Comparative study of two non-steroidal anti-inflammatory eyedrops, 0.1% indomethacin versus 0.1% diclofenac in pain control post photorefractive keratectomy. *Bulletin de la Societe belge d'ophtalmologie* 1997;267:11-19.
92. Sher NA, Krueger RR, Teal P, Jans RG, Edmison D. Role of topical corticosteroids and nonsteroidal antiinflammatory drugs in the etiology of stromal infiltrates after excimer photorefractive keratectomy. *J Refract Corneal Surg* 1994;10:587-588.
93. Trattler W, McDonald M. Double-masked comparison of ketorolac tromethamine 0.4% versus nepafenac sodium 0.1% for postoperative healing rates and pain control in eyes undergoing surface ablation. *Cornea* 2007;26:665-669.
94. Zollner C, Mousa S, Klinger A, Forster M, Schafer M. Topical fentanyl in a randomized, double-blind study in patients with corneal damage. *Clin J Pain* 2008;24:690-696.
95. Stein C. The control of pain in peripheral tissue by opioids. *The New England journal of medicine* 1995;332:1685-1690.
96. Peyman GA, Rahimy MH, Fernandes ML. Effects of morphine on corneal sensitivity and epithelial wound healing: implications for topical ophthalmic analgesia. *Br J Ophthalmol* 1994;78:138-141.

97. Faktorovich EG, Basbaum AI. Effect of topical 0.5% morphine on postoperative pain after photorefractive keratectomy. *J Refract Surg* 2010;26:934-941.
98. Moore RA, Wiffen PJ, Derry S, McQuay HJ. Gabapentin for chronic neuropathic pain and fibromyalgia in adults. *The Cochrane database of systematic reviews* 2011;CD007938.
99. Kuhnle MD, Ryan DS, Coe CD, et al. Oral gabapentin for photorefractive keratectomy pain. *J Cataract Refract Surg* 2011;37:364-369.
100. Lichtinger A, Purcell TL, Schanzlin DJ, Chayet AS. Gabapentin for postoperative pain after photorefractive keratectomy: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Refract Surg* 2011;27:613-617.
101. Pakravan M, Roshani M, Yazdani S, Faramazi A, Yaseri M. Pregabalin and gabapentin for post-photorefractive keratectomy pain: a randomized controlled trial. *Eur J Ophthalmol* 2012;22 Suppl 7:S106-113.
102. Derry CJ, Derry S, Moore RA. Sumatriptan (oral route of administration) for acute migraine attacks in adults. *The Cochrane database of systematic reviews* 2012;CD008615.
103. May A, Gamulescu MA, Bogdahn U, Lohmann CP. Intractable eye pain: indication for triptans. *Cephalalgia* 2002;22:195-196.
104. Gamulescu MA, May A, Lohmann CP, Gabel VP. Sumatriptan: a potent drug for management of corneal lesion pain. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:1255-1256.
105. Sachs CJ. Oral analgesics for acute nonspecific pain. *Am Fam Physician* 2005;71:913-918.
106. Martin WR, Eades CG, Thompson JA, Huppler RE, Gilbert PE. The effects of morphine- and nalorphine- like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 1976;197:517-532.
107. Cebrecos J, Galvez R, Albesa N, et al. E-52862. A first-in-class sigma-1 receptor antagonist, in oxaliplatin-induced peripheral neuropathy. An exploratory Phase II clinical trial. *16th World Congress on Pain*. Yokohama; 2016.
108. Vaqué A, Bruna J, Videla S, et al. E-52862. A first-in-class sigma -1 receptor antagonist, in chronic post-surgical neuropathic pain. An exploratory Phase II clinical trial. *16th World Congress on Pain*. Yokohama; 2016.
109. Bhuiyan MS, Tagashira H, Shioda N, Fukunaga K. Targeting sigma-1 receptor with fluvoxamine ameliorates pressure-overload-induced hypertrophy and dysfunctions. *Expert opinion on therapeutic targets* 2010;14:1009-1022.
110. Wang W, Cui J, Lu X, et al. Synthesis and in vitro biological evaluation of carbonyl group-containing analogues for sigma1 receptors. *J Med Chem* 2011;54:5362-5372.
111. da Silva Campos MJ, Souza Alves CC, Barbosa Raposo NR, Ferreira AP, Farinazzo Vitral RW. Influence of salivary secretory immunoglobulin A level on the pain experienced by orthodontic patients. *Med Sci Monit* 2010;16:CR405-409.
112. Bland JM, Altman DG. Measurement error proportional to the mean. *BMJ* 1996;313:106.
113. Tanaka Y, Ishitobi Y, Maruyama Y, et al. Salivary alpha-amylase and cortisol responsiveness following electrical stimulation stress in panic disorder patients. *Neurosci Res* 2012;73:80-84.
114. Ghiciuc CM, Cozma-Dima CL, Pasquali V, et al. Awakening responses and diurnal fluctuations of salivary cortisol, DHEA-S and alpha-amylase in healthy male subjects. *Neuro Endocrinol Lett* 2011;32:475-480.
115. Breivik H, Borchgrevink PC, Allen SM, et al. Assessment of pain. *Br J Anaesth* 2008;101:17-24.
116. McMonnies CW. Measurement of Symptoms Pre- and Post-treatment of Dry Eye Syndromes. *Optom Vis Sci* 2016.
117. Herrero MJ, Blanch J, Peri JM, De Pablo J, Pintor L, Bulbena A. A validation study of the hospital anxiety and depression scale (HADS) in a Spanish population. *General hospital psychiatry* 2003;25:277-283.

118. Mangione CM, Lee PP, Gutierrez PR, et al. Development of the 25-item National Eye Institute Visual Function Questionnaire. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1050-1058.
119. Golatowski C, Salazar MG, Dhople VM, et al. Comparative evaluation of saliva collection methods for proteome analysis. *Clin Chim Acta* 2013;419:42-46.
120. Hirshoren N, Tzoran I, Makrienko I, et al. Menstrual cycle effects on the neurohumoral and autonomic nervous systems regulating the cardiovascular system. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1569-1575.
121. Hsieh SF, Shen LL, Su SY. Tongue color changes within a menstrual cycle in eumenorrheic women. *Journal of traditional and complementary medicine* 2016;6:269-274.
122. R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing.*; 2014.
123. Schielzeth H, Nakagawa S. rptR: Repeatability for Gaussian and non-Gaussian data. R package. 2011.
124. Bland M. Clinical measurement. In: Bland M (ed), *An introduction to medical statistics*. Oxford, UK: Oxford University Press; 2000:269-294.
125. Euser AM, Dekker FW, le Cessie S. A practical approach to Bland-Altman plots and variation coefficients for log transformed variables. *J Clin Epidemiol* 2008;61:978-982.
126. de Vet HC, Terwee CB, Knol DL, Bouter LM. When to use agreement versus reliability measures. *J Clin Epidemiol* 2006;59:1033-1039.
127. Bland JM, Altman DG. Measurement error. *BMJ* 1996;313:744.
128. Portney LG, Watkins MP. *Foundations of clinical research: applications to practice*. Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall; 2000.
129. Sipos E, Stifter E, Menapace R. Patient satisfaction and postoperative pain with different postoperative therapy regimens after standardized cataract surgery: a randomized intraindividual comparison. *Int Ophthalmol* 2011;31:453-460.
130. Adatia FA, Munro M, Jivraj I, Ajani A, Braga-Mele R. Documenting the subjective patient experience of first versus second cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 2015;41:116-121.
131. Faktorovich EG, Melwani K. Efficacy and safety of pain relief medications after photorefractive keratectomy: review of prospective randomized trials. *J Cataract Refract Surg* 2014;40:1716-1730.
132. Carones F. Pain management strategies for surface ablation and epi-LASIK. *Cataract and Refractive Surgery Today* 2007;53-54.
133. Hong JP, Nam SM, Im CY, et al. Comparison of analgesic effect of preoperative topical diclofenac and ketorolac on postoperative pain after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 2014;40:1689-1696.
134. Atrata R, Rehurek J. Laser-assisted subepithelial keratectomy and photorefractive keratectomy for the correction of hyperopia. Results of a 2-year follow-up. *J Cataract Refract Surg* 2003;29:2105-2114.
135. Gallar J, Acosta MC, Gutierrez AR, Belmonte C. Impulse activity in corneal sensory nerve fibers after photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:4033-4037.
136. Caldwell MD, Awad T, Johnson JA, et al. CYP4F2 genetic variant alters required warfarin dose. *Blood* 2008;111:4106-4112.
137. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS* 2010;5:463-466.
138. Malamud D. Saliva as a diagnostic fluid. *Dent Clin North Am* 2011;55:159-178.
139. Choi JC, Chung MI, Lee YD. Modulation of pain sensation by stress-related testosterone and cortisol. *Anaesthesia* 2012;67:1146-1151.
140. Bosch JA, Veerman EC, de Geus EJ, Proctor GB. alpha-Amylase as a reliable and convenient measure of sympathetic activity: don't start salivating just yet! *Psychoneuroendocrinology* 2011;36:449-453.

141. Maruyama Y, Kawano A, Okamoto S, et al. Differences in salivary alpha-amylase and cortisol responsiveness following exposure to electrical stimulation versus the Trier Social Stress Tests. *PLoS One* 2012;7:e39375.
142. Goodin BR, Quinn NB, King CD, et al. Salivary cortisol and soluble tumor necrosis factor-alpha receptor II responses to multiple experimental modalities of acute pain. *Psychophysiology* 2012;49:118-127.
143. Paris JJ, Franco C, Sodano R, et al. Sex differences in salivary cortisol in response to acute stressors among healthy participants, in recreational or pathological gamblers, and in those with posttraumatic stress disorder. *Horm Behav* 2010;57:35-45.
144. Domzal T, Szczudlik A, Kwasucki J, Zaleska B, Lypka A. Plasma cortisol concentrations in patients with different circadian pain rhythm. *Pain* 1983;17:67-70.
145. Belmonte C. Eye dryness sensations after refractive surgery: impaired tear secretion or "phantom" cornea? *J Refract Surg* 2007;23:598-602.
146. Chan KY, Jarvelainen M, Chang JH, Edenfield MJ. A cryodamage model for studying corneal nerve regeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:2008-2021.
147. Dennis M, Mead G, Doubal F, Graham C. Determining the modified Rankin score after stroke by postal and telephone questionnaires. *Stroke* 2012;43:851-853.
148. Valle SO, Kuschnir FC, Sole D, Silva MA, Silva RI, Da Cunha AJ. Validity and reproducibility of the asthma core International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) written questionnaire obtained by telephone survey. *J Asthma* 2012;49:390-394.
149. Elzahaf RA, Tashani OA, Johnson MI. Prevalence of Chronic Pain Among Libyan Adults in Derna City: A Pilot Study to Assess the Reliability, Linguistic Validity, and Feasibility of Using an Arabic Version of the Structured Telephone Interviews Questionnaire on Chronic Pain. *Pain Pract* 2012.
150. Lesin M, Domazet Bugarin J, Puljak L. Factors associated with postoperative pain and analgesic consumption in ophthalmic surgery: a systematic review. *Surv Ophthalmol* 2015;60:196-203.
151. Beltzer EK, Fortunato CK, Guaderrama MM, Peckins MK, Garramone BM, Granger DA. Salivary flow and alpha-amylase: collection technique, duration, and oral fluid type. *Physiol Behav* 2010;101:289-296.
152. Teson M, Gonzalez-Garcia MJ, Lopez-Miguel A, et al. Influence of a controlled environment simulating an in-flight airplane cabin on dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:2093-2099.
153. Perroni F, Tessitore A, Cibelli G, et al. Effects of simulated firefighting on the responses of salivary cortisol, alpha-amylase and psychological variables. *Ergonomics* 2009;52:484-491.

TRABAJOS

- **TRABAJO I**

Sobas EM, Videla S, Maldonado MJ, Pastor JC. Ocular pain and discomfort after advanced surface ablation: an ignored complaint. *Clinical Ophthalmology*. 2015. Sep 4;9:1625-32.

- **TRABAJO II**

- Sobas EM, Videla S, Vázquez A, Fernández I, Maldonado MJ, Pastor JC. Pain Perception Description After Advanced Surface Ablation. *Clinical Ophthalmology*. 2017.

- **TRABAJO III**

Sobas EM, Reinoso R, Cuadrado-Asensio R, Fernández I, Maldonado MJ, Pastor JC. Reliability of Potential Pain Biomarkers in the Saliva of Healthy Subjects: Inter-Individual Differences and Intersession Variability. *PLoS One*. 2016 Dec 1;11(12):e0166976.

TRABAJO I

Ocular pain and discomfort after advanced surface ablation:
an ignored complaint

Ocular pain and discomfort after advanced surface ablation: an ignored complaint

Eva M Sobas¹
Sebastián Videla^{2,3}
Miguel J Maldonado¹
Jose C Pastor^{1,4}

¹Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain; ²Laboratorios Dr Esteve S.A., Barcelona, Spain; ³Department of Experimental and Health Sciences, Faculty of Health and Life Sciences, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain; ⁴Department of Ophthalmology, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, Spain

Purpose: Laser vision correction is one of the most commonly performed elective surgical procedures in ophthalmology. Generally, discomfort besides pain (photophobia, burning sensation, tearing, and foreign body sensation) after these procedures is not taken into consideration in the clinical practice. The objective is to provide data on these symptoms and their relevance after advanced surface ablation (ASA).

Methods: Single-center survey study based on a structured questionnaire relative to the patients' perceived symptoms after ASA. Inclusion criteria were: ≥ 18 years old, no ocular disease, with myopia (0.75 to 9 D) or hyperopia (0.25 to 5 D) with or without astigmatism, receiving ASA on at least one eye. All procedures were performed by the same surgeon. A descriptive analysis was performed.

Results: Seventy-three consecutive patients (34 men and 39 women) were included in the study. The median (range) of age was 33 (19–64) years. Sixty-nine patients had surgery done on both eyes. Postoperative pain was the most frequent comorbidity (97% [95% confidence interval {CI}: 90–100]) with a median (range) of intensity (verbal numerical rating scale) score of 7 (2–10). Photophobia: 85% (95% CI: 75–92); burning sensation: 62% (95% CI: 50–73); tearing: 59% (95% CI: 47–70); and foreign body sensation: 48% (95% CI: 36–60) were also prevalent postoperative symptoms. Pain during ASA was reported for 44% (95% CI: 32–56) of patients.

Conclusion: Comorbidities such as pain, photophobia, burning sensation, tearing, and foreign body sensation are prevalent after ASA procedure. Postoperative pain should be taken into consideration due to its prevalence and intensity. A new and more efficient postoperative analgesic protocol should be established.

Keywords: pain, photophobia, refractive surgery, survey

Introduction

Advanced surface ablation (ASA) and photorefractive keratectomy (PRK) and its variations are currently common procedures to correct some refractive errors safely and effectively.¹ Postoperative pain management is one of the drawbacks of these procedures, which remains an unresolved issue.^{2,3}

Current studies, focused on finding corneal pain pathways and alternatives to control it, confirm the relevance of this topic.⁴ ASA and the subsequent corneal epithelial defect leave numerous highly sensitive nerve terminals exposed. The stimulation of these terminals results in intense pain and neurogenic inflammation.⁵ With the aim of controlling these effects, researchers have tried some approaches, which are not fully satisfactory. In this vein, although PRK causes less postoperative pain than ASA, severe pain is present in practically all patients after PRK procedure,⁶ which may limit its acceptance. Despite new intrastromal techniques with femtosecond laser which seemed to have reduced this problem, this technique has not been popularized

Correspondence: Eva M Sobas
Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), Campus Miguel Delibes, Paseo de Belen 17, 47011, Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain
Tel +34 983 423 559
Fax +34 983 423 723
Email eva@ioba.med.uva.es

yet, probably due to the worldwide recession environment.^{2,3} The mechanism of pain after refractive surgery is multifactorial and its understanding seems crucial for an appropriate management.⁷ Recent papers about pain management in postoperative refractive surgery show that it remains an unsolved issue.^{8,9}

The potential target for pain relief has numerous approaches; for example, a bandage contact lens (BCL) is effective in improving postoperative comfort by preventing lid movements over the abraded cornea and reducing stimulation of the nerve fibers sensitive to mechanical stimulation.¹⁰ However, wearing a BCL is not enough to eliminate pain in most patients.¹¹ Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) help reduce pain following PRK but could interfere with the healing process.¹² Furthermore, the direct application of cold balanced saline solution (BSS) on the cornea is believed to alleviate the pain caused by exposed nerve endings.¹²

In previously published studies on the evaluation of pain after refractive surgery, some limitations have been observed. One of them is the time of follow-up. In order to make a good assessment of postoperative pain in refractive surgery, a minimum of 72-hour evaluation time is necessary.^{11,12} Studies evaluating pain over a 24-hour postoperative period are considered insufficient.⁹

Although pain is one of the most important limitations of postoperative refractive surgery, there are other symptoms, generically named discomfort, that have been observed in the majority of patients. These symptoms are another important limitation of refractive surgery,¹³ and have received little attention. Therefore, the purpose of this study is to provide data on the patient-referred ocular sensations in terms of postoperative pain, during and after ASA, evaluated over 1 week, using a numerical rating scale (NRS) and paying attention to other relevant symptoms such as photophobia, burning, tearing, and foreign body sensation. These data will help refractive surgeons to improve their clinical practices.

Patients and methods

Study design

Single-center survey study based on the structured questionnaire relative to the patients' perceived symptoms after ASA. The ethical committee of the University of Valladolid reviewed and approved the study protocol. The study complies with the updated Declaration of Helsinki and the Spanish biomedical research regulatory requirements. All subjects provided their verbal informed consent before their participation in the study.

Study population

Patients included in this study had to fulfil the following eligibility criteria: ≥ 18 years old, with no ocular disease other than ametropia, with myopia (0.75 to 9 D) or hyperopia (0.25 to 5 D) with or without astigmatism, receiving ASA on at least one eye. All patients were operated on by the same surgeon (MJM). Patients, who fulfilled the inclusion criteria, were identified, and contacted via phone by the same interviewer (EMS). The study was explained to each patient, and before starting the interview, verbal consent was requested.

ASA procedure

ASA included topical application of one drop of 5% lidocaine twice at a 10-minute interval, 20 minutes before entering the operating theater. All patients received 0.5 mg alprazolam (Trankimazin[®], Pfizer, Inc., New York, NY, USA), 30 minutes before surgery. Ethyl alcohol solution (17%) was placed on the cornea within an 8.5 mm solution cone and left in place for 30 seconds. Then, a Merocel sponge (Medtronic Xomed Ophthalmics, Inc. Jacksonville, FL, USA) was placed to absorb the excess ethanol. After that, the corneal surface was rinsed with a topical cold BSS. The epithelium was removed with a blunt spatula. This manoeuvre was followed by stromal ablation using excimer laser MEL 70 G (Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Germany). This excimer laser incorporates a tracking eye system. The diameter of the treated area was always 6 mm. Then a drop of 0.3% ofloxacin (Exocin[®], Allergan, Inc., Irvine, CA, USA) and a drop of 0.18% sodium hyaluronate (Vismed[®], Thea Laboratories, SA, Barcelona, Spain) were applied. A therapeutic contact lens (Acuvue Oasis[®], Johnson & Johnson, New Brunswick, NJ, USA) kept at 4°C was placed onto the cornea at the end of the procedure. Immediately after surgery, patients received a cold patch for 15 minutes. Patients were given alprazolam 0.5 mg for the first 2 postoperative nights and all other eye-drops (ofloxacin QID, dexamethasone TID, and artificial tears QID) that had to be kept at 4°C (fridge temperature). Initially, painkillers were not prescribed unless pain was deemed unbearable. In this case, the patient was given a protocol to use a rescue medication.

Questionnaire: pain intensity and other symptoms after ASA procedure

An ad hoc questionnaire was created to record the patients' perceived symptoms after ASA (Figure 1). The questionnaire consists of five parts or domains: 1) cognitive orientation,

| Cognitive orientation |
|---|
| 1 Do you remember the date of refractive surgery? _____ - _____ - _____ (day-month-year) |
| 2 How many eyes were operated on? <input type="checkbox"/> One <input type="checkbox"/> Two |
| 3 In case both eyes were operated on, do you remember if both eyes were operated on at once? <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No |
| Pain perception |
| 4 Do you remember if you had pain during refractive surgery? <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No |
| 5 If yes for pain during refractive surgery, which eye hurt more during the surgery, the first or the second eye operated on? <input type="checkbox"/> First <input type="checkbox"/> Second <input type="checkbox"/> Both equal |
| 6 Do you remember if you had pain in the eye/eyes operated on after refractive surgery? <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No |
| In case of yes for pain after refractive surgery, carry on with questions 7 to 10 |
| 7 Please indicate the worst pain you had after refractive surgery based on the following scale: 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 No pain the worst pain (unbearable) |
| 8 Please indicate the minimum pain you had after refractive surgery based on the following scale: 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 No pain the worst pain |
| 9 Do you remember how long the pain lasted after refractive surgery? _____ <input type="checkbox"/> hours <input type="checkbox"/> days |
| 10 What did you do to lessen the pain? <input type="checkbox"/> Nothing <input type="checkbox"/> Take a painkiller, which? please specify <input type="checkbox"/> Other measures, please specify |
| Other symptoms perception after refractive surgery |
| 11 Do you remember if you had any of the following symptoms after refractive surgery? Foreign body <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes, score (from 0 to 10): _____ Watering <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes, score (from 0 to 10): _____ Photophobia <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes, score (from 0 to 10): _____ Burning <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes, score (from 0 to 10): _____ Do you remember if you had other symptoms? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes, please specify: _____, score (from 0 to 10): _____ |
| 12 Do you remember how long the symptoms lasted? Foreign body: _____ <input type="checkbox"/> hours <input type="checkbox"/> days Watering: _____ <input type="checkbox"/> hours <input type="checkbox"/> days Photophobia: _____ <input type="checkbox"/> hours <input type="checkbox"/> days Burning: _____ <input type="checkbox"/> hours <input type="checkbox"/> days Other symptoms: _____ <input type="checkbox"/> hours <input type="checkbox"/> days |
| Pain treatment prescribed (cold eye-drops and anxiolytics) |
| 13 How satisfied were you with the treatment prescribed for controlling your pain? <input type="checkbox"/> Very satisfied <input type="checkbox"/> Moderately satisfied <input type="checkbox"/> Slightly satisfied <input type="checkbox"/> Dissatisfied <input type="checkbox"/> Very dissatisfied |
| Miscellanea |
| 14 Do you have any suggestions as to how to improve the treatment of pain or discomfort? _____ _____ |

Figure 1 Ad hoc questionnaire used in the telephonic interview.

2) pain perception, 3) other symptoms (foreign body, tearing, photophobia, burning), 4) pain treatment prescribed, and 5) miscellanea. Furthermore, pain intensity was evaluated by means of an NRS, ie, 0- no pain and 10- the worst imaginable pain.¹⁴

Statistical analysis

This study was designed assuming that 95% (internal data) of the participants would present pain after ASA procedure. It was calculated that a representative sample for a survey study should include 73 subjects, based on the normal

approximation with a range of $\pm 2.5\%$ for a two-sided 95% confidence interval (CI).

Baseline characteristics were summarized with standard descriptive statistics and a descriptive analysis was carried out. The prevalence of symptoms after ASA procedure was estimated and its 95% CI was calculated. The Spearman's correlation coefficient was used to assess the relation between the subjective feeling of pain and age and amount of ablation, and between discomfort and age and amount of ablation. Data analysis was carried out using SPSS version 15.0 statistical software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and StatXact-8 (Cytel Inc., Cambridge, MA, USA).

Results

Patients' characteristics

A total of 73 consecutive patients (34 men and 39 women) were included. All contacted patients agreed to participate in the interview. The median (range) of age was 33 (19–64) years, and 69 (95%) patients received surgery on both eyes.

Pain after ASA procedure

Pain intensity and other symptoms are shown in Table 1: 51% of the patients reported pain during surgery; 8% of the patients reported more pain during the first eye surgery,

19% during the second eye surgery, and 73% of the patients presented the same pain in both eyes. Ninety-seven percent of the patients reported pain (score equal or higher than 2) during the postoperative period. Only two women did not feel pain in the postoperative period. The median (range) score of the worst pain intensity was 7 (0–10) (mean $[\pm SD]$: 6.3 $[\pm 2.5]$), and 49 patients (67%) had severe pain (6 or higher). It is noteworthy that 38 patients (52%) reported a pain intensity higher than 7. The median (range) duration of the pain was 3 days (range: 1–7). Twenty-nine (40%) patients required analgesic treatment in the postoperative period, out of which eleven patients (15%; 95% CI: 8–25) chose analgesic rescue medication and 18 patients (25%) used another painkiller (metamizol or ibuprofen), which was not included in the protocol.

Regarding the patients' impression about the prescribed treatment for pain, 67 patients (92%; 95% CI: 83–97) scored it as "satisfactory" or "very satisfactory". The remaining six patients marked "slightly satisfactory".

Other symptoms after ASA procedure

Regarding other postoperative symptoms such as photophobia, burning, tearing, and foreign body sensation, results are shown in Table 1. After pain, the most frequent (85%) and most intense symptom was photophobia with a mean ($\pm SD$)

Table 1 Pain intensities (during ASA procedure and postoperative period), photophobia, burning, tearing, and foreign body sensation results

| Pain and other symptoms | Overall population (n=73) | Men (n=34) | Women (n=39) |
|---|---------------------------|-------------------|-----------------|
| Pain during ASA procedure | | | |
| Yes [#] , number of patients (% [95% CI]) | 32 (44 [32–56]) | 18 (53 [35–70]) | 14 (36 [21–53]) |
| Postoperative pain | | | |
| Yes [#] , number of patients (% [95% CI]) | 71 (97 [90–100]) | 34 (100 [89–100]) | 37 (95 [83–99]) |
| VRS, median (range)* | 7 (2–10) | 6 (2–10) | 7 (2–10) |
| Worst postoperative pain | | | |
| Pain intensity: 2–6, number of patients (% [95% CI]) | 33 (45 [34–57]) | 18 (53 [35–70]) | 15 (38 [23–55]) |
| Pain intensity: 7–10, number of patients (% [95% CI]) | 38 (52 [40–64]) | 16 (47 [30–65]) | 22 (56 [40–72]) |
| Photophobia | | | |
| Yes, number of patients (% [95% CI]) | 62 (85 [75–92]) | 30 (88 [73–97]) | 32 (82 [66–92]) |
| VRS, median (range)* | 9 (2–10) | 8 (2–10) | 9 (2–10) |
| Burning sensation | | | |
| Yes, number of patients (% [95% CI]) | 45 (62 [50–73]) | 21 (62 [44–78]) | 24 (62 [45–77]) |
| VRS, median (range)* | 7 (1–10) | 7 (2–10) | 7 (1–10) |
| Tearing | | | |
| Yes, number of patients (% [95% CI]) | 43 (59 [47–70]) | 20 (59 [41–75]) | 23 (59 [42–74]) |
| VRS, median (range)* | 8 (2–10) | 8 (4–10) | 8 (2–10) |
| Foreign body sensation | | | |
| Yes, number of patients (% [95% CI]) | 35 (48 [36–60]) | 19 (56 [38–73]) | 16 (41 [26–58]) |
| VRS, median (range)* | 6 (2–10) | 5 (2–10) | 7 (2–10) |

Notes: VRS: verbal rating scale (0: no pain; 10: worst imaginable pain). [#]Pain intensity score of 2 or greater. *The median (range: minimum–maximum) is based only on patients with the symptom.

Abbreviations: ASA, advanced surface ablation; CI, confidence interval.

intensity score of 8.0 (± 2.2). Burning sensation was also a very prevalent symptom (62%) with a mean (\pm SD) intensity score of 6.8 (± 2.5). It is relevant to mention that 36 patients (80%) had values higher than 5 for burning sensation.

The mean (\pm SD) intensity score for tearing was 7.2 (± 2.5). A high percentage of patients (63%) scored higher than 7 for tearing intensity. The less common symptom was foreign body sensation with a mean (\pm SD) intensity score of 6.1 (± 2.5); 67% of patients scored equal or higher than 5 for this symptom.

The survey included a question to identify other complaints, referred to by the patients: inability to open eyes (8 [11%] patients); itching or sharp ocular pain (5 [7%] patients); swollen eyelids (3 [4%] patients); dryness (4 [5%] patients); and migraines (3 [4%] patients).

No relationship was found between feeling of pain and age and amount of ablation, and between discomfort and age and amount of ablation.

Pain control (cold eye-drop and anxiolytics)

In this study, chilled BSS was used during surgery and it was recommended that the patient used cold eye-drops to increase analgesia. A protocol of painkillers was not included as a standard in the postoperative medication.^{15,16} Painkillers were used on demand as a rescue medication by the patients themselves. The proportion of patients reporting additional need for analgesia was 40% (29 patients), but only eleven of them used the recommended rescue medication. The rest of the patients (25%) used painkillers not included in the protocol.

Discussion

ASA and PRK result in a complex cascade of events that trigger sensory afferent fibers in the cornea, producing various degrees of pain.⁴ It is admitted that postoperative pain resulting from corneal epithelial debridement remains a significant limitation to the acceptance and usefulness of these procedures.^{5,17,18} In PRK, epithelial debridement is performed;¹⁹ thus techniques to preserve the epithelium are used in an attempt to decrease postoperative pain.²⁰ But the effect of removal of epithelial flap versus preservation of the flap on postoperative pain is unclear.⁴ In a study, Epi-LASIK versus off-flap Epi-LASIK were compared, and subjective pain scores were lower at 2 hours follow-up in the off-flap Epi-LASIK group, but not at 4, 6, 8, 10 or 24-hour intervals.²¹ In other study, postoperative pain was similar between Epi-LASIK and off-flap Epi-LASIK groups.²² Our results are in line with previous studies, in that severe pain was present in

practically all patients after ASA procedure,²³ and the time course of pain was as expected.²⁴ Pain begins within 1 hour. Its intensity increases until 4 hours after the surgical procedure, peaking at approximately 24 hours postoperation,²⁵ and subsides within 72 hours after surgery, when reepithelialization is complete.^{24,26} Therefore, the results of this study provide evidence that the peak of pain is at 24 hours and median duration of pain is 3 days. In consequence, a complete postoperative pain assessment after ASA should be performed for at least this number of hours.

Management of acute postoperative pain is a challenge for any surgery and acute ophthalmologic postoperative pain is not an exception. Likewise, intraoperative pain is also important. Moreover, data available on the perception of pain during ASA procedure and its frequency are scarce.²⁷ Our study evaluated intra-operative pain finding that half the patients notice pain during surgery. Another novelty in the outcome of this study is that 73% of these patients referred to the same pain in both eyes and only 19% reported more pain in the second eye. There are studies reporting the subjectivity of patients' pain after first eye cataract surgery versus second eye,²⁸ but we have not found any regarding ASA. Another important result is 25% of patients used painkillers outside the protocol, acting by themselves instead of using the recommended rescue medication. This lack of compliance was attributed by the patients to the potential side effects related to the prescribed medication.

It is noteworthy that patients who have undergone refractive surgery are generally young and healthy, so they may be considered as "healthy volunteers". Besides, they have been previously informed about the transience of the postoperative discomfort and pain. Therefore, it is fair to say that the benefit of the operation prevails over other negative features. That is to say, the emotional aspect tends to minimize the postoperative symptoms.⁸ Our study did not allow for predicting what type of patients might be at increased risk for pain intolerance. In fact, this could be another area of ocular pain research. To use a questionnaire or other kind of noninvasive test at the time of deciding whether to perform ASA, PRK or another refractive procedure could help the ophthalmologist in the control of postoperative pain. Consequently, this may help minimize the number of patients with severe postoperative pain and discomfort.

A crucial issue dealing with pain is how to measure it in clinical practice. In our study, a verbal NRS was used because the study was conducted via telephone interview. Different types of scales have been developed to evaluate pain, including visual analog scale (VAS) and various categorical scales

using faces, numbers, or verbal categorical descriptors,²⁹ although, none has been specifically developed and validated for ophthalmic pain.¹⁷ The majority of previous investigators have used general pain scales to measure pain after ophthalmic procedures.²³ The most recommended methods for the assessment of pain intensity are NRS, verbal rating scale (VRS), or VAS, because all of them provide sufficient power to describe pain intensity.³⁰ Most of the reviewed papers used versions of scales according to current recommendations, primarily NRS-11, VRS up to seven categories, and VAS-100 mm.³¹ NRS and VRS, which are validated scales, showed a high concordance between them and are equally sensitive in assessing acute pain after surgery.²⁷ In a review, these three scales for the assessment of postoperative pain intensity in adults were evaluated.³⁰ This study concluded with a novel idea. The most important choice is not the type of scale, but the conditions related to its use, such as a standardized choice of anchor descriptor, methods of administration, and time frame, among others.³⁰ They believed that all of these areas can be improved by an international consensus process following the medicine-based evidence rules, which should include improving and standardizing the use of NRS.³⁰ The validity of the VAS and NRS for pain could be extended by using other clinically relevant descriptors of pain such as the proportion of patients reporting need for analgesia.³² In our study where 97% of patients reported pain in the postoperative period, only 40% of patients mentioned that they required analgesics.

Another important limitation of refractive surgery is the existence of postoperative discomfort.²⁶ With this respect, a study stood out because the author distinguished between pain and discomfort, explaining that discomfort is a group of symptoms characterized by photophobia, burning, tearing, and foreign body sensation, and all of them were individually evaluated.¹³ Most of the studies only evaluate some of these symptoms, with photophobia being the most frequent.⁵ In a recent study,¹³ most patients reported discomfort with a score of 8 or 9 on a 10-point pain scale, while in our study, photophobia was the only symptom with a score of 8. After postoperative pain, photophobia was the prevalent symptom present in 85% of our patients. These results are in line with other reports.^{5,24,25}

On the other hand, factors such as age and amount of ablation were not associated with pain and discomfort after ASA. Similar findings have been reported.¹³ Although, it is worth mentioning that in our study, all age groups are not represented since the patients included are very young. Therefore, this study suggests that a new pain management

strategy is necessary at least during the 3 days postoperative ASA. Similarly, there are other symptoms related to ocular discomfort which should call our attention to lead us toward better postoperative care.

Postoperative pain and discomfort after refractive surgery still is not well controlled. Recent studies have reviewed pain management strategies after PRK.^{4,33-35} These strategies include the use of cold BSS during the procedure,³⁴ and the postoperative placement of extended-wear BCLs until reepithelialization occurs.³⁵ Topical NSAIDs are often used to manage pain and discomfort following refractive surgery.⁴ Common ocular adverse events of topical NSAIDs include transient burning, stinging, and conjunctival hyperemia, and the most serious adverse events are superficial punctate keratitis, corneal infiltrates, epithelial defects, and corneal melts.³³ Moreover, there is also concern that topical NSAIDs may lead to delayed epithelial healing. This was the main reason why these topical drugs were excluded from our ASA postoperative clinical protocol. Instead, oral medications approved for neuropathic pain, such as gabapentin and pregabalin, are adjunctive agents that help minimize the use of topical medication.³⁶ Despite the fact that oral NSAIDs are considered excellent analgesics in many acute pain settings, they have not been specifically studied for post-PRK pain.³⁷ Oral analgesics, such as opiates, may be used for moderate-to-severe pain after PRK because opioid receptors present in the cornea respond to them.⁴ With the advent of new methods of analgesia targeting specific corneal sensory afferent nociceptors, discomfort can be minimized with less impact on corneal healing.⁴ These concepts might be important to evaluate in future studies looking at optimization of pain management.

There are several limitations to this study, which should be considered before drawing any conclusions. The study design (survey study), the use of a telephone questionnaire instead of a personal interview, and the type of population analyzed (from a single geographical site and operated on by a single surgeon in the center of reference) might underestimate or overestimate the generalization of the results beyond the population and conditions studied. Likewise, since the patients were directly asked about pain, photophobia, burning, tearing, and foreign body sensation, this kind of questioning might overestimate the results. Nevertheless, this type of procedure (telephone questionnaire) in a survey study is considered reliable and valid and has been used for evaluating acute events^{38,39} and chronic pain.⁴⁰ On the other hand, one of the problems related to telephone surveys is their duration, which could influence the quality of the answer.

This study was done in a 10-minute time period. In spite of these limitations, our study provides new evidences on the comorbidities related to the PRK procedure.

Conclusion

In conclusion, our results suggest that several comorbidities such as pain, photophobia, burning, tearing, and foreign body sensation are prevalent after an ASA procedure. Among them, postoperative pain should be taken into consideration because of its prevalence and intensity. These results justify additional research to get a more efficient postoperative analgesic protocol after ophthalmologic surgical procedures.

Disclosure

The authors report no conflicts of interest in this work.

References

- Trattler WB, Barnes SD. Current trends in advanced surface ablation. *Curr Opin Ophthalmol*. 2008;19(4):330–334.
- Parker J, Tandon A, Shtein RM, et al. Management of pain with diclofenac after femtosecond-assisted laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(3):569–573.
- Kymionis GD, Kankariya VP, Plaka AD, Reinstein DZ. Femtosecond laser technology in corneal refractive surgery: a review. *J Refract Surg*. 2012;28(12):912–920.
- Woreta FA, Gupta A, Hochstetler B, Bower KS. Management of post-photorefractive keratectomy pain. *Surv Ophthalmol*. 2013;58(6):529–535.
- Sher NA, Golben MR, Bond W, Trattler WB, Tauber S, Voirin TG. Topical bromfenac 0.09% vs ketorolac 0.4% for the control of pain, photophobia, and discomfort following PRK. *J Refract Surg*. 2009;25(2):214–220.
- Trattler W, McDonald M. Double-masked comparison of ketorolac tromethamine 0.4% versus nepafenac sodium 0.1% for postoperative healing rates and pain control in eyes undergoing surface ablation. *Cornea*. 2007;26(6):665–669.
- Belmonte C. Eye dryness sensations after refractive surgery: impaired tear secretion or “phantom” cornea? *J Refract Surg*. 2007;23(6):598–602.
- Faktorovich EG, Melwani K. Efficacy and safety of pain relief medications after photorefractive keratectomy: review of prospective randomized trials. *J Cataract Refract Surg*. 2014;40(10):1716–1730.
- Moshirfar M, Mifflin MD, McCaughey MV, Gess AJ. Prospective, randomized, contralateral eye comparison of tetracaine and proparacaine for pain control in laser in situ keratomileusis and photorefractive keratectomy. *Clin Ophthalmol*. 2014;8:1213–1219.
- Cherry PM, Tutton MK, Adhikary H, et al. The treatment of pain following photorefractive keratectomy. *J Refract Corneal Surg*. 1994;10(2 Suppl):S222–S225.
- Cherry PM. The treatment of pain following excimer laser photorefractive keratectomy: additive effect of local anesthetic drops, topical diclofenac, and bandage soft contact. *Ophthalmic Surg Lasers*. 1996;27(5 Suppl):S477–S480.
- Eiferman RA, Hoffman RS, Sher NA. Topical diclofenac reduces pain following photorefractive keratectomy. *Arch Ophthalmol*. 1993;111(8):1022.
- Carones F. Pain management strategies for surface ablation and epi-LASIK. *Cataract and Refractive Surgery Today*. 2007; April:53–54.
- Breivik H, Borchgrevink PC, Allen SM, et al. Assessment of pain. *Br J Anaesth*. 2008;101(1):17–24.
- Yee RW, Yee SB. Update on laser subepithelial keratectomy (LASEK). *Curr Opin Ophthalmol*. 2004;15(4):333–341.
- Stojanovic A, Ringvold A, Nitter T. Ascorbate prophylaxis for corneal haze after photorefractive keratectomy. *J Refract Surg*. 2003;19(3):338–343.
- Lee HK, Lee KS, Kim JK, Kim HC, Seo KR, Kim EK. Epithelial healing and clinical outcomes in excimer laser photorefractive surgery following three epithelial removal techniques: mechanical, alcohol, and excimer laser. *Am J Ophthalmol*. 2005;139(1):56–63.
- Kanitkar KD, Camp J, Humble H, Shen DJ, Wang MX. Pain after epithelial removal by ethanol-assisted mechanical versus transepithelial excimer laser debridement. *J Refract Surg*. 2000;16(5):519–522.
- Griffith M, Jackson WB, Lafontaine MD, Mintsoulis G, Agapitos P, Hodge W. Evaluation of current techniques of corneal epithelial removal in hyperopic photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg*. 1998;24(8):1070–1078.
- Camellin M. Laser epithelial keratomileusis for myopia. *J Refract Surg*. 2003;19(6):666–670.
- Kalyvianaki MI, Kymionis GD, Kounis GA, Panagopoulou SI, Grentzelos MA, Pallikaris IG. Comparison of Epi-LASIK and off-flap Epi-LASIK for the treatment of low and moderate myopia. *Ophthalmology*. 2008;115(12):2174–2180.
- Wang QM, Fu AC, Yu Y, et al. Clinical investigation of off-flap epi-LASIK for moderate to high myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(6):2390–2394.
- Blake CR, Cervantes-Castaneda RA, Macias-Rodriguez Y, Anzoulatous G, Anderson R, Chayet AS. Comparison of postoperative pain in patients following photorefractive keratectomy versus advanced surface ablation. *J Cataract Refract Surg*. 2005;31(7):1314–1319.
- Sher NA, Frantz JM, Talley A, et al. Topical diclofenac in the treatment of ocular pain after excimer photorefractive keratectomy. *Refract Corneal Surg*. 1993;9(6):425–436.
- Caldwell M, Reilly C. Effects of topical nepafenac on corneal epithelial healing time and postoperative pain after PRK: a bilateral, prospective, randomized, masked trial. *J Refract Surg*. 2008;24(4):377–382.
- McCarty CA, Garrett SK, Aldred GF, Taylor HR. Assessment of subjective pain following photorefractive keratectomy. Melbourne Excimer Laser Group. *J Refract Surg*. 1996;12(3):365–369.
- Sipos E, Stifter E, Menapace R. Patient satisfaction and postoperative pain with different postoperative therapy regimens after standardized cataract surgery: a randomized intraindividual comparison. *Int Ophthalmol*. 2011;31(6):453–460.
- Adatia FA, Munro M, Jivraj I, Ajani A, Braga-Mele R. Documenting the subjective patient experience of first versus second cataract surgery. *J Cataract Refract Surg*. 2015;41(1):116–121.
- Chibnall JT, Tait RC. Pain assessment in cognitively impaired and unimpaired older adults: a comparison of four scales. *Pain*. 2001;92(1–2):173–186.
- Hjermstad MJ, Fayers PM, Haugen DF, et al. Studies comparing Numerical Rating Scales, Verbal Rating Scales, and Visual Analogue Scales for assessment of pain intensity in adults: a systematic literature review. *J Pain Symptom Manage*. 2011;41(6):1073–1093.
- Jensen MP. The validity and reliability of pain measures in adults with cancer. *J Pain*. 2003;4(1):2–21.
- Gallagher EJ, Bijur PE, Latimer C, Silver W. Reliability and validity of a visual analog scale for acute abdominal pain in the ED. *Am J Emerg Med*. 2002;20(4):287–290.
- Kim SJ, Flach AJ, Jampol LM. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in ophthalmology. *Surv Ophthalmol*. 2010;55(2):108–133.
- Niizuma T, Ito S, Hayashi M, Futemma M, Utsumi T, Ohashi K. Cooling the cornea to prevent side effects of photorefractive keratectomy. *J Refract Corneal Surg*. 1994;10(2 Suppl):S262–S266.
- Engle AT, Laurent JM, Schallhorn SC, et al. Masked comparison of silicone hydrogel lotrafilcon A and etafilcon A extended-wear bandage contact lenses after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg*. 2005;31(4):681–686.
- Pakravan M, Roshani M, Yazdani S, Faramazi A, Yaseri M. Pregabalin and gabapentin for post-photorefractive keratectomy pain: a randomized controlled trial. *Eur J Ophthalmol*. 2012;22 Suppl 7:S106–S113.
- Sachs CJ. Oral analgesics for acute nonspecific pain. *Am Fam Physician*. 2005;71(5):913–918.

38. Dennis M, Mead G, Doubal F, Graham C. Determining the modified Rankin score after stroke by postal and telephone questionnaires. *Stroke*. 2012;43(3):851–853.
39. Valle SO, Kuschnir FC, Sole D, Silva MA, Silva RI, Da Cunha AJ. Validity and reproducibility of the asthma core International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) written questionnaire obtained by telephone survey. *J Asthma*. 2012;49(4):390–394.
40. Elzahaf RA, Tashani OA, Johnson MI. Prevalence of chronic pain among Libyan adults in Derna city: a pilot study to assess the reliability, linguistic validity, and feasibility of using an arabic version of the structured telephone interviews questionnaire on chronic pain. *Pain Pract*. 2013; 13(5):380–389.

Clinical Ophthalmology

Dovepress

Publish your work in this journal

Clinical Ophthalmology is an international, peer-reviewed journal covering all subspecialties within ophthalmology. Key topics include: Optometry; Visual science; Pharmacology and drug therapy in eye diseases; Basic Sciences; Primary and Secondary eye care; Patient Safety and Quality of Care Improvements. This journal is indexed on

Submit your manuscript here: <http://www.dovepress.com/clinical-ophthalmology-journal>

PubMed Central and CAS, and is the official journal of The Society of Clinical Ophthalmology (SCO). The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

TRABAJO II

Pain Perception Description After Advanced Surface

Pain perception description after advanced surface ablation

Eva M Sobas^{1,2}
Sebastián Videla^{3,4}
Amanda Vázquez¹
Itziar Fernández^{1,5}
Miguel J Maldonado¹
José-Carlos Pastor^{1,6,7}

¹Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), Universidad de Valladolid, ²Facultad de Enfermería, Universidad de Valladolid, Valladolid, ³Laboratorios Dr Esteve S.A.U., ⁴Departamento de Ciencias Experimentales y de la Salud, Facultad de Ciencias de la Salud y de la Vida, Universidad Pompeu Fabra, Barcelona, ⁵Networking Research Center on Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), ⁶Departamento de Oftalmología, Hospital Clínico Universitario Valladolid, ⁷Departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain

Purpose: The objective of this study was to characterize the evolution of ocular pain after advanced surface ablation (ASA) to improve strategies in postoperative pain management.

Methods: This was a multicenter, prospective, descriptive, cohort study. The inclusion criteria were healthy individuals ≥ 18 years old receiving bilateral alcohol-assisted surface ablation with epithelial removal. Pain intensity was evaluated with the visual analog scale (VAS) and the numeric pain rating scale before and after surgery. Comorbidities (photophobia, burning, tearing, and foreign body sensation) and Hospital Anxiety and Depression (HAD) questionnaire were evaluated before and at 6 hours after surgery. Postoperative treatments included cold patch, topical cold antibiotics, topical steroids, and benzodiazepines.

Results: Thirty-two consecutive patients having similar profiles of postoperative pain evolution were included. At 0.5 hour after ASA, the pain score by VAS was 37 ± 20 mm, and the maximum pain, 61 ± 31 mm, occurred at 24 hours. Afterward, it decreased progressively until 72 hours after surgery (19 ± 20 mm). Most patients (81%) scored > 60 mm, and 44% required rescue medication. Among the comorbidities, all patients had photophobia and 84% had burning sensation. At 6 hours, the HAD score was 5.4 ± 3.9 , within the range of values considered as normal.

Conclusion: Postoperative acute ocular pain after ASA showed a characteristic evolution over time. Recognition of the pattern could be important for improving the acceptance of ASA and for improving strategies in pain management in the postoperative period.

Keywords: ocular pain, advanced surface ablation, model acute surgical pain

Introduction

Refractive surgery procedures such as advanced surface ablation (ASA), photorefractive keratectomy, and others are safe and effective to correct refractive errors, although they always produce some wounding of the cornea.¹ Nevertheless, these procedures are gaining popularity because they diminish the risk of ectasia and eliminate flap complications that can occur after laser in situ keratomileusis. Indeed, ASA has gained popularity at the expense of laser in situ keratomileusis.¹ One of the most important limitations of these procedures is the presence of postoperative pain and discomfort. Therefore, the management of these complications is a matter of great importance, and there are few specific reports on this subject.²

Improvement of postoperative pain management after ASA requires an understanding of the injury and of the inflammatory response of the corneal epithelial and stromal cells and the sensory nerves running through the wounded issues.³ The cornea is innervated by sensory fibers that have their origin in different functional types of trigeminal ganglion neurons. A majority (about 70%) of the sensory afferent fibers are polymodal nociceptors activated by mechanical forces, exogenous chemical

Correspondence: Eva M Sobas
Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), Campus Miguel Delibes, Paseo de Belén 17, 47011, Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain
Tel +34 98 342 3559
Fax +34 98 342 3723
Email eva@ioba.med.uva.es

irritants, endogenously released chemical mediators, and extreme temperatures.⁴ About 20% are pure mechanoreceptors, responding only to noxious mechanical force, and the remaining 10% are cold-sensitive receptors that respond primarily to temperature reductions on the corneal surface.⁵ After injury, nociceptor fibers are often the source of spontaneous pain sensation.⁶ In addition, inflammatory mediators released by the injured tissues activate intact and damaged nociceptor endings, further contributing to spontaneous pain and development of hyperalgesia and neurogenic inflammation. However, the effects of surgical injury on the distinctive response of the various functional classes of corneal sensory fibers are unknown.⁷

Postoperative pain after ASA is not well characterized, and there is little information regarding the duration, intensity, and peak of pain after ASA in clinical practice.⁸ Consequently, there is an unmet research need for the study of acute ocular pain. The purpose of this study is to characterize the evolution of the postoperative pain and discomfort after ASA, so that a more effective management can be developed.

Patients and methods

Study design

A multicenter (two sites), prospective, cohort study, based on patients who were treated with alcohol-assisted surface ablation with epithelial removal, was conducted.⁹ The ethics committee of the Universidad of Valladolid reviewed and approved the study protocol for both centers participating in this study. The study complied with the updated Declaration of Helsinki and the Spanish biomedical research regulatory requirements, and the protection of confidentiality concerning personal data was ensured as required by the Spanish law (LOPD 15/1999). All subjects provided their written informed consent before participation in the study.

Study population

The patients included in this study fulfilled the following inclusion criteria: both genders, between 18 and 60 years of age, Caucasian, free from ocular pain of any origin, no ocular disease, receiving ASA on both eyes, myopia between 0.75 and 9 D or hyperopia between 0.25 and 5 D, with or without astigmatism. The exclusion criteria included having pain in other part of the body in the preceding 7 days; having undergone ocular surgeries within the last 12 months; diagnosed with an autoimmune disease; receiving treatment with pain killers (including anti-inflammatories), psychotropics, anticonvulsants, or antidepressants; or having difficulties in communication. All ASA surgeries were performed by two experienced surgeons.

Data were collected regarding gender, pain intensity, ocular comorbidities, and rescue medication in the first 72 h after ASA. Questionnaires of Hospital Anxiety and Depression (HAD) and quality of life (QoL) were evaluated before ASA and at 6 h afterward, and adverse events up to 7 days after ASA were assessed.

ASA procedure

Preoperative

Each patient took one tablet of 0.5 mg alprazolam (Trankimazin[®]; Pfizer S.A., Puurs, Belgium) 30 min before ASA surgery. Twenty minutes before surgery, one drop of 5% lidocaine was applied topically. It was applied again 10 min later and once again just before surgery.

Intraoperative

An ethyl alcohol solution (17%) was placed on the cornea within an 8.5 mm solution cone and left in place for 30 s. Then, a merocel sponge (Medtronic Xomed Ophthalmics, Inc., Jacksonville, FL, USA) was placed to absorb the excess. After that, the corneal surface was rinsed with topical cold balanced salt solution and the epithelium was removed with a blunt spatula. This maneuver was followed by stromal ablation using the excimer laser MEL 70 G (Carl Zeiss Meditec, Jena, Germany), which incorporates an eye tracking system. The diameter of the treated area was always at least 6 mm with a transition to 9 mm. After the ablation, the surface was rinsed copiously with cold balanced salt solution. Then a drop of 0.3% ofloxacin (Exocin[®]; Allergan SA, Madrid, Spain) and a drop of 0.18% sodium hyaluronate (Vismed[®]; Thea Laboratories, SA, Barcelona, Spain) were applied. A therapeutic contact lens (Acuvue Oasis[®]; Johnson & Johnson, Limerick, Ireland) kept at 4°C was placed on to the cornea at the end of the procedure.

Postoperative

Immediately after surgery, patients received a cold patch for 15 min (Fredo Kit; KRZ, Barcelona, Spain). Patients were given topical cold antibiotics (ofloxacin, Exocin; Allergan SA; four times daily for 2 weeks), topical cold steroids (dexamethasone, Dexafree[®]; Thea Laboratories, SA; three times daily for 2 weeks), oral alprazolam 0.5 mg (Trankimazin; Pfizer SA, for the two first postoperative nights), oral vitamin C tablets (1 g/tablet, Redoxon[®]; Bayer, Barcelona, Spain; once daily for a month), topical 0.18% sodium hyaluronate (Vismed[®]; Thea Laboratory SA; four times daily for 2 weeks), and artificial tears (Viscofresh[®] 0.5%; Allergan SA; as needed, for several months).

All patients stayed in the surgical facilities for 4 or 6 h after ASA. They were instructed to apply the same medications

to both eyes and to keep all eye drops at 4°C (refrigerator temperature). Initially, no other painkillers were prescribed, unless pain was deemed unbearable. In those cases, the patient was given a protocol to use a rescue medication.

Rescue medication for unbearable pain was initiated with one drop of cyclopentolate hydrochloride 10 mg/1 mL (Cyclopejico®; Allergan SA) three times a day for 2 or 3 days. If discomfort or pain continued after 30 min, then tramadol/paracetamol 37.5 mg/325 mg (Zaldiar®; Grünenthal Pharma, Aachen, Germany) was administered every 6 h for the first 36 h. If pain persisted, 0.2% or 0.4% oxybuprovacaine (Prescaína Colirio®; Laboratory Llorens SA, Barcelona, Spain) or tetracaine and oxybuprovacaine (Anestesico Doble; Alcon Cusi, Barcelona, Spain) was added. Patients were allowed to use any of the suggested drugs, but were not allowed to use the maximum more than four times a day for 4 days.

Postoperative pain assessment

Pain intensity was evaluated by means of the visual analog scale (VAS) and the numeric pain rating scale (NPRS).⁹ The VAS consisted of a horizontal line, 100 mm in length, where 0 mm corresponded to “no pain” and 100 mm to “the worst imaginable pain”. The NPRS was an 11-point scale from 0 to 10, where 0 corresponded to “no pain” and 10 to “the worst imaginable pain”. Pain intensity was evaluated before and 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 24, 36, 48 (second day), 60, 72 (third day), 96 (fourth day), 120 (fifth day), and 144 (sixth day) h after surgery. Each patient was also given a diary to record his/her medication usage and pain and depression observations at home.

Other ocular symptoms, HAD questionnaire, QoL questionnaire, and Visual Function 25 (VF25) questionnaire

Other ocular symptoms

Based on a previous questionnaire developed by Sobas et al.,¹⁰ the presence and intensity of the following ocular symptoms were recorded: photophobia, burning sensation, tearing, foreign body, itching, and headache. The intensity of each item was rated on a Likert scale of 4 points (range 0–3, where 0 corresponded to no symptom and 3 to the worst imaginable symptom).¹¹ These ocular symptoms were evaluated before and at 1, 6, 48, and 120 h after surgery. The patient’s diary included this information.

HAD questionnaire

The HAD scale, validated in Spanish,¹² was used to assess pre- and postsurgical anxiety and depression. HAD was evaluated before and at 6, 48, and 120 h after ASA. This

self-administered questionnaire consisted of 14 items, divided into two 7-item subscales, one for anxiety and one for depression. Both subscales had the same cutoffs: 0–7, normal; 8–10, doubtful; and ≥ 11 , existence of a clinical problem.

QoL questionnaire

The QoL short form-12 (SF12) health survey was evaluated before and at 24 and 72 h after surgery. This self-administered questionnaire consisted of 12 questions to measure the physical and mental health status: the physical component summary and the mental component summary. The score was computed from the scores of the 12 questions and ranged from 0 to 100. A score of 0 indicated the lowest level of physical and mental health and a score of 100 indicated the highest level.¹³

VF25 questionnaire

The VF25 questionnaire was evaluated before and at 24 and 72 h after surgery. This self-administered questionnaire consisted of a base set of 25 vision-targeted questions representing eleven vision-related constructs, plus an additional single-item general health rating question. Each item was converted to a 0–100 scale, so that 0 represented the lowest visual function and 100 represented the highest.¹³

Statistical analysis

The sample size was based on our previously published retrospective study of ASA patients, in which 97% had postoperative pain.¹⁰ Subsequent to that study, clinical records suggested that 99% of patients had postoperative pain after ASA (data not published). Therefore, we assumed that 98% of the participants would have ocular pain. We then calculated that a representative sample should include 32 subjects, assuming the normal distribution and a range of $\pm 2.5\%$ for a two-sided 95% confidence interval. Student’s *t*-test was used to compare the mean values of the groups. The *P*-values < 0.05 were considered to be statistically significant.

We used principal component analysis (PCA) to extract the most important features of the multivariate data. With this methodology, we tried to build new variables, that is, principal components that were independent of each other. With this PCA, the first component, PCA1, would explain the maximum amount of variability observed in the sample. The second and lower level components, PCA2 and others, would each explain elements that accounted for smaller amounts of variability. In this way, we reduced our original data to a small number of independent variables.¹⁴

Baseline characteristics were summarized with standard descriptive statistics, and descriptive analyses were carried out. The incidence of pain and symptoms after the ASA was estimated and the 95% confidence interval was calculated.

Data analysis was carried out using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 15.0 statistical software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and StatXact-8 (Cambridge, MA, USA).

Results

Patient characteristics

A total of 32 consecutive patients (19 men and 13 women) were included between June 2015 and June 2016. The median (range) age was 28 (18–47) years, and all patients received surgery on both eyes.

Pain evolution after ASA procedure

All patients reported postoperative ocular pain (VAS ≥ 20 mm) from 0.5 to 60 h after surgery. For seven patients, the VAS score was < 20 mm at 0.5 and 2 h after surgery, with no pain reported at 1 h. During that same time, the NRPS scores were < 2 for four patients at 0.5 h, for one patient at 1 h, and for two patients at 2 h. For all patients, the peak pain occurred at 24 h after surgery with VAS and NPRS scores of 61 ± 31 mm and 6.0 ± 2.8 , respectively.

There was great variability among patients in the intensity of pain experienced during the follow-up period (Figure 1). The average pain intensity for all of the participants increased sharply during the first 9 h after surgery, and then peaked at

24 h with a 6-point difference between pre- and postsurgical VAS at that time. After that, the pain intensity was approximately stable until 36 h, when it started declining until 96 h after surgery. The VAS score at 72 h was 19 ± 20 mm. The evolution of pain intensity scored by VAS and NPRS was similar. It is important to highlight that the average pain intensities were ≥ 40 mm and 4 points for VAS and NPRS, respectively, in the period between h and 48 h. Nevertheless, the size of the sample does not allow us to perform an appropriate subgroup analysis. But it would be interesting to analyze as a separate subgroup those patients referring high values of postoperative pain.

There were no differences between females and males (Figure 2, $P=0.862$) (PCA) or among the different age groups (PCA, $P=0.179$; Figure 3) for the evolution of postoperative pain or age. Nevertheless, patients older than 30 years tended to experience greater pain intensity between 6 and 48 h after ASA, in comparison to younger patients. No relationship was found between the feeling of pain and the amount of ablation.

PCA1, the first function of PCA, represents the overall pain level. This component showed that subjects with higher VAS and NPRS scores had more pain than average during the study period. The highest and lowest scores corresponded to scores that were far from the mean postoperative pain intensity evolution. PCA1 explained 78% of the total variability of the sample (Figure 4). PCA2, the second function of PCA, represents the recovery time (Figure 5). Subjects with high scores in this component took longer time to recover. Subjects with low scores reached the peak of pain 24–36 h

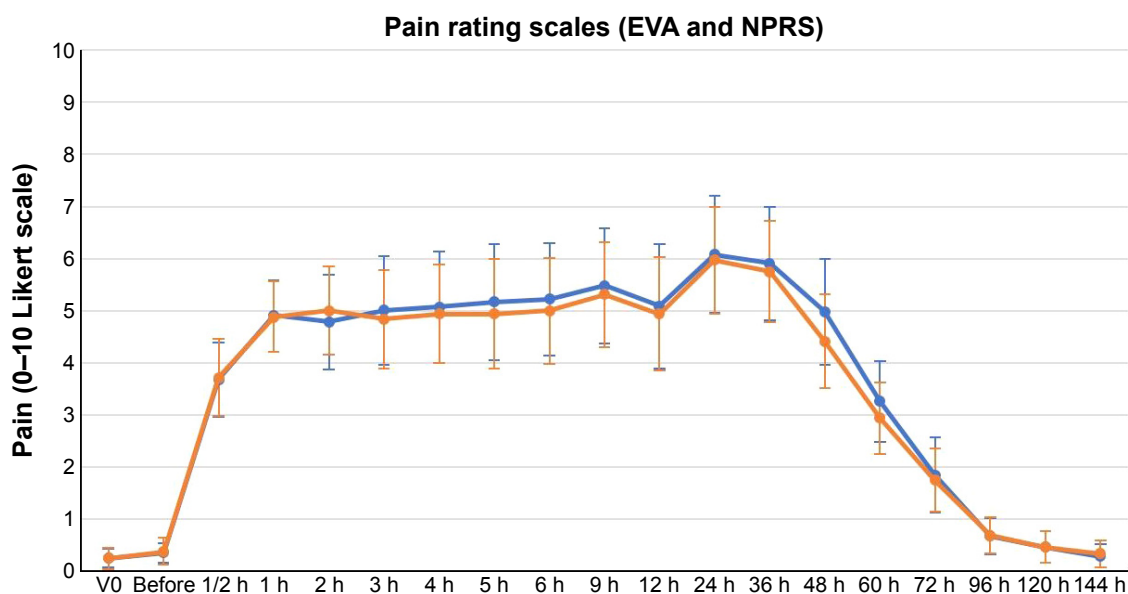


Figure 1 Mean postoperative pain intensity evolution measured by VAS (blue line) and NPRS (red line) questionnaires. **Abbreviations:** VAS, Visual Analog Scale; NPRS, Numeric Pain Rating Scale.

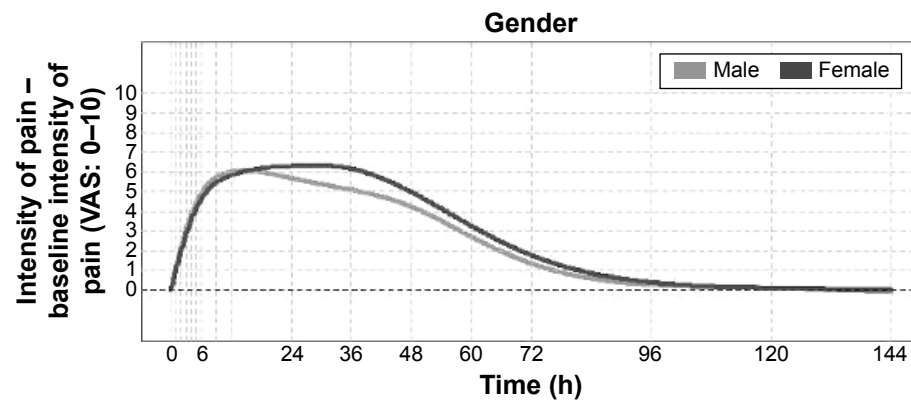


Figure 2 Postoperative pain intensity evolution by gender.
Notes: Females, black line; males, gray line.
Abbreviation: VAS, visual analog scale.

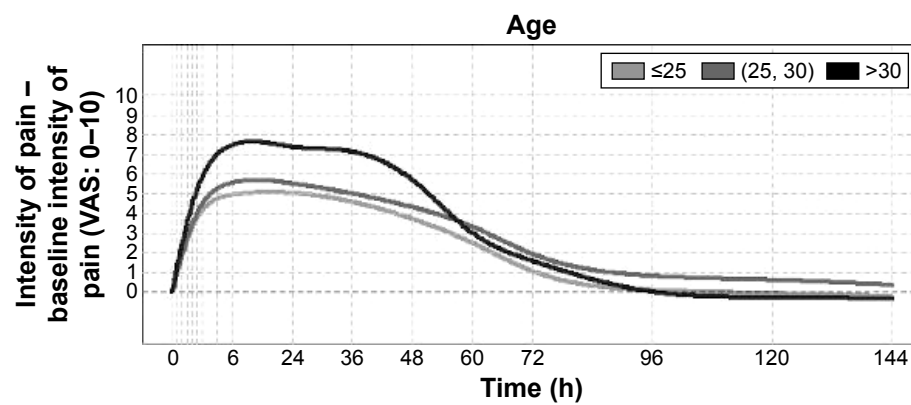


Figure 3 Postoperative pain intensity evolution by age.
Notes: >30 years old, black line; ≥ 25 –30 years old, dark gray line; <25 years old, light gray line.
Abbreviation: VAS, visual analog scale.

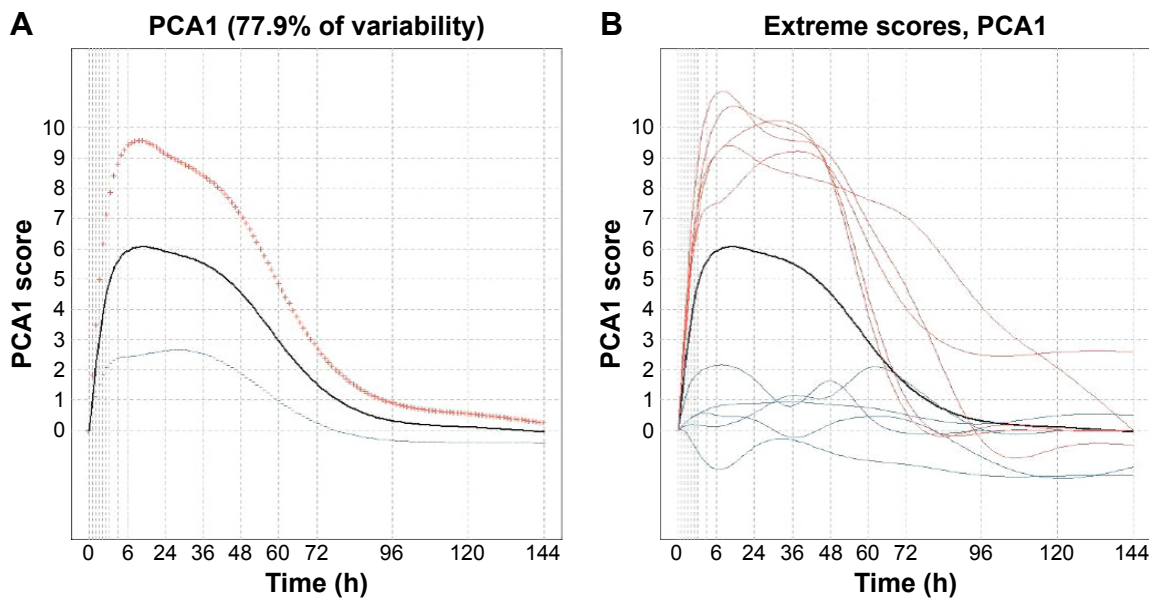


Figure 4 Overall pain level as estimated by PCA1.
Notes: (A) PCA1 accounted for 77.9% of the total pain variability. Mean postoperative pain evolution, black line; mean value +2 standard deviations, red line; mean value -2 standard deviations, blue line. (B) Extreme PCA1 scores. Mean postoperative pain evolution, black line. Five subjects with the highest PCA1 scores, red lines; five subjects with the lowest PCA1 scores, blue lines.
Abbreviation: PCA, principal component analysis.

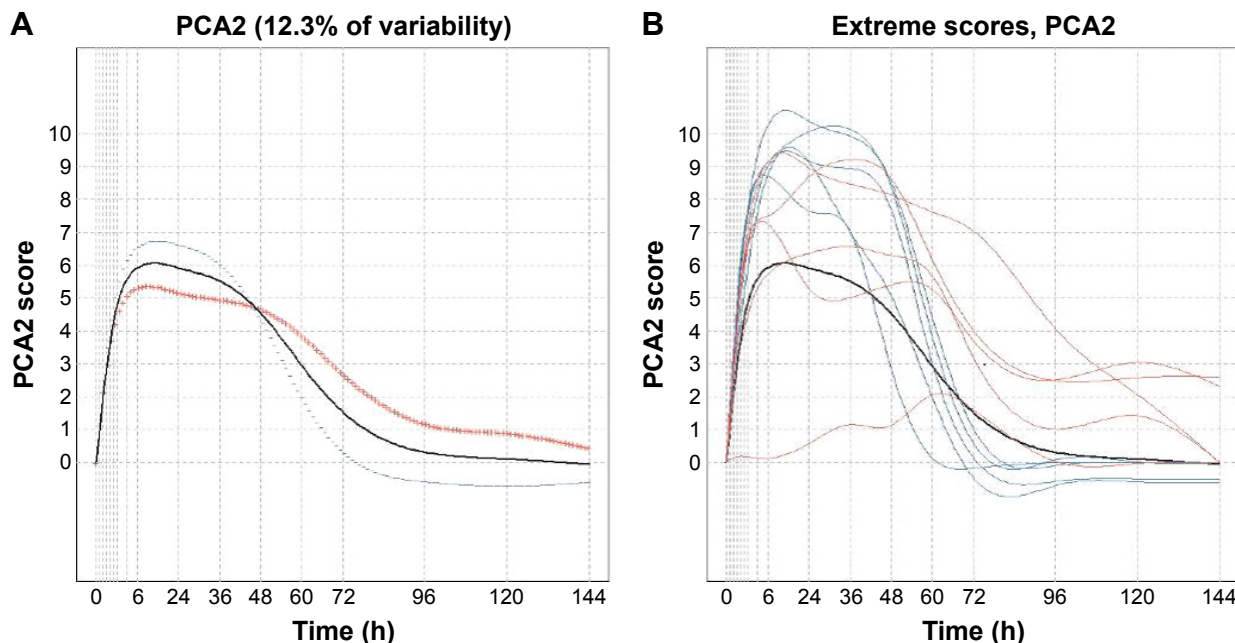


Figure 5 Recovery time estimated by PCA2.
Notes: (A) PCA2 accounted for 12.3% of the total pain variability. Mean postoperative recovery time evolution, black line; mean value +2 standard deviations, red line; mean value -2 standard deviations, blue line. (B) Extreme PCA1 scores. Mean postoperative recovery time evolution, black line. Five subjects with the highest PCA1 scores, red lines; five subjects with the lowest PCA1 scores, blue lines.
Abbreviation: PCA, principal component analysis.

after surgery, and they also had a faster recovery time after 48 h. PCA2 explained 12% of the total variability of the sample. Thus, PCA1 and PCA2 accounted for 90% of the total variability of the data.

All patients took oral acetaminophen (1 g) between 4 and 6 h after ASA, and then, every 8 h up to 72 h. Fourteen (44%) patients needed rescue medication. These patients presented greater pain intensity, although the difference between the VAS scores before and after ASA for patients

requiring rescue medication and those not requiring the medication was not statistically significant ($P=0.107$, Figure 6).

Other ocular symptoms after ASA

Regarding other postoperative symptoms such as photophobia, burning, itching, tearing, foreign body sensation, and headache, the results are shown in Table 1. All patients had photophobia and 27 (84%) had burning sensation.

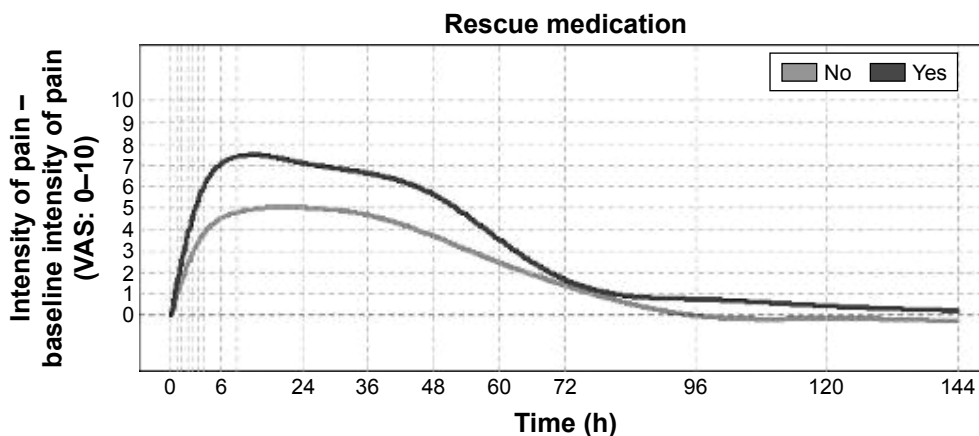


Figure 6 Postoperative pain intensity evolution by rescue medication.
Notes: Mean postoperative pain in the group that took rescue medication, black line. Mean postoperative pain in the group not taking rescue medication.
Abbreviation: VAS, visual analog scale.

Table 1 Ocular symptoms reported by the patients before and after ASA, rated on a Likert scale of 4 points (from 0= no symptom to 3= worst imaginable symptom)

| Symptom | Visit | n | Median | 95% confidence interval | |
|--------------|--------|----|--------|-------------------------|----------|
| | | | | Inferior | Superior |
| Foreign body | Before | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 h | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 6 h | 32 | 1 | 0 | 2 |
| | 48 h | 11 | 0 | 0 | 2 |
| | 120 h | 21 | 0 | 0 | 0 |
| Photophobia | Before | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 h | 32 | 3 | 2 | 3 |
| | 6 h | 32 | 3 | 2 | 3 |
| | 48 h | 11 | 2 | 1 | 3 |
| | 120 h | 21 | 1 | 0 | 1 |
| Headache | Before | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 h | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 6 h | 32 | 0 | 0 | 1 |
| | 48 h | 11 | 0 | 0 | 0 |
| | 120 h | 21 | 0 | 0 | 0 |
| Eye strain | Before | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 h | 32 | 1 | 1 | 2 |
| | 6 h | 32 | 1 | 1 | 2 |
| | 48 h | 11 | 1 | 0 | 2 |
| | 120 h | 21 | 0 | 0 | 0 |
| Eye itch | Before | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 h | 32 | 1 | 0 | 1 |
| | 6 h | 32 | 1 | 0 | 2 |
| | 48 h | 11 | 1 | 0 | 2 |
| | 120 h | 21 | 0 | 0 | 0 |
| Tearing | Before | 32 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 h | 32 | 2.5 | 2 | 3 |
| | 6 h | 32 | 2 | 1 | 3 |
| | 48 h | 11 | 1 | 0 | 2 |
| | 120 h | 21 | 0 | 0 | 0 |

Notes: n=32 (before, 1 h and 6 h visits), 11 (48 h visit), and 21 (120 h visit).

Abbreviation: ASA, advanced surface ablation.

HAD questionnaire

Before ASA, the overall score for the HAD questionnaire was 4.4 ± 3.6 (Figure 7). At 6 h after surgery, it was 5.4 ± 3.9 . Before surgery, 29 (91%) of the patients scored between 0 and 7, 1 (3%) scored 10, and 1 (3%) scored ≥ 11 in the anxiety subscale. At 6 h after surgery, all patients had anxiety scores between 0 and 7. For the depression subscale, all patients scored between 0 and 8 before surgery. Six hours after ASA, the results were similar.

QoL questionnaire SF12

The QoL questionnaire score was lowest at 24 h after surgery (SF12 physical component summary 38 ± 15.9 , SF12 mental component summary 50.4 ± 11.9). At that time, it was lower

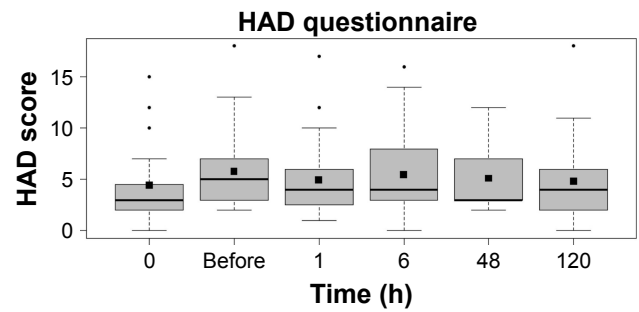


Figure 7 HAD questionnaire after ASA procedure.

Notes: Median values, black lines; mean values, black squares.

Abbreviations: ASA, advanced surface ablation; HAD, Hospital Anxiety and Depression.

than both the baseline value ($P < 0.0001$) and the value at 72 h ($P < 0.008$).

VF25 questionnaire

Before surgery, the score for the self-administered VF25 questionnaire was 92.4 ± 9.6 . At 24 h after surgery, the lowest score, 59.7 ± 27.6 , was recorded ($P < 0.001$).

Adverse events

No adverse events related to the ASA procedure or the medication used in this study were reported.

Discussion

Pain from corneal origin is very severe and stressful to patients and their surgeons.² No method of pain control has been considered ideal or universally accepted.¹⁵ Also, in our series of patients, we found that 44% of the subjects needed rescue medication. Therefore, these results deserve further research to develop new and more efficient postoperative analgesic protocols.

To the best of our knowledge, this study is the first to assess pain for 6 days following ASA and to describe the natural history of its evolution in the postoperative period. Some other studies determined if several drugs could decrease the rate of corneal re-epithelialization, but assessment of pain was not the main outcome.^{2,16}

There were no significant differences in pain scores between males and females, and although patients over 30 years of age tended to report more pain than younger patients, the differences were not statistically significant. The pain curve measured by the VAS questionnaire increased rapidly during the first 9 h after surgery. It peaked at 24 h in the moderate to severe range, with a VAS value of 6 mm. It was then stable until 36 h, before it began to decrease until

72 h. This finding is in agreement with other studies.^{16–18} To avoid delayed epithelialization, our postoperative analgesic protocol did not utilize either topical nonsteroidal anti-inflammatory or other drugs. It is clear that ASA produces a direct injury of the nerves of the treated corneal area, including those of the epithelium and upper stromal layers,^{19,20} and pain is associated with the corneal healing process.⁵ Gallar et al showed that in cats, the corneal sensory fibers innervating the wounded area and surroundings are functionally altered after ASA, becoming more sensitive to pain stimuli 24–48 h after surgery.⁵ Thus, our clinical findings, in which the pain continued after 72 h when the cornea was healed, differ from the experimental results of Gallar et al regarding the intensity and duration of pain.

The importance of our study lies in the assessment of pain during the 6-day follow-up period in which we obtained new findings. We identified two types of responses. Some patients experienced severe pain, which reached a peak at 24–36 h after surgery. These patients had a fast recovery time from 48 h onward. The other type of patients reported light pain and a prolonged recovery. The differences between these two types of patients could be an important point to understand, so that new customized postoperative treatments can be designed.

Another important finding is that individuals with higher pain scores had higher average pain throughout the entire follow-up period. Therefore, two types of patients can be described: those more sensitive to the overall wound healing process and those more insensitive to the same. Not surprisingly, the individuals taking rescue medications had higher levels of postoperative pain than did the patients not taking rescue medication, though the differences in pain level measured by the VAS and NRPS questionnaires were not significant.

Sher et al established a distinction between pain and discomfort.²¹ They described discomfort as a group of symptoms characterized by photophobia, burning, tearing, and foreign body sensation. We included itching and headache to this collection of symptoms, and each was individually evaluated. Most studies only assess some of these symptoms, with photophobia being the most frequently reported. We found that after postoperative pain, photophobia was the most prevalent symptom present in all of our subjects and it reached the highest scores among all the discomfort symptoms. These results are in line with those from other reports.^{21–23}

While the primary objective of this study was to characterize postoperative pain after ASA, we also sought to propose new clinical models for evaluating postsurgical

pain. In turn, we hope that these new models would lead to improvement in the pain management protocols for patients undergoing ASA and other invasive surface treatments. ASA as a possible clinical model has some interesting features. First, the induced injury is quite homogeneous in all subjects. Second, postoperative acute ocular pain after ASA has a characteristic and reproducible evolution. Third, postoperative pain is moderate, but the relative increase is significant (0–6 on the VAS scoring system). Finally, this surgery is performed in pain-free, healthy subjects of all ages. These characteristics suggest that ASA surgery could be a useful and novel human model of acute surgical pain and, therefore, to test new pain control protocols or drugs.

Our study is subject to a series of methodological limitations. The observational design and the sample size might underestimate or overestimate the ability to generalize the results beyond the population and the conditions studied. Sample size was relatively small for some analysis, a fact that could introduce bias in our results; pain perception is highly heterogeneous and it is possible that by including larger number of patients, the results might be different. Another limitation is that all patients took oral acetaminophen (1 g) between 4 and 6 h after ASA and then every 8 h up to 72 h, and 44% of patients took rescue medication. Likewise, all patients took an anxiolytic before and after surgery. The potential impact of these analgesic and anxiolytic drugs on pain evolution was not considered in our analysis. Therefore, it is likely that pain evolution between 4 and 6 h after ASA would have been greater without these drugs. Consequently, our results might underestimate the ocular pain after ASA. In addition, we detected that demographic and psychologic factors have been identified as being important for postoperative pain in other surgical disciplines. Therefore, these should be included in future research.²⁴ However, despite these limitations, our results support the predictable evolution of postsurgical pain after ASA as a new model for the study of acute postoperative pain and describe two patterns of painful responses.

Conclusion

Our results suggest that postoperative acute ocular pain after ASA presents a characteristic evolution with two types of patient profiles. One type experienced severe pain with rapid recovery after 48 h. The other type had light to moderate pain and a prolonged recovery time. These two types should be considered when designing new customized postoperative treatments. ASA could be a useful novel human model of acute pain for the prediction of clinical analgesia. These

results justify the search for a more efficient postoperative analgesic protocol and additional research to develop personalized postoperative treatments.

Acknowledgments

This work has been supported by a grant from Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA).

Disclosure

SV received fees for collaborating with Laboratorios del Dr Esteve on pain research. The authors report no other conflicts of interest in this work.

References

- Moisseiev E, Sela T, Minkev L, Varssano D. Increased preference of surface ablation over laser in situ keratomileusis between 2008–2011 is correlated to risk of ectasia. *Clin Ophthalmol*. 2013;7:93–98.
- Woreta FA, Gupta A, Hochstetler B, Bower KS. Management of post-photorefractive keratectomy pain. *Surv Ophthalmol*. 2013;58(6):529–535.
- Netto MV, Mohan RR, Ambrosio R Jr, Hutcheon AE, Zieske JD, Wilson SE. Wound healing in the cornea: a review of refractive surgery complications and new prospects for therapy. *Cornea*. 2005;24(5):509–522.
- El-Maghraby A, Salah T, Waring GO 3rd, Klyce S, Ibrahim O. Randomized bilateral comparison of excimer laser in situ keratomileusis and photorefractive keratectomy for 2.50 to 8.00 diopters of myopia. *Ophthalmology*. 1999;106(3):447–457.
- Gallar J, Acosta MC, Gutierrez AR, Belmonte C. Impulse activity in corneal sensory nerve fibers after photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(9):4033–4037.
- Gracely RH, Lynch SA, Bennett GJ. Painful neuropathy: altered central processing maintained dynamically by peripheral input. *Pain*. 1992;51(2):175–194.
- Beuerman RW, McDonald MB, Zhang D, Varnell RJ, Thompson HW. Diclofenac sodium attenuates neural activity after photorefractive keratectomy in rabbits. *J Refract Surg*. 1996;12(7):783–791.
- Breivik H, Borchgrevink PC, Allen SM, et al. Assessment of pain. *Br J Anaesth*. 2008;101(1):17–24.
- Lopez-Miguel A, Martinez-Almeida L, Mateo ME, Coco-Martin MB, Alio JL, Maldonado MJ. Dependability of pachymetry measurements after myopic advanced surface ablation using scanning-slit topography and specular microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(2):1054–1060.
- 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.
- McMonnies CW. Measurement of symptoms pre- and post-treatment of dry eye syndromes. *Optom Vis Sci*. 2016;93(11):1431–1437.
- Herrero MJ, Blanch J, Peri JM, De Pablo J, Pintor L, Bulbena A. A validation study of the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) in a Spanish population. *Gene Hosp Psychiatry*. 2003;25(4):277–283.
- Mangione CM, Lee PP, Gutierrez PR, et al. Development of the 25-item National Eye Institute Visual Function Questionnaire. *Arch Ophthalmol*. 2001;119(7):1050–1058.
- Ramsay JO, Silverman BW. Principal components analysis for functional data. *Functional Data Analysis*. 2nd ed. New York: Springer; 2005:147–172.
- Nissman SA, Tractenberg RE, Babbar-Goel A, Pasternak JF. Oral gabapentin for the treatment of postoperative pain after photorefractive keratectomy. *Am J Ophthalmol*. 2008;145(4):623–629.
- Hong JP, Nam SM, Im CY, et al. Comparison of analgesic effect of preoperative topical diclofenac and ketorolac on postoperative pain after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg*. 2014;40(10):1689–1696.
- Autrata R, Rehurek J. Laser-assisted subepithelial keratectomy and photorefractive keratectomy for the correction of hyperopia. Results of a 2-year follow-up. *J Cataract Refract Surg*. 2003;29(11):2105–2114.
- Blake CR, Cervantes-Castaneda RA, Macias-Rodriguez Y, Anzoulatous G, Anderson R, Chayet AS. Comparison of postoperative pain in patients following photorefractive keratectomy versus advanced surface ablation. *J Cataract Refract Surg*. 2005;31(7):1314–1319.
- Tervo K, Latvala TM, Tervo TM. Recovery of corneal innervation following photorefractive keratoablation. *Arch Ophthalmol*. 1994;112(11):1466–1470.
- Erie JC, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. Recovery of corneal subbasal nerve density after PRK and LASIK. *Am J Ophthalmol*. 2005;140(6):1059–1064.
- Sher NA, Golben MR, Bond W, Trattler WB, Tauber S, Voirin TG. Topical bromfenac 0.09% vs. ketorolac 0.4% for the control of pain, photophobia, and discomfort following PRK. *J Refract Surg*. 2009;25(2):214–220.
- Sher NA, Frantz JM, Talley A, et al. Topical diclofenac in the treatment of ocular pain after excimer photorefractive keratectomy. *Refract Corneal Surg*. 1993;9(6):425–436.
- Caldwell M, Reilly C. Effects of topical nepafenac on corneal epithelial healing time and postoperative pain after PRK: a bilateral, prospective, randomized, masked trial. *J Refract Surg*. 2008;24(4):377–382.
- Lesin M, Domazet Bugarin J, Puljak L. Factors associated with postoperative pain and analgesic consumption in ophthalmic surgery: a systematic review. *Surv Ophthalmol*. 2015;60(3):196–203.

Clinical Ophthalmology

Publish your work in this journal

Clinical Ophthalmology is an international, peer-reviewed journal covering all subspecialties within ophthalmology. Key topics include: Optometry; Visual science; Pharmacology and drug therapy in eye diseases; Basic Sciences; Primary and Secondary eye care; Patient Safety and Quality of Care Improvements. This journal is indexed on

Submit your manuscript here: <http://www.dovepress.com/clinical-ophthalmology-journal>

Dovepress

PubMed Central and CAS, and is the official journal of The Society of Clinical Ophthalmology (SCO). The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

TRABAJO III

Reliability of Potential Pain Biomarkers in the Saliva of
Healthy Subjects: Inter-Individual Differences and
Intersession Variability.

RESEARCH ARTICLE

Reliability of Potential Pain Biomarkers in the Saliva of Healthy Subjects: Inter-Individual Differences and Intersession Variability

Eva M. Sobas^{1,2*}, Roberto Reinoso^{1,3,5}, Rubén Cuadrado-Asensio^{1,4}, Itziar Fernández^{1,5}, Miguel J. Maldonado^{1,4}, José C. Pastor^{1,4,6}

1 Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain, **2** Escuela de Enfermería, Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain, **3** Visión I+D, Valladolid, Spain, **4** Departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain, **5** Networking Research Center on Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Valladolid, Spain, **6** Department of Ophthalmology, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, Spain

* eva@ioba.med.uva.es



OPEN ACCESS

Citation: Sobas EM, Reinoso R, Cuadrado-Asensio R, Fernández I, Maldonado MJ, Pastor JC (2016) Reliability of Potential Pain Biomarkers in the Saliva of Healthy Subjects: Inter-Individual Differences and Intersession Variability. PLoS ONE 11(12): e0166976. doi:10.1371/journal.pone.0166976

Editor: Urs M. Nater, University of Marburg, GERMANY

Received: June 2, 2016

Accepted: November 7, 2016

Published: December 1, 2016

Copyright: © 2016 Sobas et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All data underlying the findings described in this manuscript are fully available without restriction. Data are not confidential and are available upon request to the corresponding author. Raw data of this study can be found in the laboratory notebook and in an Excel database that complies with the current legislation on patient confidentiality. All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: Vision I+D is a spin-off of University of Valladolid (our University). It provided the salary of

Abstract

Aim

Salivary cortisol, α -amylase (sAA), secretory IgA (sIgA), testosterone, and soluble fraction of receptor II of TNF α (sTNF α RII) could serve as objective pain measures, but the normal variability of these potential biomarkers is unknown.

Patients & Methods

Saliva was collected with the passive secretion method from 34, pain-free subjects in two single samples at least 24 hours apart. Biomarker variation and intersession reliability were assessed with the intraclass correlation coefficient (ICC). Also, we calculated the within-subject standard deviation (S_w) and the reproducibility ($2.77 \times S_w$) of intersession measures.

Results

Salivary cortisol, sAA, sIgA, testosterone, and sTNF α RII yielded the following ICCs: 0.53, 0.003, 0.88, 0.42 and 0.83, respectively. We found no statistically significant systematic differences between sessions in any biomarker except for testosterone, which showed a decrease on the second day ($p < 0.001$). The reproducibility for salivary cortisol, sAA, sIgA, testosterone, and sTNF α RII were 0.46 ng/ml, 12.88 U/ml, 11.7 μ g/ml, 14.54 pg/ml and 18.29 pg/ml, respectively. Cortisol, testosterone and TNF α RII measurement variability showed a positive correlation with the magnitude ($p < 0.002$), but no relationship was found for sAA and sIgA.

Conclusions

Salivary sIgA and sTNF α RII show a remarkable good reproducibility and, therefore, could be useful as pain biomarkers. When using the passive secretion method, intersession variations in salivary sIgA of more than 11.7 μ g/ml may reflect true biomarker change. In the case

Dr. Roberto Reinoso. Esteve Laboratories provided the salary of Sebastian Videla and had contributed with an unrestricted grant for the consumables used in this research. Neither Vision I+D nor Esteve had played any role in the design of this study.

Roberto Reinoso and Sebastian Videla did not play any role in the study design, data collection and analysis. Sebastian Videla has contributed as external advisor, also participating in the preparation of the manuscript and Roberto Reinoso has analyzed some biomarkers, participating also in the preparation of the manuscript.

Competing Interests: Dr. Roberto Reinoso is employed by Vision I+D. This does not alter our adherence to PLOS ONE policies on sharing data and materials.

of sTNF α RII this will depend of the magnitude. The estimates herein provided should help investigators and clinicians differentiate actual biomarker modification from measurement variability.

Introduction

Objective measurement of pain is still a challenge, especially for acute post-operative and chronic pain. Currently, subjective methods based on visual analogue scales are used in clinics to measure pain and to evaluate the usefulness of the proposed treatments [1,2]. However, despite the acceptance of these scales for research purposes [1,3–5], there is still a need to find and define more objective measurements of pain. In recent years, some biomarkers of pain in saliva have been described [6,7], but until now none has been widely accepted. Objective measurements of pain would be useful in children and in subjects who cannot verbalize their pain level.[8] A better knowledge of pain experience will promote a greater diagnostic and prognostic ability and a more suitable therapy for each individual patient.[9] But it should be taken in consideration that a leading objective is also to develop a clinical model to test new painkillers or new protocols, and a major requirement is having an objective measure allowing comparisons. In addition, there are no studies that analyze putative salivary pain biomarkers in the same pain-free subject to establish the reproducibility of the measurements over time.

The most important putative biomarkers already described in saliva related to pain are cortisol [10], salivary alpha-amylase (sAA) [11], secretory immunoglobulin A (sIgA) [12], testosterone [13], and soluble tumor necrosis factor- α receptor II (sTNF α RII) [14]. Since 1987, cortisol has been by far the most often used biomarker for acute pain [15]. It is generally considered a good biomarker because the level in saliva is unaffected by salivary flow rate, and it is resistant to degradation by enzymes and freezing [16]. Studies on the usefulness of salivary cortisol have increased since 2005, and a strong relationship has been found between salivary levels and pain [17]. This relationship has been confirmed by more recent studies [18–21]. But variations in cortisol levels that are not associated with pain could limit its value as a biomarker. For instance physical activity, psychological status [22], circadian variation [23], gender [20,24], and stressful situations influence salivary cortisol concentration [10]. It also has a circadian variation, with higher concentrations in the morning followed by a gradual decrease during the day [23].

Other components in saliva have been analyzed for their potential to serve as biomarkers of pain and stress. sAA is one [11] even though it undergoes a diurnal variation [25–27], and there are several factors that might influence the daily cycle, it still could be helpful for pain assessment [28].

In 2009, Doepel et al. suggested that salivary sIgA might be a biomarker for pain, but there is not much other information in this biomarker. Similarly, little is known about the value of salivary sTNF α RII as a biomarker of pain, though Goodin et al. found that levels decreased with acute provoked neuropathic pain [14,29].

Recent studies have analyzed the relationship between salivary testosterone and acute pain relief. Choi et al. investigated whether or not the decrease in salivary testosterone caused by stress affected pain perception [13]. They suggested that acute clinical pain may be relieved by controlling stress and managing consequent stress-related testosterone and cortisol.

Current studies have analyzed the variations of these putative biomarkers in patients with pain, but the reproducibility in a normal population has not been adequately described. Thus, there is no information on the inter-, intra-individual and intersession variability of these biomarkers in a healthy population although these variations could affect their usefulness as

potential biomarkers for pain. Thus the purpose of this study was twofold: 1) to analyze for the first time the variations of cortisol, sAA, sIgA, testosterone, and sTNF α RII in saliva of healthy volunteers in order to select the most appropriate ones, in terms of reproducibility and reliability, for further studies and, 2) to provide fundamental evidence to differentiate true biological change in these potential biomarkers from test-retest variability. These data will be used to establish a normative database against which variations of the potential biomarkers can be assessed in patients with post-operative pain.

Subjects and Methods

Study design

The protocol for this observational clinical study was reviewed and approved by the Ethics Committee of the Hospital Clínico Universitario of Valladolid. The study conformed with the updated Declaration of Helsinki and the Spanish biomedical research regulatory requirements. All subjects signed an informed consent before participation in the study.

Study population

Subjects in this study were healthy volunteers between the ages of 30 and 40 years old. Potential participants were excluded for the following reasons: pain of any origin, diagnosed autoimmune disease, treatment with corticosteroids, non-steroidal anti-inflammatory drugs or analgesics, pregnancy, breastfeeding, women under hormonal treatment, or oral disease with inflammation or active lesions of the mouth.

Sample collection and analysis

Subjects were individually instructed as follows on how to perform saliva collection using the passive secretion method [30]: (1) one hour before sample collection, each subject should not eat, drink (other than water), take gum, brush his/her teeth, ingest caffeine, or engage in physical exercise; (2) five minutes prior to sample collection, each should rinse his/her mouth with clean water to reduce contamination of saliva with food debris; (3) each should swallow all of the saliva in the mouth before starting sample collection; and then (4) intermittently deposit saliva accumulated over a 5-min period into a collection tube. Collection of at least 1 ml was required. If the 5-ml collection tube was filled before 5 min, the amount of elapsed time was recorded. Visible blood contamination required that sample be discarded, and after a 10-min wait, a new sample was collected.

Collections were performed in a clinical setting and always supervised by one of the co-authors. They were carried out between 9 a.m. and 12 p.m. to minimize potential error associated with the diurnal variations in neuroendocrine parameters. Two single samples of saliva were collected from each subject, with an interval goal of 24 hours. Samples were collected in the same room, and temperature and humidity were recorded. After collection, the samples were frozen at -20°C until they were analyzed.

In order to analyze the potential effect of female cycle on the biomarkers' levels, we searched for associations between saliva concentration of biomarkers in female subjects and the menstrual cycle phase: follicular phase (from 1 to 14 day), luteal phase (from 15 to 28 day) and hemorrhagic phase. [31,32] The sample sizes were 12, 7 and 4 for follicular phase, luteal phase and hemorrhagic phase, respectively, in the first collection and 14, 6 and 3 respectively in the second collection.

The following putative salivary indicators of pain were assayed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): Cortisol (DRG Salivary Cortisol ELISA (DRG Instruments GmbH,

Marburg, Germany), testosterone (DRG Instruments GmbH), sTNF α RII (Quantikine, Human sTNF RII/TNFRSF1B Immunoassay, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). sAA was determined by an α -amylase kit (Salimetrics™, State College, PA, USA), and salivary sIgA was determined by a single radial immunodiffusion technique (The Binding Site Group, Ltd., Birmingham, UK).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using R (version 2.15.2)[33] and Package rptR[34] was used for intraclass correlation coefficient (ICC) estimations. Quantitative variables were described as means \pm standard deviations (SDs) or medians and range, depending on the normality of the distribution, and qualitative ones as percentages. In all cases, 95% confidence intervals (CIs) were constructed. P-values less than 0.05 were considered as statistically significant.

Where it was possible to assume that the difference between two consecutive measures was normally distributed, Student's t-test for paired samples to establish whether there was a significant systematic bias between measurements was used. In other cases, the Wilcoxon signed-rank test was used. Gender differences in Testosterone values were tested by Mann-Whitney U test. Normality assumption was checked by Shapiro-Wilk test.

Bland-Altman plots and limits of agreement (LoA) were used to assess agreement between salivary collections. The crude 95% LoAs were defined as the mean difference in measurements performed in the two different sessions $\pm 1.96 \cdot SD$, with SD the observed standard deviation of the difference between the two measurements per subject [35].

Previously, presence of heteroscedasticity was examined according the Kendall's tau (τ) correlation between the absolute differences between two measures and the corresponding means. When a significant relationship was found, reliability was analyzed on the 10 base log-transformed scale.

Bland-Altman plots and LoAs on a log scale are difficult to interpret in clinical practice. So data were transformed back to the original scale by taking anti-logs, and these back transformed LoAs will be functions of the mean of the two measurements. Then, for a given value for the mean (\bar{X}), the difference between salivary collections will be between $\pm \frac{2\bar{X}(10^a-1)}{10^a+1}$, where $a = 1.96 \cdot SD$ on log scale [36].

To evaluate the reproducibility of each salivary biomarker, the within-subject standard deviation (S_w) was calculated by obtaining the square root of the sum of the within-subject variance and the error variance estimated in a linear random-effects model. [37] That is, the spread of the measurements from different saliva collections on the same subject. The precision ($1.96 \times S_w$) and the reproducibility ($2.77 \times S_w$) were calculated as previously reported [35,38]. In addition, the within-subject coefficient of variation (CV_w) was calculated. However, on log scale, where 0 is no absolute minimum and adding is equivalent to multiplying on the original scale, it makes no sense to calculate it directly. Therefore CV_w were defined on the original scale, using the expression $10^{S_w} - 1$, where S_w is calculated using log transformed data [38,39]. Linear random-effects models were also used to calculate ICCs as a measure of concordance of two samples. The 95% CIs were estimated by bootstrapping with 1000 replications. ICC values were interpreted as follows: 0–0.2, poor agreement; 0.3–0.4, fair agreement; 0.5–0.6, moderate agreement; 0.7–0.8, strong agreement; and >0.8 , almost perfect agreement [40].

Results

A total of 34 healthy volunteers (11 men, 23 women) were included to evaluate the reproducibility of each biomarker. The median age was 34 years old (range, 30–40). For most of the

participants, the second sample was obtained 24 hours after the first one. However, for three subjects, the second sample was taken at 21 hours after the first, and in five subjects the second sample was taken 22 hours after the first. The median elapsed time since the last meal was 115 min (range 60–720 min) for the first collection and 135 min (range 60–780 min) for the second one ($p = 0.45$). Four subjects were under systemic treatment: two with levothyroxine, one with vitamin C, and another with ebastine. After reviewing the technical information on these treatments, we considered that they were unlikely to have influenced the measurements, and these samples were not excluded from the final analysis. The median time since the last menstruation in the women subjects for both collections was 9 days, with a range of 0–26 days for the first and 0–29 days for the second collection ($p = 0.008$). However, considering three menstrual cycle phases: follicular phase (from 1 to 14 day), luteal phase (from 15 to 28 day) and hemorrhagic phase; the effect of menstrual cycle was not significant for any potential biomarker level (Cortisol p -value: 0.8473; sAA p -value: 0.5389; sIgA p -value: 0.8819; testosterone: 0.0997; sTNF α RII: 0.5318). The median room temperature and humidity were 24.2°C (range 19.6–26.1°C) and 35% (range 23.2–58.1%) for the first measurement. For the second, they were close but not quite identical from the first measurement 22.9°C (range 17.2–26.1°C; $p = 0.001$) and 30.2% (range 26.7–47.3%; $p = 0.05$). The median collection time was 266 sec (range 120–300 sec) for the first collection and 281 sec (range 170–300 sec) for the second ($p = 0.08$).

For the first and second collections, the data for cortisol, sIgA, sAA, and sTNF α RII were normally distributed, but the data for testosterone were not. There were no significant differences between any of the first and second collections for any of the putative salivary biomarkers except for testosterone, which showed a significant decrease ($p < 0.001$, Wilcoxon signed-rank test). Table 1 shows values for all biomarkers were calculated regardless of gender of the subjects.

Fig 1 shows the Bland–Altman plots of difference versus mean for each biomarker. The scatterplot showed that the difference in biomarker measures between days was independent of the mean for sAA and sIgA. However, testosterone ($\tau = 0.49$; $p = 0.0001$), cortisol ($\tau = 0.37$; $p = 0.002$) and sTNF α RII ($\tau = 0.41$; $p = 0.0005$) showed direct correlations that disappeared after 10 base log transformation. In the latter biomarkers, the 95% LoA on the 10 base log-transformed scale were calculated as mentioned above (testosterone: $-17.53 + 0.66 X$, cortisol: $-0.06 + 0.9X$, sTNF α RII: $-3.69 + 0.5X$), which are also shown in Fig 1C, 1D and 1E. Table 2 shows the 95% LoA corresponding to the intersession variability for each biomarker. For testosterone, cortisol and sTNF α RII, LoA were calculated on the 10 base log-transformed scale.

Table 1. Differences of potential biomarker concentrations between collections.

| Biomarker | 1 st sample collection | | 2 nd sample collection | | Mean of difference | 95% CI for the mean of difference | p-value |
|-------------------------|-----------------------------------|---------------|-----------------------------------|---------------|--------------------|-----------------------------------|---------|
| | Concentration | 95%CI | Concentration | 95%CI | | | |
| Cortisol | 1.20 ± 0.91 | 0.89–1.52 | 1.15 ± 1.14 | 0.75–1.54 | -0.06 | -0.27, +0.38 | 0.7215 |
| sIgA | 169.70 ± 44.55 | 154.15–185.24 | 168.74 ± 42.32 | 153.97–183.50 | -0.96 | -6.47, +8.38 | 0.7944 |
| sAA | 53.13 ± 19.27 | 46.41–59.86 | 47.00 ± 20.28 | 39.92–54.07 | -6.14 | -1.44, +13.72 | 0.109 |
| Testosterone (males)* | 75.30 ± 33.89 | 52.53–98.07 | 46.97 ± 22.63 | 31.77–62.18 | -28.32 | -54.3, -2.35 | 0.0355 |
| Testosterone (females)* | 22.99 ± 16.72 | 15.76–30.21 | 10.62 ± 5.86 | 8.09–13.16 | -9.4 | -12.95, -3.48 | 0.0001 |
| sTNF α RII | 79.46 ± 66.24 | 56.34–102.57 | 75.77 ± 64.10 | 53.38–98.16 | -3.69 | -9.23, +16.61 | 0.5652 |

$n = 34$ for each biomarker; CI, confidence interval; cortisol, $\mu\text{g/dL}$; sIgA, secretory IgA, $\mu\text{g/mL}$; sAA, α -amylase, U/mL; testosterone, ng/mL; sTNF α RII, soluble fraction of receptor II of tumor necrosis factor α , pg/mL

*, p -value < 0.0001 for differences in male-female testosterone concentration for both collections. There were 11 males and 23 females.

doi:10.1371/journal.pone.0166976.t001

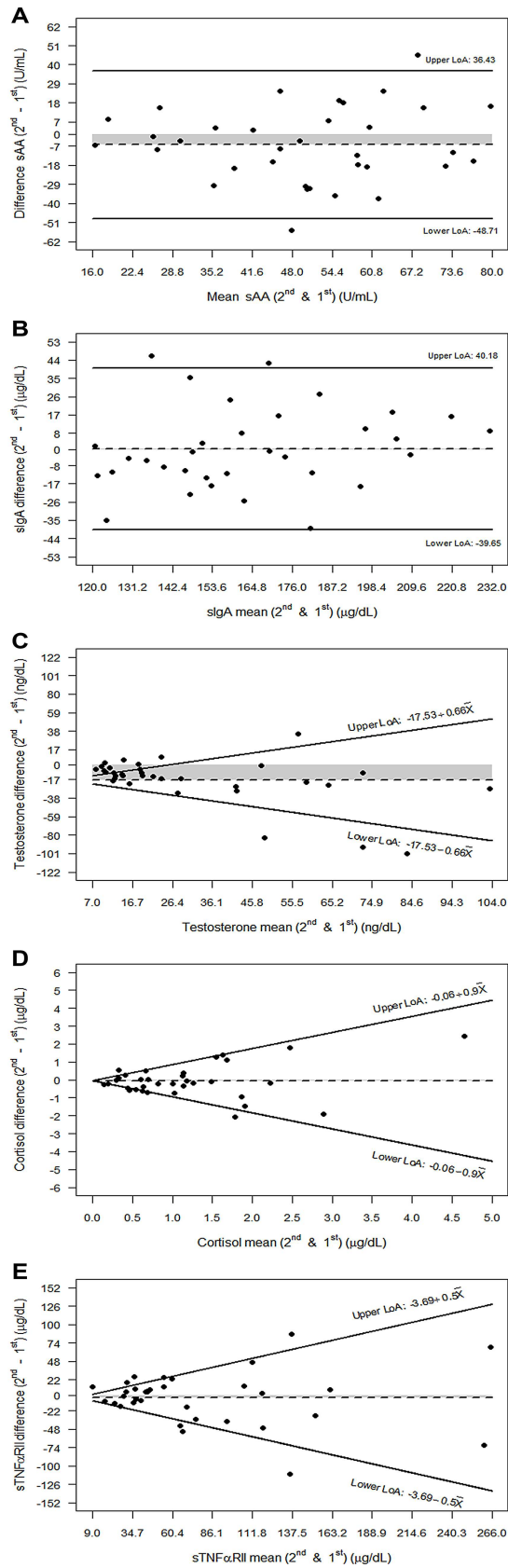


Fig 1. Bland-Altman graphs showing the intersession reproducibility for each biomarker: (A) sAA, (B) sIgA, (C) Testosterone, (D) Cortisol, and (E) sTNF α RII. The solid lines represent the upper and the lower LoA (limits of agreement): crude 95% LoA are depicted in A and B, and the 95% back transformed LoA after the 10 base log-transformation are shown as functions of the mean of the two measurements in C, D y E (X denotes the corresponding biomarker mean). Dashed line represents the mean difference value between 2nd and 1st salivary collections, and shaded area the magnitude between this mean difference value and zero.

doi:10.1371/journal.pone.0166976.g001

Table 3 shows the intersession S_w , the precision, the reproducibility and the CV_w , corresponding to the intersession analysis of each biomarker.

Table 4 displays that sAA had the lowest ICC value, indicating a very poor repeatability between measurements. sTNF α RII and sIgA had the highest, 0.828 and 0.879 respectively, indicating good intersession reproducibility. The ICC for cortisol was 0.526, which was at the limit of acceptability.

Discussion

Our working hypothesis is that the analysis of biomarkers in saliva could be an objective method to quantify acute and chronic pain, an idea that has gained interest in recent years. The large number of authors currently involved in this research demonstrates the relevancy and interest of this topic [11,21,41].

A good pain biomarker for clinical applications should accomplish certain goals. It should be safe, easy, and non-invasive to collect, vary according to treatment and variations of the disease, and transferable to wide clinical use [42]. In addition, a good biomarker should be reliable, that is to say, reproducible when measured in different days, an aspect that has not been investigated appropriately in most instances.

For this work, we used saliva samples because many of the biomarkers present in blood and urine can also be detected in saliva, and this fluid contains specific biomarkers for early detection of some diseases like cardiovascular, renal, infectious, or psychological diseases [43].

To the best of our knowledge, this is the first work to analyze cortisol, sAA, testosterone, sIgA, and sTNF α RII simultaneously to establish the reproducibility of measurements of these possible biomarkers in pain-free subjects. Testosterone was included because of its negative correlation with pain [13]. However, we found that the high variability in testosterone levels in healthy, pain-free male and female adults and the consequent low ICCs precluded it as a good biomarker of pain. However, the small sample size prevents a detailed analysis, which could be important for instance to determine the influence of the menstrual cycle phase. sAA had the lowest reproducibility values among all of the biomarkers. While some authors considered sAA to be an emerging biomarker for stress and pain [11,41], others concluded that there is insufficient support for that idea [44]. Some authors consider sAA as a novel biomarker for psychosocial stress in relation with the sympathetic adrenomedullary system [11,15], which, in

Table 2. 95% LoA corresponding to the intersession variability for each biomarker. For sAA and sIgA, the crude LoA are shown whereas for testosterone, cortisol and sTNF α RII, the back transformed LoA after the 10 base log-transformation are shown as functions of the average of the two measurements.

| | sAA (r: 13.16–90.95) | Testosterone (r: 2.83–134) | Cortisol (r: 0.01–5.88) | sTNF α RII (r: 3.33–299.4) | sIgA (r: 106.55–235.95) |
|-----------|----------------------|--------------------------------------|-------------------------------|---|-------------------------|
| Upper LoA | 36.43 | -17.53 + 0.66 x Average Testosterone | -0.06 + 0.9x Average Cortisol | -3.69 + 0.5 x Average sTNF α RII | 40.18 |
| Lower LoA | -48.71 | -17.53–0.66 x Average Testosterone | -0.06–0.9 x Average Cortisol | -3.69–0.5 x Average sTNF α RII | -39.65 |

r: range; sAA: α -amylase; sIgA: secretory IgA; sTNF α RII: soluble fraction of receptor II of tumor necrosis factor α .

doi:10.1371/journal.pone.0166976.t002

Table 3. Intersession S_w , the precision ($S_w * 1.96$), the reproducibility ($S_w * 2.77$) and the CV_w (95% CI), for the intersession analysis of each biomarker.

| Biomarker | S_w (95%CI) | Precision $S_w * 1.96$ | Reproducibility $S_w * 2.77$ | CV _w (%) (95% CI) |
|--------------|---------------------|------------------------|------------------------------|------------------------------|
| sAA | 12.88 (9.73;16.03) | 25.2448 | 35.6776 | 26.38 (20.21;32.54) |
| Testosterone | 14.54 (8.57;20.51) | 28.4984 | 40.2758 | 47.93 (37.38;58.47) |
| Cortisol | 0.46 (0.30;0.62) | 0.9016 | 1.2742 | 43.77 (33.05;54.49) |
| sTNFαRII | 18.29 (11.88;24.69) | 35.8484 | 50.6633 | 26.11 (19.46;32.75) |
| slgA | 11.7 (8.53;14.88) | 22.932 | 32.409 | 7.1 (5.07;9.12) |

S_w : within-subject standard deviation; CV_w: within-subject coefficient of variation; sAA: α-amylase; slgA: secretory IgA; sTNFαRII: soluble fraction of receptor II of tumor necrosis factor α.

doi:10.1371/journal.pone.0166976.t003

turn, might relate to the experience of pain symptoms. Anyhow, our study was not oriented towards analyzing psychosocial stress and our results only showed a poor reproducibility of this biomarker. Because sAA and Testosterone had a very low ICC, we cannot consider them as good biomarkers for pain.

We selected cortisol, slgA, and sTNFαRII for this study because in separate studies they correlated well with pain [12,14]. All three biomarkers had acceptable levels of reproducibility within our pain-free subjects. The moderately high ICC for salivary cortisol was similar to previous reports [24,45]. Among all of the tested biomarkers in our investigation, slgA and sTNFαRII had the highest reproducibility between both collections from the same individual. Interestingly, the intersession variation should be expected to be higher with increasing values for testosterone, cortisol and sTNFαRII, but not for sAA and slgA (Fig 1).

Despite the importance of knowing the precision (random error) of the above mentioned biomarkers, the present study is the first appropriate statistical investigation of their intersession reliability. For that, the intersession S_w , precision, reproducibility, CV_w, and ICC were calculated (Tables 2–4). We should consider, on one hand, the precision, which indicates the difference between a subject’s measurement and the true value (average value that would be obtained over many measurements) for 95% of observations [35,38]. On the other hand, reproducibility conveys the value below which the difference between two measurements in different days would lie with a probability of 0.95 [35,38]. Therefore, the estimates ($2.77 * S_w$) herein provided should help clinicians differentiate real biomarker change from intersession measurement variability, according to Bland.[35]

Current work has some limitations. Sample size was relatively small but statistical analyses showed that the number of observations were sufficient to provide significant findings. Although having collected samples between 09:00 and 12:00 may have incorporated some variability of parameters of interest during the morning hours, it seems more reasonable than

Table 4. Reliability of potential biomarkers.

| Biomarker | ICC | 95% CI ICC | Reproducibility Rating |
|--------------|-------|-------------|------------------------|
| sAA | 0.003 | 0.000–0.546 | Very Poor |
| Testosterone | 0.412 | 0.107–0.662 | Fair |
| Cortisol | 0.526 | 0.262–0.752 | Moderate |
| sTNFαRII | 0.828 | 0.689–0.920 | Very good |
| slgA | 0.879 | 0.805–0.942 | Very good |

n = 34 for each biomarker; ICC: intraclass correlation coefficient; CI: confidence interval; sAA: α-amylase; slgA: secretory IgA; sTNFαRII: soluble fraction of receptor II of tumor necrosis factor α

doi:10.1371/journal.pone.0166976.t004

most studies that either choose a narrow but too early time span in the morning (from 08:00 to 09:00) or others that collected samples from 08.30 to 17.00 hours. On one hand, detailed analysis of menstrual cycle phase has not revealed a significant influence on any of the biomarkers herein tested. On the other hand, sleep and stress are variables that had not been valued strictly and may have influenced the biomarkers concentrations. However, we have tried to minimize their impact by limiting the age-range, eliminating anxious persons, history of severe medical disease or with a psychiatric disorder or psychotherapy and leaving enough time up to the collection time to decrease the awakening response influence. Nevertheless, these influences should be taken in detailed consideration in further studies. Salivary flow can influence these potential biomarkers. We did not scrutinize flow rate in our subjects and, therefore, cannot correct the parameters for this variable. However, we tried to manage the potential sources of measurements error that can influence the flow rate; the technique, the collection duration and unstimulated saliva.[27] Anyhow, further studies should consider carefully this variable, particularly when future studies analyze subjects with pain receiving analgesic treatment. Environmental factors such as temperature, time of day, and humidity could have affected the saliva samples. These factors are known to affect other biomarker collections such as those in tears [46]. Although we tried to collect all samples under similar conditions, more strict control of them by the use of a controlled environmental chamber may improve the repeatability of the results. Few previous authors have taken these variables into consideration [47,48], therefore it is difficult to compare results among the studies.

Conclusion

Only sIgA and sTNF α RII showed acceptable levels of reproducibility in healthy subjects to be used as potential salivary biomarkers of pain. Whereas intersession variability is expected to be relatively uniform across different values for sIgA, for sTNF α RII tends to augment with increasing magnitude. More clinical studies are needed to validate and expand these findings to establish normal patterns and inter- and intra-individual variability in healthy people. These results could be useful for developing models to evaluate new strategies of pain management. Comparison of the values for healthy, pain-free individuals with those for people with pain, whether chronic or acute post-operative pain, could allow the development of models for the evaluation and control of pain. Finally, we provide the criteria for a clinically or, at least measurably, significant change, which would be one exceeding the reproducibility ($2.77 \times S_w$) of the estimate.

Supporting Information

S1 Table. Raw Data.
(XLSX)

Acknowledgments

We thank all of the participants in this study.

Author Contributions

Conceptualization: JCP MJM.

Data curation: IF.

Formal analysis: EMS IF JCP MJM.

Investigation: EMS RCA RR.

Methodology: EMS RR.

Resources: RR.

Supervision: JCP MJM.

Validation: RR.

Visualization: EMS IF JCP MJM RCA RR.

Writing – original draft: EMS IF JCP MJM RCA RR.

Writing – review & editing: EMS IF JCP MJM RCA RR.

References

1. Englbrecht M, Tarnier IH, van der Heijde DM, Manger B, Bombardier C, Muller-Ladner U (2012) Measuring pain and efficacy of pain treatment in inflammatory arthritis: a systematic literature review. *J Rheumatol Suppl* 90: 3–10. doi: [10.3899/jrheum.120335](https://doi.org/10.3899/jrheum.120335) PMID: [22942322](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22942322/)
2. Clark P, Lavielle P, Martinez H (2003) Learning from pain scales: patient perspective. *J Rheumatol* 30: 1584–1588. PMID: [12858463](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12858463/)
3. Williamson A, Hoggart B (2005) Pain: a review of three commonly used pain rating scales. *J Clin Nurs* 14: 798–804. doi: [10.1111/j.1365-2702.2005.01121.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2702.2005.01121.x) PMID: [16000093](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16000093/)
4. Hjermstad MJ, Fayers PM, Haugen DF, Caraceni A, Hanks GW, Loge JH, et al. (2011) Studies comparing Numerical Rating Scales, Verbal Rating Scales, and Visual Analogue Scales for assessment of pain intensity in adults: a systematic literature review. *J Pain Symptom Manage* 41: 1073–1093. doi: [10.1016/j.jpainsymman.2010.08.016](https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2010.08.016) PMID: [21621130](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21621130/)
5. Lund I, Lundeborg T, Sandberg L, Budh CN, Kowalski J, Svensson E (2005) Lack of interchangeability between visual analogue and verbal rating pain scales: a cross sectional description of pain etiology groups. *BMC Med Res Methodol* 5: 31. doi: [10.1186/1471-2288-5-31](https://doi.org/10.1186/1471-2288-5-31) PMID: [16202149](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16202149/)
6. Bell RF, Sivertsen A, Mowinkel P, Vindenes H (2001) A bilateral clinical model for the study of acute and chronic pain after breast-reduction surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 45: 576–582. PMID: [11309007](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11309007/)
7. Singla NK, Desjardins PJ, Chang PD (2014) A comparison of the clinical and experimental characteristics of four acute surgical pain models: dental extraction, bunionectomy, joint replacement, and soft tissue surgery. *Pain* 155: 441–456. doi: [10.1016/j.pain.2013.09.002](https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.09.002) PMID: [24012952](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24012952/)
8. Shibata M, Kawai M, Matsukura T, Heike T, Okanoya K, Myowa-Yamakoshi M (2013) Salivary biomarkers are not suitable for pain assessment in newborns. *Early Hum Dev* 89: 503–506. doi: [10.1016/j.earlhumdev.2013.03.006](https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2013.03.006) PMID: [23583069](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23583069/)
9. Marchi A, Vellucci R, Mameli S, Rita Piredda A, Finco G (2009) Pain biomarkers. *Clin Drug Investig* 29 Suppl 1: 41–46.
10. Muller MJ (2011) Helplessness and perceived pain intensity: relations to cortisol concentrations after electrocutaneous stimulation in healthy young men. *Biopsychosoc Med* 5: 8. doi: [10.1186/1751-0759-5-8](https://doi.org/10.1186/1751-0759-5-8) PMID: [21718526](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21718526/)
11. Robles TF, Sharma R, Park KS, Harrell L, Yamaguchi M, Shetty V (2012) Utility of a salivary biosensor for objective assessment of surgery-related stress. *J Oral Maxillofac Surg* 70: 2256–2263. doi: [10.1016/j.joms.2012.03.005](https://doi.org/10.1016/j.joms.2012.03.005) PMID: [22677332](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22677332/)
12. da Silva Campos MJ, Souza Alves CC, Barbosa Raposo NR, Ferreira AP, Farinazzo Vitral RW (2010) Influence of salivary secretory immunoglobulin A level on the pain experienced by orthodontic patients. *Med Sci Monit* 16: CR405–409. PMID: [20802411](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20802411/)
13. Choi JC, Chung MI, Lee YD (2012) Modulation of pain sensation by stress-related testosterone and cortisol. *Anaesthesia* 67: 1146–1151. doi: [10.1111/j.1365-2044.2012.07267.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.2012.07267.x) PMID: [22804789](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22804789/)
14. Goodin BR, Quinn NB, King CD, Page GG, Haythornthwaite JA, Edwards RR, et al. (2012) Salivary cortisol and soluble tumor necrosis factor-alpha receptor II responses to multiple experimental modalities of acute pain. *Psychophysiology* 49: 118–127. doi: [10.1111/j.1469-8986.2011.01280.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2011.01280.x) PMID: [21895688](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21895688/)
15. Maruyama Y, Kawano A, Okamoto S, Ando T, Ishitobi Y, Tanaka Y, et al. (2012) Differences in salivary alpha-amylase and cortisol responsiveness following exposure to electrical stimulation versus the Trier Social Stress Tests. *PLoS One* 7: e39375. doi: [10.1371/journal.pone.0039375](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039375) PMID: [22859941](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22859941/)

16. Vining RF, McGinley RA (1987) The measurement of hormones in saliva: possibilities and pitfalls. *J Steroid Biochem* 27: 81–94. PMID: [3320544](#)
17. McLean SA, Williams DA, Harris RE, Kop WJ, Groner KH, Ambrose K, et al. (2005) Momentary relationship between cortisol secretion and symptoms in patients with fibromyalgia. *Arthritis Rheum* 52: 3660–3669. doi: [10.1002/art.21372](#) PMID: [16258904](#)
18. Torres-Harding S, Sorenson M, Jason L, Maher K, Fletcher MA, Reynolds N, et al. (2008) The associations between basal salivary cortisol and illness symptomatology in chronic fatigue syndrome. *J Appl Biobehav Res* 13: 157–180. PMID: [19701493](#)
19. Petrelluzzi KF, Garcia MC, Petta CA, Grassi-Kassisse DM, Spadari-Bratfisch RC (2008) Salivary cortisol concentrations, stress and quality of life in women with endometriosis and chronic pelvic pain. *Stress* 11: 390–397. doi: [10.1080/10253890701840610](#) PMID: [18800310](#)
20. Kanegane K, Penha SS, Munhoz CD, Rocha RG (2009) Dental anxiety and salivary cortisol levels before urgent dental care. *J Oral Sci* 51: 515–520. PMID: [20032602](#)
21. Hanson D, Hall W, Mills LL, Au S, Bhagat R, Hernandez M, et al. (2010) Comparison of distress and pain in infants randomized to groups receiving standard versus multiple immunizations. *Infant Behav Dev* 33: 289–296. doi: [10.1016/j.infbeh.2010.03.003](#) PMID: [20362342](#)
22. Tornhage CJ (2009) Salivary cortisol for assessment of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Neuroimmunomodulation* 16: 284–289. doi: [10.1159/000216186](#) PMID: [19571589](#)
23. Tornhage CJ, Alfvén G (2006) Diurnal salivary cortisol concentration in school-aged children: increased morning cortisol concentration and total cortisol concentration negatively correlated to body mass index in children with recurrent abdominal pain of psychosomatic origin. *J Pediatr Endocrinol Metab* 19: 843–854. PMID: [16886592](#)
24. Paris JJ, Franco C, Sodano R, Freidenberg B, Gordis E, Anderson DA, et al. (2010) Sex differences in salivary cortisol in response to acute stressors among healthy participants, in recreational or pathological gamblers, and in those with posttraumatic stress disorder. *Horm Behav* 57: 35–45. doi: [10.1016/j.yhbeh.2009.06.003](#) PMID: [19538960](#)
25. Nater UM, Rohleder N, Schlotz W, Ehler U, Kirschbaum C (2007) Determinants of the diurnal course of salivary alpha-amylase. *Psychoneuroendocrinology* 32: 392–401. doi: [10.1016/j.psyneuen.2007.02.007](#) PMID: [17418498](#)
26. Harmon AG, Towe-Goodman NR, Fortunato CK, Granger DA (2008) Differences in saliva collection location and disparities in baseline and diurnal rhythms of alpha-amylase: a preliminary note of caution. *Horm Behav* 54: 592–596. doi: [10.1016/j.yhbeh.2008.05.019](#) PMID: [18640119](#)
27. Beltzer EK, Fortunato CK, Guaderrama MM, Peckins MK, Garramone BM, Granger DA (2010) Salivary flow and alpha-amylase: collection technique, duration, and oral fluid type. *Physiol Behav* 101: 289–296. doi: [10.1016/j.physbeh.2010.05.016](#) PMID: [20515701](#)
28. Hirose N, Kato J (2009) [Device for measuring salivary alpha-amylase—application for pain assessment]. *Masui* 58: 1360–1366. PMID: [19928502](#)
29. Goodin BR, Quinn NB, Kronfli T, King CD, Page GG, Haythornthwaite JA, et al. (2012) Experimental pain ratings and reactivity of cortisol and soluble tumor necrosis factor-alpha receptor II following a trial of hypnosis: results of a randomized controlled pilot study. *Pain Med* 13: 29–44. doi: [10.1111/j.1526-4637.2011.01293.x](#) PMID: [22233394](#)
30. Golatowski C, Salazar MG, Dhople VM, Hammer E, Kocher T, Jehmlich N, et al. (2013) Comparative evaluation of saliva collection methods for proteome analysis. *Clin Chim Acta* 419: 42–46. doi: [10.1016/j.cca.2013.01.013](#) PMID: [23384500](#)
31. Hirshoren N, Tzoran I, Makrienko I, Edoute Y, Plawner MM, Itskovitz-Eldor J, et al. (2002) Menstrual cycle effects on the neurohumoral and autonomic nervous systems regulating the cardiovascular system. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 1569–1575. doi: [10.1210/jcem.87.4.8406](#) PMID: [11932284](#)
32. Hsieh SF, Shen LL, Su SY (2016) Tongue color changes within a menstrual cycle in eumenorrheic women. *J Tradit Complement Med* 6: 269–274. doi: [10.1016/j.jtcme.2015.07.004](#) PMID: [27419092](#)
33. R Core Team (2014) R: A language and environment for statistical computing.
34. Schielzeth H, Nakagawa S (2011) rptR: Repeatability for Gaussian and non-Gaussian data. R package.
35. Bland M (2000) Clinical measurement. In: Bland M, editor. *An introduction to medical statistics*. 3rd ed. Oxford, UK: Oxford University Press. pp. 269–294.
36. Euser AM, Dekker FW, le Cessie S (2008) A practical approach to Bland-Altman plots and variation coefficients for log transformed variables. *J Clin Epidemiol* 61: 978–982. doi: [10.1016/j.jclinepi.2007.11.003](#) PMID: [18468854](#)
37. de Vet HC, Terwee CB, Knol DL, Bouter LM (2006) When to use agreement versus reliability measures. *J Clin Epidemiol* 59: 1033–1039. doi: [10.1016/j.jclinepi.2005.10.015](#) PMID: [16980142](#)

38. Bland JM, Altman DG (1996) Measurement error. *BMJ* 313: 744. PMID: [8819450](#)
39. Bland JM, Altman DG (1996) Measurement error proportional to the mean. *BMJ* 313: 106. PMID: [8688716](#)
40. Portney LG, Watkins MP (2000) *Foundations of clinical research: applications to practice*. Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall.
41. Nater UM, Rohleder N (2009) Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. *Psychoneuroendocrinology* 34: 486–496. doi: [10.1016/j.psyneuen.2009.01.014](#) PMID: [19249160](#)
42. Strimbu K, Tavel JA (2010) What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS* 5: 463–466. doi: [10.1097/COH.0b013e32833ed177](#) PMID: [20978388](#)
43. Malamud D (2011) Saliva as a diagnostic fluid. *Dent Clin North Am* 55: 159–178. doi: [10.1016/j.cden.2010.08.004](#) PMID: [21094724](#)
44. Bosch JA, Veerman EC, de Geus EJ, Proctor GB (2011) alpha-Amylase as a reliable and convenient measure of sympathetic activity: don't start salivating just yet! *Psychoneuroendocrinology* 36: 449–453. doi: [10.1016/j.psyneuen.2010.12.019](#) PMID: [21295411](#)
45. Domzal T, Szczudlik A, Kwasucki J, Zaleska B, Lypka A (1983) Plasma cortisol concentrations in patients with different circadian pain rhythm. *Pain* 17: 67–70. PMID: [6634213](#)
46. Teson M, Gonzalez-Garcia MJ, Lopez-Miguel A, Enriquez-de-Salamanca A, Martin-Montanez V, Benito MJ, et al. (2013) Influence of a controlled environment simulating an in-flight airplane cabin on dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54: 2093–2099. doi: [10.1167/iovs.12-11361](#) PMID: [23412090](#)
47. Izawa S, Kim K, Akimoto T, Ahn N, Lee H, Suzuki K (2009) Effects of cold environment exposure and cold acclimatization on exercise-induced salivary cortisol response. *Wilderness Environ Med* 20: 239–243. doi: [10.1580/07-WEME-OR-123R2.1](#) PMID: [19737029](#)
48. Perroni F, Tessitore A, Cibelli G, Lupo C, D'Artibale E, Cortis C, et al. (2009) Effects of simulated fire-fighting on the responses of salivary cortisol, alpha-amylase and psychological variables. *Ergonomics* 52: 484–491. doi: [10.1080/00140130802707873](#) PMID: [19401900](#)

ANEXOS

- **ANEXO I**
Informe de aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario de Valladolid para el trabajo número 2.
- **ANEXO II**
Informe de aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario de Valladolid para el trabajo número 3.
- **ANEXO III**
Consentimiento Informado para el trabajo número 2.
- **ANEXO IV**
Consentimiento Informado para el trabajo número 3.

- ANEXO I -

Informe de aprobación del Comité Ético de
Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario
de Valladolid para el trabajo número 2



**COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA
ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE (CEIC-VA-ESTE-HCUV)**

Valladolid a 28 de Agosto de 2014

En la reunión del CEIC ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE del 28 de Agosto de 2014, se procedió a la evaluación de los aspectos éticos del siguiente proyecto de investigación.

A continuación les señalo los acuerdos tomados por el CEIC ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE en relación a dicho Proyecto de Investigación:

| | | |
|-----------|--|--|
| PI 14-185 | ESTUDIO CLÍNICO PILOTO PARA EVALUAR LA CORRELACION ENTRE DOLOR OCULAR POSTQUIRÚRGICO (TRAS CIRUGÍA DE ABLACIÓN DE SUPERFICIE AVANZADA CORNEAL) Y LAS CONCENTRACIONES DE BIOMARCADORES EN SALIVA Y LÁGRIMA. | I.P.: MIGUEL MALDONADO LÓPEZ, EVA MARÍA SOBAS ABAD EQUIPO: JOSE CARLOS PASTOR JIMENO IOBA RECIBIDO: 07-07-2014 |
|-----------|--|--|

Considerando que el Proyecto contempla los Convenios y Normas establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética, se hace constar el **informe favorable** y la **aceptación** del Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud Valladolid Este para que sea llevado a efecto dicho Proyecto de Investigación.

Un cordial saludo.

Dr. F. Javier Álvarez.
CEIC Área de Salud Valladolid Este –
Hospital Clínico Universitario de Valladolid
Farmacología
Facultad de Medicina,
Universidad de Valladolid,
c/ Ramón y Cajal 7,
47005 Valladolid
alvarez@med.uva.es
jalvarezgo@saludcastillayleon.es
tel.: 983 423077

- ANEXO II -

Informe de aprobación del Comité Ético de
Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario
de Valladolid para el trabajo número 3



**COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA
ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE (CEIC-VA-ESTE-HCUV)**

Valladolid 21 de Febrero de 2013

En la reunión del CEIC del Área de Valladolid – Este de 21 de Febrero de 2013, se procedió a la evaluación del Proyecto de Investigación que a continuación se señala:

| | | |
|----------|--|--|
| PI-13-55 | EVALUACIÓN DE REPETIBILIDAD DE DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS EN SALIVA EN VOLUNTARIOS SANOS RELACIONADAS CON EL DOLOR AGUDO, NEUROPÁTICO Y POSTQUIRÚRGICO. | Dr. JOSÉ CARLOS PASTOR JIMENO IOBA Recibido: 15-01-2013 |
|----------|--|--|

A continuación les señalo los acuerdos tomados por el CEIC ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE en relación a dicho Proyecto de Investigación:

Considerando que el Proyecto contempla los Convenios y Normas establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética, se hace constar el **informe favorable** y la **aceptación** del Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud Valladolid Este para que sea llevado a efecto dicho Proyecto de Investigación.

Un cordial saludo.



F. Javier Álvarez

Prof. F. Javier Álvarez.
CEIC Área de Valladolid Este - Hospital Clínico Universitario de Valladolid
Farmacología
Facultad de Medicina,
Universidad de Valladolid,
c/ Ramón y Cajal 7,
47005 Valladolid
alvarez@med.uva.es
jalvarezgo@saludcastillayleon.es
tel: 983 423077

- ANEXO III -

Consentimiento Informado para el trabajo número 2

CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

Estudio clínico piloto para evaluar la correlación del dolor ocular postquirúrgico (tras cirugía de Ablación de Superficie Avanzada corneal) y biomarcadores en saliva y lágrima.

Yo, _____ (nombre y apellidos)

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He hablado con: _____
(nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera.
- Sin tener que dar explicaciones.
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Y consiento que los datos clínicos referentes a mi enfermedad sean almacenados en un fichero automatizado cuya información podrá ser manejada exclusivamente con fines científicos, siempre que la información referente a mi persona sea disociada.

Presto libremente mi consentimiento para participar en el estudio.

Firma del participante

Firma del investigador

Fecha: ____ / ____ / ____

Fecha: ____ / ____ / ____

De conformidad con la normativa vigente en materia de protección de datos, usted consiente expresamente a la inclusión de los datos de su historia clínica así como los resultantes de su participación en el estudio en un fichero de datos personales bajo la responsabilidad del Centro.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio y sus colaboradores, autoridades sanitarias, Comité Ético de Investigación y a los monitores y auditores del promotor, quienes estarán sometidos al deber de secreto inherente a su profesión, cuando lo precisen, para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

Por último, Usted puede ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición de datos, para lo cual deberá dirigirse al Centro donde se haya desarrollado el estudio:

Copia para el paciente

CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

Estudio clínico piloto para evaluar la correlación del dolor ocular postquirúrgico (tras cirugía de Ablación de Superficie Avanzada corneal) y biomarcadores en saliva y lágrima.

Yo, _____ (nombre y apellidos)

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.

- He podido hacer preguntas sobre el estudio.

- He recibido suficiente información sobre el estudio.

- He hablado con: _____
(nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera.

- Sin tener que dar explicaciones.

- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Y consiento que los datos clínicos referentes a mi enfermedad sean almacenados en un fichero automatizado cuya información podrá ser manejada exclusivamente con fines científicos, siempre que la información referente a mi persona sea disociada.

Presto libremente mi consentimiento para participar en el estudio.

Firma del participante

Firma del investigador

Fecha: ____ / ____ / ____

Fecha: ____ / ____ / ____

De conformidad con la normativa vigente en materia de protección de datos, usted consiente expresamente a la inclusión de los datos de su historia clínica así como los resultantes de su participación en el estudio en un fichero de datos personales bajo la responsabilidad del Centro.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio y sus colaboradores, autoridades sanitarias, Comité Ético de Investigación y a los monitores y auditores del promotor, quienes estarán sometidos al deber de secreto inherente a su profesión, cuando lo precisen, para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

Por último, Usted puede ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición de datos, para lo cual deberá dirigirse al Centro donde se haya desarrollado el estudio:

Copia para el investigador

- ANEXO IV -

Consentimiento Informado para el trabajo número 3

Consentimiento informado para el estudio de repetibilidad de determinaciones bioquímicas en saliva en voluntarios sanos relacionadas con el dolor agudo, neuropático y postquirúrgico

Código del Estudio:

Yo (nombre y apellidos)

.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado.
He podido hacer preguntas sobre el estudio.
He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con:

.....

(nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.
Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

- Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

- Para cumplir con lo establecido en el Real Decreto 1716/2011, del 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de muestras biológicas de origen humano, está previsto que las muestras se destruyan a los tres meses de finalizar el proyecto.

SI NO

Firma del paciente:

Firma del investigador:

Nombre:

Nombre:

Fecha:

Fecha:

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID



*Sólo aquellos que se arriesgan a
correr muy lejos, son conscientes de
lo lejos que pueden llegar*

