



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**

---

---

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**  
**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
**DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL**  
**UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES C. M. N. SIGLO XXI**

**EFFECTOS CLÍNICOS EN EL EPITELIO CORNEAL CON EL USO DE  
SUERO AUTÓLOGO VERSUS PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN  
PACIENTES CON OJO SECO EN SÍNDROME DE SJÖGREN**

TESIS QUE PRESENTA

**DRA. CLAUDIA INÉS GALINDO GALINDO**

PARA OBTENER EL DIPLOMA  
EN LA ESPECIALIDAD EN  
**OFTALMOLOGÍA**

**ASESOR DE TESIS:**

**DRA. IRMA HUERTA ALBAÑIL**

México, D.F. Febrero 2015

---

---

---

---





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**I. EFECTOS CLÍNICOS EN EL EPITELIO CORNEAL CON EL USO DE SUERO AUTÓLOGO VERSUS PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN PACIENTES CON OJO SECO EN SÍNDROME DE SJÖGREN**

Investigador principal (Asesor de Tesis): **Dra. Irma Huerta Albañil**. Médico de base asignado al servicio de Córnea de la Unidad Médica de Alta Especialidad de Centro Médico Nacional Siglo XXI. División de Oftalmología

E-mail: irmhail@hotmail.com

Tesista: **Dra. Claudia Inés Galindo Galindo**. Médico Residente de tercer año de CMNSXXI, HE, División de oftalmología.

E-mail: claudia\_galindo85@hotmail.es

Teléfono móvil: 5533324492



**Dirección de Prestaciones Médicas**  
Unidad de Educación, Investigación y Política de Salud  
Coordinación de Investigación Clínica



2014 Año de Trabajo Seguro

**Dictamen de Autorización**

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 360  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPÚLVEDA GUTIÉRREZ, CENTRO MÉDICO NACIONAL DR. JOSÉ  
D.F. SUR

REC. A 09/07/2014

**DR. IRMA HUERTA ALBANI**

**P R E S E N T E**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

**EFFECTOS CLÍNICOS EN EL EPITELIO CORNEAL CON EL USO DE SUERO AUTÓLOGO VERSUS PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN PACIENTES CON OJO SECO EN SÍNDROME DE SJÖGREN**

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro Institucional:

Núm. de Registro
R-2014-3601-171

ATENTAMENTE

**DR. (A) CARLOS FREDY CUEVAS GARCIA**  
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 360

**IMSS**  
INSTITUTO MEXICANO DE SEGURIDAD SOCIAL

DOCTORA  
DIANA G. MENEZ DIAZ  
JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN EN SALUD  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI

DOCTOR  
ENRIQUE ESCANIO CORTÉS  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN OFTALMOLOGÍA

DOCTORA  
IRMA HUERTA ALBAÑÍL  
OFTALMOLOGÍA  
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE CórNEA

## AGRADECIMIENTOS

A **Sebastián**, por ser mi ángel, mi motor y mi motivo.

A mi mamá por su ejemplo intachable, su lucha incansable y su amor incondicional.

A mi Pau por ser mi mano derecha, a veces también la izquierda y a mi hermano por siempre estar a mi lado.

A mi papá por todo su amor y su apoyo.

A la Dra. Irma Huerta y al Dr. Joaquín Verduzco, mis asesores.

A todos mis maestros, desde mis médicos de base hasta mis R1 por 3 meses, porque de todos he aprendido mucho o poco de la oftalmología y de la vida.

A Don Genaro Galindo, siempre en mi corazón abuelo.

Y sobre todo a Dios, porque sin fé nada tiene sentido.

## ÍNDICE

Resumen		7	
Requisito universitario		13	
Marco teórico		14	
	Introducción	14	
	Epidemiología	15	
	Clasificación	16	
	Fisiopatología	23	
	Clínica	25	
	Auxiliares diagnósticos	26	
	Escala de severidad	27	
	Tratamiento	28	
		Suero autólogo	34
		Plasma rico en plaquetas	39
	Calidad de vida	42	
Justificación		44	

Planteamiento del problema y pregunta de investigación	45
Hipótesis	46
Objetivos	47
Material y métodos	48
Variables del estudio	56
Recursos	58
Consideraciones éticas	59
Cronograma de actividades	61
Resultados	62
Discusión	66
Conclusiones	69
Anexos	70
Bibliografía	85



## RESUMEN

**Antecedentes.** La reparación de heridas corneales está mediada por diversas proteínas que son inductoras de la migración, proliferación y diferenciación celular; estas proteínas incluyen factores de crecimiento epitelial, factores de crecimiento de fibroblastos y factores de crecimiento plaquetario. Para el tratamiento de estas lesiones en los últimos 15 años se han instaurado dos vertientes provenientes del mismo fundamento biológico, uno es el tratamiento con suero autólogo que es un fluido componente de la sangre y contiene albúmina e inmunoglobulina y se ha reportado su uso con resultados exitosos para enfermedades oculares externas en particular queratoconjuntivitis sicca y defectos epiteliales persistentes. El otro es el plasma rico en plaquetas que provee de una alta concentración de factores de crecimiento esenciales y moléculas de adhesión celular que juegan un papel principal en la reparación de heridas.

**Objetivo.** Determinar los beneficios objetivos y subjetivos del uso del suero autólogo y del plasma rico en plaquetas en el epitelio corneal en los pacientes con Ojo Seco en Síndrome de Sjögren del Servicio de Córnea de la División de Oftalmología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

**Material y métodos.** Es un estudio analítico, experimental, transversal, aleatorizado y prospectivo. Se reclutaron pacientes adscritos al servicio de córnea con diagnóstico de ojo seco en Síndrome de Sjögren. Los pacientes fueron examinados antes del tratamiento y a las 4 semanas. Los síntomas se recabaron en cada visita, se realizó cuestionario para ojo seco al inicio y término del tratamiento. El examen clínico incluyó

agudeza y capacidad visual, biomicroscopía con lámpara de hendidura y tinción con fluoresceína.

**Tiempo a desarrollar el estudio:** Tiempo aproximado de realización a partir de la aprobación de protocolo 3 meses.

**Análisis estadístico:** Se realizó un Análisis univariado en el que, para las variables cuantitativas se obtuvieron medidas paramétricas y no paramétricas así como proporciones para las cualitativas. En el análisis bivariado, para las variables cualitativas se utilizó ji cuadrada, test exacto de Fisher y Z de proporciones según el caso y para las variables cuantitativas T de Student y U de Mann-Whitney y Kruskal Wallis, se consideró como variables estadísticamente significativas cuando se obtuvo un valor de  $p < 0.05$ .

**Resultados:** Se incluyeron 22 pacientes. El 95.5% género femenino contra un 0.5% del género masculino; la mediana de edad 57 años. La mayoría de los pacientes se dedican al Hogar con el 54.5% de los casos. El tiempo de evolución del Síndrome de Sjögren fue una mediana de 4 años.

Las principales enfermedades sistémicas son la artritis reumatoide con el 63.6%, hipertensión con 27.3% y la dislipidemia con un 22.7%. Los medicamentos sistémicos más usados son AINES, esteroides e IECA (59.1%, 27.3% y 18.2%), los medicamentos tópicos fueron lubricantes (77.3%), esteroides (18.2%) y con el mismo porcentaje inmunológicos.

Se encontró una agudeza visual (AV) basal con una media de 0.26 la cual se incrementó a 0.29, con una p significativa de 0.0001; la capacidad visual (CV) al inicio

del estudio fue de una media de 0.35 con una desviación estándar  $\pm 0.03$ , con un aumento a las 4 semanas de 0.42 (con  $p = 0.0008$ ). El Área de tinción de fluoresceína (QPP Área%) disminuyó un 3.32% respecto a la basal; un mismo efecto se presentó en la Densidad de tinción con fluoresceína (QPP DEN +) con una diferencia de 0.8%. Respecto a la sintomatología el 85% presentaban fotofobia y sensación de cuerpo extraño, la cual persistió en un total de 6 y 13 ojos en la revaloración respectivamente. En cuanto al dolor fue referido en 18 ojos, el cual tras la aplicación de la terapéutica, solo persistió en uno de ellos. Por lo anterior se presenta una mejoría clínica del 95%. El suero autólogo se aplicó a 10 pacientes, AV y CV se obtuvo una media de 0.25 y 0.36 con una desviación estándar de  $\pm 0.03$  y  $\pm 0.05$  respectivamente; con un incremento de la media a las 4 semanas de 0.31 y 0.42. El QPP Área%, presentó una media de 21.23% en la basal, con un decremento en la misma de 5.22% a las 4 semanas de tratamiento; se apreció un fenómeno parecido en la QPP DEN + con una diferencia en la media de 1.12% respecto a la basal. En cuanto a la sintomatología, al inicio del estudio el 94.44% presentaban fotofobia y en la segunda valoración solamente 11.11%. La sensación de cuerpo extraño se eliminó en 9 de los 16 ojos referidos al inicio. Por otro lado el dolor se presentó en 9 ojos al comienzo del estudio el cual desapareció en 8 a las 4 semanas. De forma subjetiva se encontró una mejoría del 100%.

El plasma rico en plaquetas se aplicó a 12 pacientes, con una media basal en la AV de 0.26 y una desviación estándar de  $\pm 0.03$ , con un ligero incremento a las 4 semanas de 0.02, manteniendo la desviación estándar y una  $p$  significativa de 0.005. En la CV se inició con una media de 0.34 incrementando a 0.42. Tanto QPP Área% y QPP DEN +,

presentaron una disminución de 20.98% y 2.12% respecto de la basal. La fotofobia fue referida en 17 ojos y sensación de cuerpo extraño en 18, de los cuales persistió en 18.18% y 27.27%. Por otro lado el dolor fue reportado en 9 ojos al inicio, de los cuales el 100% de ellos mejoró con el PRP, presentado una p significativa de 0.0001. La mejoría subjetiva fue de 90.91%.

**Discusión:** En nuestro estudio, tras la aplicación de suero autólogo y plasma rico en plaquetas, y al hacer una comparación a través de la sintomatología y la exploración antes y después del tratamiento, se observa un comportamiento similar en la exploración. Ambas pruebas mejoraron la agudeza visual y la capacidad visual. El Área de tinción de fluoresceína (QPP Área%) y la Densidad de tinción con fluoresceína (QPP DEN +) disminuyeron.

La sintomatología también tiene un comportamiento similar, se disminuyó la fotofobia y la sensación de cuerpo extraño, en ambas pruebas, por otro lado el dolor se redujo considerablemente tras la aplicación de plasma rico en plaquetas. La mejoría subjetiva total se incrementó de manera más importante con el suero autólogo. Sin embargo, no en todas las variables se pudo demostrar una significancia estadística; esto se puede deber principalmente al tamaño de la muestra.

## **SUMMARY**

### **CLINICAL EFFECTS IN THE CORNEAL EPITHELIUM USING AUTOLOGOUS SERUM VERSUS PLATELET-RICH PLASMA IN PATIENTS WITH EYE DRY IN SJOGREN'S SYNDROME**

Introduction. Corneal wound repair is mediated by proteins inducing migration, cell proliferation and differentiation. For treatment have been established two sides of the same biological basis: autologous serum, blood component with albumin and immunoglobulin successful use for external eye diseases and especially keratoconjunctivitis sicca and persistent epithelial defects; and platelet-rich plasma that provides a high concentration of essential growth factors and adhesion molecules.

Objective. Determine the objective and subjective benefits of using autologous serum and platelet-rich plasma in patients with dry eye in Sjögren's syndrome.

Material and methods. Analytical, experimental, cross-sectional, prospective, randomized study. Patients were examined before treatment and 4 weeks. Symptoms and examination of visual acuity, biomicroscopy and fluorescein staining were collected.

Results: 22 patients were included. Female 95.5% against 0.5% of the male gender; the median age 57 years. Most patients are dedicated to home with 54.5% of cases. The time evolution of Sjögren was a median of 4 years.

The major systemic diseases are rheumatoid arthritis with 63.6%, 27.3% hypertension and dyslipidemia with 22.7%. The most commonly used systemic medications are

NSAIDs, steroids and ACEI (59.1%, 27.3% and 18.2%); topical medications were lubricants (77.3%), drugs (18.2%) and the same percentage immune.

Baseline visual acuity (VA) with an average of 0.26 which increased to 0.29, with a significant p of 0.0001 was found; visual capacity (VC) at baseline was an average of 0.35 with a standard deviation  $\pm 0.03$ , up to 4 weeks of 0.42 (p 0.0008). The area fluorescein staining (QPP Area %) decreased 3.32% compared to baseline; the same effect occurred in fluorescein staining density (QPP DEN +) with a difference of 0.8%. Regarding the 85% showed symptoms photophobia and foreign body sensation, which persisted in a total of 6 and 13 eyes in the reevaluation respectively. As was referred to pain in eyes 18, which after application of the treatment, only one persisted. Therefore clinical improvement of 95% is presented.

Discussion: The results provide evidence of the beneficial effect of both autologous serum and plasma for the treatment of ocular disease in Sjögren's syndrome; we did not found statistical difference between both of them.

## REQUISITO UNIVERSITARIO

1. Datos del alumno	1. Datos del alumno
Apellido paterno	Galindo
Apellido materno	Galindo
Nombre	Claudia Inés
Teléfono	5533324492
Universidad	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad o escuela	Facultad de Medicina
Carrera	Grado de especialización
No. De cuenta	511211401
2. Datos del asesor	2. Datos del asesor
Apellido paterno	Huerta
Apellido materno	Albañil
Nombre	Irma
3. Datos de la tesis	3. Datos de la tesis
Título	Efectos clínicos en el epitelio corneal con el uso de suero autólogo versus plasma rico en plaquetas en pacientes con ojo seco en Síndrome de Sjögren
Subtítulo	
No. De páginas	89
Año	2015
Número de registro	R-2014-3601-171

## MARCO TEÓRICO

### □ Introducción

De acuerdo al Reporte del Subcomité de la Definición y Clasificación del Taller de Ojo Seco, DEWS por sus siglas en inglés (Dry Eye WorkShop) en el 2007 el ojo seco se define como una enfermedad multifactorial de la lágrima y la superficie ocular que resulta en síntomas de discomfort,<sup>1-3</sup> alteraciones visuales<sup>4-6</sup> e inestabilidad de la película lagrimal<sup>7-9</sup> con daño potencial a la superficie ocular. Está acompañado de un aumento en la osmolaridad de la película lagrimal<sup>10-13</sup> e inflamación de la superficie ocular.

El Ojo Seco se reconoce como una alteración en la unidad funcional lagrimal, un sistema integral que comprende las glándulas lagrimales, la superficie ocular (córnea, conjuntiva y glándulas de Meibomio) y párpados, y los nervios sensitivos y motores relacionados.<sup>14</sup> Esta unidad funcional controla la mayor parte de los componentes de la película lagrimal en una manera regulada y responde a estímulos ambientales, endocrinológicos y corticales. Su función general es preservar la integridad de la película lagrimal, la transparencia de la córnea y la calidad de la imagen que se proyecta a la retina.<sup>14-17</sup>

Un aspecto importante en la unidad es el rol que desempeñan en el mantenimiento y la resistencia de la lágrima los impulsos sensoriales que van desde la superficie ocular. Actualmente se considera que la secreción lagrimal es un reflejo que responde a impulsos aferentes derivados en particular desde la superficie ocular. Algún daño o



enfermedad en cualquiera de los componentes de la unidad funcional puede desestabilizar a la película lagrimal y llevar a una enfermedad de la superficie ocular que se expresa como ojo seco o defectos en la superficie ocular y la córnea. La estabilidad de la película, una característica fundamental del ojo normal, se ve amenazada cuando la interacción entre la estabilidad de su película lagrimal y sus constituyentes está comprometida ya sea por una disminución en la secreción, retraso en su eliminación o alteración en la composición y la consecuencia es la inflamación de la superficie ocular. La secreción lagrimal refleja en respuesta a la irritación ocular es el mecanismo compensatorio inicial previsto pero con el tiempo la inflamación se acompaña de disfunción crónica en la secreción y disminución de la sensibilidad corneal lo que eventualmente compromete la respuesta refleja y resulta en una inestabilidad de la película lagrimal aún mayor. <sup>18</sup>

La diferencia entre ojo seco por deficiencia acuosa y ojo seco evaporativo no se contempla más en la definición sin embargo aún es importante para la clasificación etiopatológica.

#### □ **Epidemiología**

El síndrome de ojo seco es considerado un problema significativo de salud pública y se estima que afecta entre el 14% y 33% de la población alrededor del mundo. De acuerdo al reporte DEWS del 2007 la prevalencia del ojo seco varía del 5 al 30% en la población mayor de 50 años, se estima que cerca de 3.2 millones de mujeres y 1.7 millones de hombres de 50 años y más padecen ojo seco, otros estudios

norteamericanos estiman una tasa de 7 millones de mayores de 40 años con el padecimiento. En este mismo reporte se calcula un porcentaje de 5.7% en mujeres mayores de 50 años y un 9.8% en mujeres mayores de 75 años, en hombres se ha encontrado un 3.9% de los 50 a los 54 años y hasta 7.67% en hombres mayores de 80 años. <sup>19</sup>

Con lo anterior se confirma que la prevalencia del ojo seco aumenta con la edad, especialmente en mujeres postmenopáusicas. Burcin también encuentra aumento de la prevalencia en pacientes que se han sometido a cirugía refractiva, usuarios de lente de contacto, aquellos expuestos a factores ocupacionales, con enfermedades sistémicas asociadas (autoinmunidad, Diabetes Mellitus, enfermedad de Parkinson, etc.) y quienes utilizan ciertos medicamentos tópicos o sistémicos.<sup>19</sup> Decenas de millones más presentan síntomas de ojo seco leve que puede sólo ser significativo cuando hay un factor contribuyente agregado como baja humedad o uso de lentes de contacto.

#### □ **Clasificación**

Se ha determinado que en un paciente individual un esquema de clasificación puede proveer de una guía para el diagnóstico, sin embargo el clínico experto aplicando los criterios adecuados puede así establecer el diagnóstico. De cualquier manera la clasificación ha sido útil por más de una década pero no muestra conocimientos nuevos de mecanismos patológicos, efectos en la visión y la utilidad de establecer la severidad de la enfermedad. Recientemente dos esquemas nuevos de clasificación han sido publicados: la Triple Clasificación <sup>20,21</sup> y el reporte del panel Delphi. <sup>22</sup>

La Triple Clasificación presenta tres esquemas por separado uno basado en la etiopatogenia, otro basado en las glándulas y tejidos blandos en el ojo seco y otra basada en la severidad de la enfermedad.<sup>21</sup> Se determinó que esta clasificación es limitada en cuanto a evidencia por lo que no se adoptó en forma pero se incorporaron aspectos conceptuales al esquema final. El panel Delphi propuso un cambio en el nombre de "Enfermedad de Ojo Seco" a "Síndrome de Disfunción Lagrimal", sugiriendo que ese nombre reflejaba de manera más adecuada los eventos fisiopatológicos de la enfermedad, empero esto no se ha establecido debido al uso extendido en la literatura del nombre original.<sup>18</sup>

La clasificación final establecida por el Subcomité tiene las siguientes características: muestra la influencia de ambiente en el riesgo individual de desarrollar ojo seco. El término ambiente es usado tanto para la variación fisiológica entre individuos (*milieu interieur*) así como para las condiciones del ambiente donde se encuentre (su *milieu exterieur*).<sup>23, 24</sup> (Anexo 1)

Los tipos principales de ojo seco que se describieron desde 1995 siguen vigentes siendo ojo seco por deficiencia acuosa de la lágrima (ADDE por sus siglas en inglés aqueous tear-deficient dry eye) y ojo seco evaporativo (EDE evaporative dry eye). El ojo seco puede ser inicialmente de cualquier tipo pero no son mutuamente excluyentes pudiendo coexistir o desencadenarse uno al otro ocasionando un círculo vicioso.<sup>18</sup>

## 1. Ojo seco por deficiencia acuosa de la lágrima (ADDE)

Implica que el ojo seco es debido a una falla de la secreción lagrimal. Es cualquier forma de ojo seco debido a destrucción de los acinos lagrimales o su disfunción y la sequedad resulta de la disminución en la secreción y su volumen. Esto causa hiperosmolaridad de la lágrima ya que el agua se evapora de la superficie ocular a una tasa normal pero de una reserva reducida. La hiperosmolaridad de la película lagrimal causa hiperosmolaridad de las células epiteliales de la superficie ocular y estimula una cascada de eventos inflamatorios que involucran cinasas MAP y señales NF $\kappa$ B así como la generación de citosinas inflamatorias (IL-1 $\alpha$ ; -1 $\beta$ ; factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ) y metaloproteinasas (MMP-9).<sup>27</sup> Se desconoce si la evaporación está disminuida o aumentada en el ADDE, es posible que esto esté determinado por el estadio de la enfermedad.

ADDE tiene dos subclases mayores, Ojo seco en síndrome de Sjögren y ojo seco no-síndrome de Sjögren.

- a. Ojo seco en síndrome de Sjögren (SSDE). El síndrome de Sjögren es una exocrinopatía en la que las glándulas lagrimal y salival son blanco de un proceso autoinmune, otros órganos también pueden estar afectados. Las glándulas lagrimales y salivales están infiltradas por células T activadas que causan muerte de las células acinares y ductales e hiposecreción de lágrimas y saliva. La activación inflamatoria en las glándulas lleva a la

expresión de autoantígenos en la superficie de las células epiteliales y a la retención en el tejido de células CD4 y CD8 específicas.<sup>28</sup> La hiposecreción es amplificada por un bloqueo neurosensorial potencialmente reversible debido a los efectos locales de las citosinas inflamatorias liberadas o a la presencia de anticuerpos circulantes dirigidos contra receptores muscarínicos en las glándulas.<sup>29, 31</sup>

Existen dos formas de síndrome de Sjögren: SS primario que consiste en ADDE en combinación con síntomas de boca seca en presencia de evidencia de autoanticuerpos, evidencia de secreción salival disminuida y score positivo en la biopsia de glándula salival menor. El SS secundario consiste en las características del primario aunado a una enfermedad autoinmune del tejido conectivo como artritis reumatoide que es la más común o lupus eritematoso, poliarteritis nodosa, granulomatosis de Wegener, esclerosis sistémica, esclerosis biliar primaria o enfermedad mixta del tejido conectivo.

La sequedad ocular en el SSDE es debido a hiposecreción lagrimal y a los cambios inflamatorios característicos que la acompañan junto con la presencia de mediadores inflamatorios en la lágrima y conjuntiva. La frecuencia de disfunción de las glándulas de Meibomio en pacientes con SS es mayor que en la población general por lo que un defecto en el componente lipídico de la película lagrimal contribuye al ojo seco por un exceso en la evaporación.<sup>18</sup>

- b. Ojo seco no-síndrome de Sjögren (NSSDE). Es una forma de ADDE debido a disfunción lagrimal donde se han excluido características autoinmunes. El más común es el ojo seco relacionado con la edad. Existen diversas formas de NSSDE. (Anexo 2)

## 2. Ojo seco evaporativo

Es debido a una pérdida excesiva de agua desde la superficie ocular expuesta en presencia de una función secretoria normal. Sus causas se han descrito como intrínsecas donde hay una enfermedad afectando las estructuras de los párpados o su movilidad o extrínsecas donde el daño a la superficie ocular es debido a exposición externa.

### a. Causas intrínsecas

- 1. Disfunción de las glándulas de Meibomio: la DGM o blefaritis posterior se debe a la obstrucción de las glándulas de Meibomio y es la causa más común de ojo seco evaporativo.<sup>32-34</sup> Se asocia con múltiples padecimientos como rosácea, dermatitis seborréica y dermatitis atópica, y menos comúnmente con el tratamiento del acné vulgar con isotretinoína que lleva a la atrofia reversible de las glándulas, pérdida de la densidad acinar, disminución en el volumen y aumento de la viscosidad de la secreción. La DGM puede ser primaria o secundaria, simple o cicatrizal. En la simple los orificios de la glándula permanecen localizados en la piel del párpado, anteriores a la unión mucocutánea. En la cicatrizal los

orificios ductales se desplazan posteriormente en el párpado y la mucosa tarsal por lo que son incapaces de liberar la secreción oleosa a la superficie de la película lagrimal.

El resultado en caso de que la disfunción sea suficientemente extensa asociada con la deficiencia de la capa lipídica de la película es un aumento en la evaporación con predisposición a infecciones por las modificaciones del microambiente lipídico.<sup>18</sup>

2. Desórdenes de la apertura palpebral, congruencia o dinámica de los párpados: un aumento en la superficie expuesta a la evaporación puede ocurrir en casos de craneosinostosis, proptosis endócrina o de otro origen y en miopía alta. El exoftalmos endócrino y específicamente el aumento en la apertura de la hendidura palpebral está asociado con sequedad ocular e hiperosmolaridad de la lágrima. La sequedad ocular resulta por la exposición o por el pobre restablecimiento de la película lagrimal.<sup>18</sup>
3. Baja tasa de parpadeo: esto puede ocurrir como un fenómeno fisiológico durante la realización de ciertas tareas de concentración por ejemplo trabajando en terminales de video o microscopio o debido a un desorden extrapiramidal como la enfermedad de Parkinson donde la disminución en la tasa de parpadeo es debido a una disminución en la reserva de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra y es proporcional a la severidad de la enfermedad.

## b. Causas extrínsecas

1. Desórdenes de la superficie ocular: pueden llevar a una superficie con lubricación inadecuada, ruptura prematura de la película lagrimal, hiperosmolaridad de la lágrima y ojo seco. Las causas incluyen deficiencia de vitamina A y los efectos crónicos de la aplicación tópica de anestésicos y conservadores. En el caso de la deficiencia de vitamina A puede llevar a ojo seco (xeroftamia) por dos mecanismos distintos ya que es esencial para el desarrollo de las células Goblet en las membranas mucosas y para la expresión del glucocálix.<sup>35</sup> También esta deficiencia puede causar daño acinar y posteriormente agregar ojo seco por deficiencia acuosa. Muchos componentes de las fórmulas de gotas oculares pueden inducir una respuesta tóxica a partir de la superficie ocular, de estos los que causan más daño son los conservadores como el cloruro de benzalconio que causa daño a las células del epitelio y queratitis punteada. La anestesia tópica causa sequedad de dos maneras ya que reduce la secreción lagrimal por disminuir la vía sensitiva a la glándula lagrimal y reduce también la tasa de parpadeo.<sup>18</sup>
2. Uso de lentes de contacto
3. Enfermedad de la superficie ocular: se presenta por resultado en inestabilidad de la película lagrimal y se agrega pérdida de células de Goblet.



4. Conjuntivitis alérgica: el mecanismo general que lleva a esta enfermedad es la exposición a un antígeno que provoca la degranulación de IgE de los mastocitos con la liberación de citosinas inflamatorias, los linfocitos Th2 son activados en la superficie primero de la conjuntiva y después en el epitelio corneal con los subsecuentes cambios en la submucosa. Ocorre la muerte de las células epiteliales afectando conjuntiva y epitelio corneal. Los daños en la superficie y la liberación de mediadores inflamatorios lleva a los síntomas de alergia y a la estimulación refleja de la glándula lagrimal normal. Las irregularidades en la superficie corneal y en la conjuntiva pueden derivar en inestabilidad de la película lagrimal por lo tanto al componente de sequedad en la enfermedad alérgica ocular. En los casos crónicos puede haber disfunción de las glándulas de Meibomio que exagera el problema interfiriendo con la formación de la capa lipídica de la película.

#### □ **Fisiopatología**

Hasta el momento hemos revisado que existen ciertos mecanismos centrales en la patogenia del ojo seco que pueden iniciar, amplificar y potencialmente modificar el carácter de la enfermedad a través del tiempo, estos son la hiperosmolaridad de la lágrima y la inestabilidad de la película lagrimal. <sup>18</sup>

## Hiperosmolaridad de la lágrima

La hiperosmolaridad de la lágrima es considerada el mecanismo central que causa inflamación de la superficie ocular, daño y sus síntomas así como el inicio de los eventos compensadores en el ojo seco. Surge como resultado de la evaporación de agua de la superficie ocular expuesta en situaciones de poco flujo acuoso de la lágrima, por una evaporación excesiva o por la combinación de estos eventos. La hiperosmolaridad estimula una cascada de eventos inflamatorios en las células epiteliales superficiales involucrando cinasas MAP y NFκB así como la generación de citosinas inflamatorias (IL-1α; -1β; TNF-α) y mucopolisacáridos.<sup>36</sup>

En los estadios iniciales del ojo seco se considera que el daño a la superficie ocular es causado por estrés osmótico, inflamatorio o mecánico (pérdida de la lubricación superficial) que resulta en la estimulación refleja de la glándula lagrimal. Se piensa que la actividad del reflejo trigeminal es responsable del aumento en la tasa de parpadeo y de un aumento en la secreción lagrimal como respuesta compensadora. En el caso de insuficiencia de la glándula lagrimal el reflejo secretor será insuficiente para compensar la hiperosmolaridad de la película lagrimal, en estadios iniciales esta forma de ojo seco se caracteriza entonces por hiperosmolaridad con bajo volumen y flujo de lágrimas. En el caso del ojo seco evaporativo la secreción lagrimal inicialmente es capaz de compensar la hiperosmolaridad de la lágrima.<sup>18</sup>

La mayoría de los reportes,<sup>37</sup> sugieren que la sensibilidad corneal no va de la par con la enfermedad crónica sugiriendo que en el periodo inicial existe un reflejo sensorial

aumentado seguido de disminución en la sensibilidad en los casos crónicos. Esto podría ser resultado de los efectos a largo plazo de los mediadores inflamatorios en las terminales nerviosas sensitivas y existe evidencia de cambios morfológicos en el plexo nervioso sub-basal.<sup>38</sup>

### **Inestabilidad de la película lagrimal**

En algunas formas de ojo seco la inestabilidad de la película lagrimal puede ser el evento inicial sin relacionarse al principio con la hiperosmolaridad de la lágrima. Mientras una franca inestabilidad de la película es poco aceptada como un componente del ojo seco la mayoría de los estudios apoyan que la inestabilidad podría predisponer a complicaciones en el ojo seco en respuesta a estrés de la superficie ocular.<sup>18</sup>

#### **□ Clínica**

Las bases para los síntomas en el ojo seco no se conocen del todo pero se pueden considerar desde su etiología, mecanismo y respuesta al tratamiento. La presentación de los síntomas implica la activación de terminales nerviosas sensitivas y nociocéptivas de la superficie ocular.<sup>39</sup> Los síntomas típicos del ojo seco incluyen ardor, escozor y fotofobia además los pacientes con enfermedad crónica mal controlada se pueden quejar de visión borrosa, disminución de la capacidad de producción lagrimal e intolerancia a los lentes de contacto. Como resultado de estos síntomas el ojo seco tiene un impacto considerable en la función visual, las actividades cotidianas, el funcionamiento social y físico, la productividad en el trabajo y la calidad de vida.

## □ Auxiliares diagnósticos

Algunos de los recientes avances en los estudios diagnósticos pueden ayudar a explicar el mecanismo del ojo seco. Uchiyama et al.<sup>40</sup> establecieron la relación entre el grado y la localización en la superficie ocular de la tinción y el grado de deficiencia acuosa de la lágrima. Si es nasal o temporal únicamente se correlaciona con ojo seco leve, cuando la tinción es en ambas áreas implica ojo seco moderado y cuando la tinción es en ambas áreas con involucro corneal representa ojo seco severo. El verde de lisamina parece ser un método diagnóstico en desuso mientras que el test de aclaramiento de fluoresceína juega un papel más importante siendo útil también en pacientes con conjuntivochalasis y epifora.<sup>41</sup>

Serin et al. han discutido acerca del test diagnóstico de Schirmer determinando que los pacientes con ojos cerrados hay más rentabilidad del test ya que el margen palpebral y la estimulación de las pestañas pueden alterar la tasa de lagrimeo. El volumen de lágrima se encuentra en el menisco lagrimal. Un método consistente y reproducible para detectar la deficiencia de volumen podría ayudar a aclarar qué tipo de ojo seco presenta el paciente, se han evaluado el Tearscope Plus, el espectroscopio infrarrojo y de fluorescencia y el HRT II siendo necesarios estudios más amplios al respecto.<sup>42</sup>

La evaluación de los signos y síntomas del paciente combinado con los resultados de varios test pueden llevar al diagnóstico de ojo seco. Algunos de los estudios diagnósticos más comúnmente usados para la evaluación del ojo seco incluyen tinción con fluoresceína, tiempo de ruptura de la película lagrimal, test de Schirmer, tinción con

rosa de bengala, topografía corneal, citología de impresión y test de aclaramiento de fluoresceína. Estudios más recientes han identificado marcadores más específicos para diagnosticar y graduar la severidad del ojo seco incluyendo la osmolaridad lagrimal, la producción de inhibidores de metaloproteinasa y neuromediadores oculares.<sup>19</sup>

Se ha encontrado que la osmolaridad lagrimal es como medida única la mejor para determinar sensibilidad y especificidad por encima del tiempo de ruptura de la película lagrimal, la tinción corneal, la tinción conjuntival, el test de Schirmer y la graduación de las glándulas de Meibomio. En Estados Unidos y Europa se ha puesto especial interés en marcadores indirectos incluyendo la osmolaridad lagrimal y marcadores inflamatorios, y en opciones diagnósticas más específicas como guías para un tratamiento dirigido a la enfermedad de la superficie ocular.<sup>19</sup>

#### □ **Escala de severidad**

Las herramientas clínicas más usadas para graduar la severidad del ojo seco son por sintomatología (cuestionarios como el Índice de Enfermedad de la Superficie Ocular OSDI por sus siglas en inglés o el cuestionario McMonnies de Ojo Seco), el tiempo de ruptura de la película lagrimal, los test de fluoresceína o verde de lisamina en córnea y conjuntiva, la puntuación de la secreción meibomiana y el test de Schirmer.<sup>43</sup> La mayoría de estas mediciones son específicas para cada subtipo de enfermedad además de que son pobres en especificidad y dependen de la subjetividad del explorador lo que lleva a errores analíticos. A diferencia del conjunto de test utilizados

para el ojo seco la osmolaridad parece ser el indicador global de la enfermedad independientemente de su etiología.<sup>18</sup>

A partir de la comparación de diversos test diagnósticos para la queratoconjuntivitis sicca ya sea solos o en combinación con la determinación de la osmolaridad se ha determinado que esta puede llegar a ser aceptada como el estándar de oro para esta enfermedad ya que es el único signo que representa una correlación significativa entre pacientes normales y con enfermedad leve/moderada y en categorías severas.

A decir de diversos autores la osmolaridad de la película lagrimal debido a su objetividad, naturaleza cuantitativa e independencia del operador es individualmente la mejor medición clínica para determinar la severidad de la enfermedad.<sup>44</sup>

#### □ **Tratamiento**

La clasificación etiológica para el ojo seco generalmente no es útil en el establecimiento de un plan terapéutico. El Grupo de Trabajo Internacional desarrolló algoritmos para el tratamiento de acuerdo a la clasificación de gravedad y a la presencia de enfermedad del margen palpebral. Las recomendaciones del tratamiento se basan en la severidad de los síntomas como malestar o incomodidad, síntomas visuales, tinción de la córnea y conjuntiva, disfunción de las glándulas palpebrales, tiempo de ruptura lagrimal y resultado de Schirmer.<sup>45</sup>

1. Sustitutos de lágrimas. Una amplia variedad de sustitutos de lágrimas está disponible en el mercado, estos productos difieren en la composición de

electrolitos, osmolaridad, viscosidad, la presencia de preservativos y los solutos compatibles. Los sustitutos libres de preservativos son el paso inicial en el manejo médico del ojo seco, la meta al usar los sustitutos de lágrimas es aumentar la humedad en la superficie ocular y mejorar la lubricación. En los casos leves de ojo seco en los cuales no hay signos de daño a la conjuntiva o la córnea se puede obtener un tratamiento exitoso con lágrimas artificiales aplicadas hasta cuatro veces al día; en casos moderados donde la exploración revela daño leve a la córnea se requiere tratamiento más frecuente.<sup>45</sup>

Las preparaciones de acción corta hechas a base de carboxi-metilcelulosa o alcohol polivinílico mientras más larga su duración de acción más contienen gel de carbómero o parafina. Una fórmula de hidroxipropil metilcelulosa al 0.5% libre de conservador demostró ser efectiva para mejorar los síntomas en los pacientes con ojo seco en Síndrome de Sjögren y no Sjögren así como mejoría en las puntuaciones de la tinción corneal y conjuntival y en el tiempo de ruptura. De cualquier forma el uso de lágrimas artificiales tiene algunas limitaciones ya que las lágrimas naturales tienen una composición compleja de agua, sales, hidrocarburos, proteínas y lípidos que las lágrimas artificiales no pueden sustituir exactamente. Existen fórmulas que contienen ingredientes adicionales para aumentar el tiempo de contacto con la superficie ocular y superar este problema.

Algunos otros aditivos usados en la preparación de lágrimas artificiales son buffers que se emplean para mantener el pH lo más cerca posible al de las lágrimas naturales (7.4). Además, las formulaciones hipotónicas con electrolitos

se han desarrollado con el fundamento de la importancia de la osmolaridad lagrimal.<sup>45</sup>

Conforme el ojo seco progresa el uso de lágrimas artificiales no provee el mismo alivio de la sintomatología como las lágrimas naturales. El estudio Gallup en 2008 de pacientes con ojo seco encontró que el 67% de los participantes del estudio usaban lágrimas artificiales en el momento del estudio (n= 705) y que el nivel de insatisfacción con este tratamiento se incrementó del 4% en 2002 al 10% en 2008. Las inconformidades expresadas incluían corta duración del alivio de los síntomas (52%), frecuencia diaria de uso (44%) y que a pesar del tratamiento la enfermedad progresaba (11%).<sup>19</sup>

2. Suero autólogo. Las gotas oftálmicas de suero autólogo que se producen a partir del suero del paciente también son comúnmente usadas dependiendo de la severidad de la sequedad y la presencia de complicaciones oculares asociadas. Tiene propiedades bioquímicas y mecánicas similares más no idénticas a las lágrimas normales sin embargo su uso implica un riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas. Al tratarse este trabajo de su aplicación y utilidad precisa se describirán sus componentes y características más adelante.
3. Preservación de lágrimas. La oclusión de los puntos o canalículos lagrimales es una terapia no farmacológica muy común para el ojo seco. Se ha postulado que este sistema mejora la calidad y cantidad del componente acuoso de la película lagrimal ayudando con los síntomas del ojo seco. La decisión de bloquear el



sistema de drenaje debe ser tomada con sumo cuidado por los potenciales efectos indeseables de los tapones. Retardar el recambio de lágrima puede resultar en un aumento en la concentración de citosinas proinflamatorias causando desensibilización de la superficie corneal y promoviendo la inflamación, además es posible que aumente la toxicidad de otros medicamentos oculares que el paciente pudiera estar usando.<sup>45</sup>

4. Ciclosporina A. La ciclosporina A (CsA) es un péptido cíclico de aminoácidos neutro e hidrofóbico que puede ser aislado a partir de varias especies de hongos. Su fórmula molecular es  $C_{12}H_{11}N_{11}O_{12}$  y su peso molecular es de 1202.64 Da. Su estructura inusual le confiere una solubilidad acuosa muy baja lo que causa una absorción incompleta y variable dependiendo de su formulación oral o tópica. Existen numerosos reportes que apoyan su acción inmunosupresora local y su efectividad en el manejo del rechazo al trasplante corneal, uveítis autoinmune y síndrome de ojo seco. Actúa como un inhibidor selectivo de IL-2 liberado durante la activación de las células T. Su mecanismo de acción se basa en su efecto en la inflamación subconjuntival y de la glándula lagrimal que resulta en un aumento en la producción de lágrima y de la densidad de células Goblet en un número significativo en el síndrome de ojo seco moderado a severo. Es por lo anterior que la CsA tópica es actualmente el único fármaco tópico aprobado por la FDA para el tratamiento específico del ojo seco a partir de ensayos clínicos fase III desde Diciembre de 2002 cuando se demostró ser efectivo en el tratamiento del ojo seco moderado-severo.<sup>19</sup>

5. Esteroides tópicos. El objetivo es tratar el componente inflamatorio del ojo seco de una manera no-específica, la terapia puede considerarse en pulsos de corta duración debido al alto riesgo de complicaciones con el uso crónico.
6. Tetraciclinas tópicas. Se han convertido en el tratamiento de elección cuando la blefaritis es la causa subyacente, especialmente en pacientes con rosácea. La evidencia clínica sugiere que estos agentes trabajan por mecanismos anti-inflamatorios más que antibióticos. Un abordaje común es la administración de dosis bajas de doxiciclina ya que esto representa menos efectos sistémicos. La azitromicina tópica ha demostrado ofrecer mejoría en la función palpebral y en la blefaritis en pacientes con ojo seco.<sup>19</sup>
7. Antiinflamatorios no esteroideos. Han sido utilizados fuera de sus indicaciones para el tratamiento del ojo seco, existen dos estudios clínicos con el uso de diclofenaco y ketorolaco tópicos que proveen de evidencia acerca de la eficacia de los AINE.
8. Pilocarpina oral. Ha demostrado aumentar la producción y el flujo lagrimal lo que mejora la sintomatología en pacientes con Síndrome de Sjögren.
9. Vitamina A. Se ha reportado que una emulsión al 0.01% de tretinoína mejora significativamente el tiempo de ruptura lagrimal.
10. Tratamiento de la alergia. Lekhanont et al.<sup>46</sup> evaluaron el efecto de la olopatadina y epinastina en ojos secos y no encontraron diferencia

estadísticamente significativa en la tinción corneal y producción lagrimal entre los antihistamínicos y los lubricantes oculares. Ousler et al. investigaron el potencial efecto de los antihistamínicos orales en el ojo seco y encontraron una caída en el volumen y flujo lagrimal y un aumento en la tinción con fluoresceína con el consumo de loratadina sistémica una vez al día, no se encontró ningún efecto adverso con el uso de epinastina lo que la hace una opción razonable de tratamiento para la conjuntivitis alérgica en pacientes con ojo seco.<sup>42</sup>

Incluso en pacientes sin rinitis, la conjuntivitis alérgica que no es tratada puede llevar a una posterior disfunción de las glándulas de Meibomio con el ojo seco subsecuente, por lo que se debe instaurar el tratamiento para la alergia y es válido el uso de antihistamínicos tópicos y orales en pacientes con conjuntivitis alérgica y ojo seco.<sup>42</sup>

11. Anticuerpos anti-factor de crecimiento endotelial. Erdurmus et. Al.<sup>47</sup> evaluaron el uso de bevacizumab subconjuntival para la neovascularización corneal en pacientes con queratoconjuntivitis sicca severa y queratitis filamentosa encontrando que en el primero desapareció la neovascularización corneal y en el segundo se desvaneció, siendo la aplicación bien tolerada y sin efectos adversos.

Se han publicado diversas guías con respecto al tratamiento para el ojo seco. Las recomendaciones están basadas en consensos de expertos e incluyen manejo farmacológico y no farmacológico. La implementación de un programa de tratamiento

apropiado es especialmente importante ya que la evidencia reciente sugiere que una intervención temprana puede ayudar a prevenir la progresión a estadios más severos. Las recomendaciones no farmacológicas incluyen el asesoramiento del paciente, aumento en la ingesta de agua y manejo del ambiente (disminuir la temperatura en lugares cerrados, usar humidificador, uso de productos hipoalergénicos y evitar secadoras de cabello y aire acondicionado). Otras recomendaciones incluyen compresas calientes, masaje palpebral y en casos más avanzados el uso de cubiertas para envolver los lentes, goggles o cámaras de humedad.<sup>19</sup>

#### □ **Suero autólogo**

Los efectos beneficiosos de la aplicación de suero autólogo en el tratamiento de pacientes con ojo seco se conoce desde 1984 gracias a los trabajos de Fox et al.<sup>48</sup> Sin embargo, el relativo desconocimiento de su mecanismo de acción, a nivel de la superficie ocular, hizo que su utilización en la práctica clínica fuese muy reducida hasta finales de la última década gracias a los trabajos de Tsubota et al.<sup>49</sup> Aunque aún no están totalmente claros los mecanismos finales de actuación del suero autólogo sobre los epitelios oculares,<sup>50</sup> cada vez se conoce más sobre ellos. Así, se sabe que contiene algunos componentes implicados en la proliferación, migración y diferenciación de las células epiteliales de la superficie ocular.

Son muchos los componentes del suero que se piensa tienen algún efecto trófico sobre los epitelios de la superficie ocular al actuar sobre la dinámica epitelial modelando la proliferación de células epiteliales del limbo y córnea, incluso, en estudios in vitro con

células del epitelio conjuntival, se ha demostrado un efecto dosis dependiente del suero autólogo sobre la expresión de mucinas, sobre todo de mucina 1, mediado por receptores para Factor de Crecimiento Epitelial (EGF) presentes en las células caliciformes. De estos componentes del suero, los que se piensan tienen una mayor importancia son el EGF, el factor  $\beta$  Transformante del Crecimiento de los Fibroblastos (TGF- $\beta$ ), la vitamina A, la fibronectina, la albúmina, la  $\alpha$ 2 macroglobulina, el Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGF-AB), neuropéptidos como la sustancia P y el factor de crecimiento tipo insulina 1. Así, el EGF acelera el proceso de migración de las células epiteliales y tiene efectos antiapoptóticos. Este factor está presente tanto en la secreción lagrimal basal como refleja, con una concentración algo inferior a la que presenta en el suero autólogo. El TGF- $\beta$  está implicado en los procesos de reparación epitelial y estromal, siendo su concentración en suero casi 3 veces mayor que la encontrada en la lágrima. La vitamina A parece prevenir los procesos de metaplasia escamosa de los epitelios. Su concentración en suero es muy superior a la encontrada en la lágrima. Por otro lado, proteínas como la albúmina han demostrado actividad antiapoptótica, mientras que la  $\alpha$ 2 macroglobulina presenta actividad anticolagenasa. La fibronectina es uno de los factores más importantes en la migración celular, siendo su concentración en suero muy superior a la encontrada en la lágrima.<sup>49</sup>

Además el suero autólogo contiene factores neuronales como la sustancia P y el factor de crecimiento tipo insulina 1 que parecen estar implicados en la migración y adhesión del epitelio corneal. El PDGF-AB es una de las 5 isoformas conocidas de factores de crecimiento derivados de plaquetas. Este factor se activa intracelularmente mientras es

secretado por los gránulos alfa de las plaquetas tras su activación y favorece la mitosis y la cicatrización. Además, el suero autólogo contiene inmunoglobulinas como la IgG, lisozima y factores del complemento que le aportan cierto efecto bactericida y bacteriostático.<sup>49</sup>

Los efectos del suero autólogo sobre la superficie ocular van a venir determinados por sus numerosas propiedades. En este sentido, el suero presenta unas características muy similares a las de la lágrima en cuanto a pH y osmolaridad. Al igual que ésta, contiene abundantes factores de crecimiento y bactericidas que hacen que el tratamiento con suero autólogo tópico no sólo humidifique la superficie ocular sino que, además, aporta factores nutricionales y de crecimiento, necesarios para mantener la viabilidad celular en los procesos de reparación epitelial, y componentes bactericidas que reducen el riesgo de contaminación e infección.<sup>51</sup>

La aplicación de suero autólogo supera ampliamente a la terapia sustitutiva con lágrimas artificiales. En estudios comparativos realizados con cultivos de células epiteliales, se ha visto que el suero preserva la integridad de las membranas celulares y aumenta los niveles de ATP intracelular más que las lágrimas artificiales. Como se ha demostrado previamente en estudios de experimentación, tanto el nivel intracelular de ATP como la estabilidad de las membranas son índices de viabilidad celular. De igual forma, el suero autólogo ha mostrado un mayor efecto sobre la proliferación celular que el obtenido con las lágrimas artificiales y además incrementa la transcripción de RNA para el Factor de Crecimiento Neuronal así como los receptores del factor de crecimiento transformante beta.<sup>52</sup>

Los efectos beneficiosos de este tratamiento en los defectos epiteliales persistentes comienzan a notarse a partir de la segunda semana de tratamiento, aunque la mejoría subjetiva de los pacientes empieza prácticamente desde el segundo día. Noble et al.<sup>53</sup> encontraron que el tratamiento con suero autólogo mejora la sintomatología clínica de paciente y el grado de metaplasia conjuntival pero no encuentran efectos estadísticamente significativos sobre la tinción con Rosa de Bengala, Schirmer y aclaramiento de fluoresceína.

Incluso con toda esta información aún no se conoce cuál o cuáles son los factores más beneficiosos ni cuál debe ser, por tanto, la concentración óptima de éstos. Autores como Geerling et al., revisando los resultados publicados en la bibliografía, encuentran que existe una gran variabilidad en cuanto a los efectos del suero autólogo tanto sobre la subjetividad del paciente como sobre la modificación de pruebas como el test de Schirmer, rosa de bengala o el aclaramiento de fluoresceína. Esta diversidad en los resultados puede ser debida a la poca homogeneización de la población estudiada y también por la variabilidad en cuanto al modo de preparación del suero autólogo por los distintos autores.<sup>54</sup>

### **Preparación del suero autólogo (Anexo 3)**

#### **Indicaciones**

El suero autólogo ha sido utilizado con mayor o menor éxito en el manejo de numerosas procesos que afectan a la superficie corneal. De entre estos cabe destacar su aplicación en el tratamiento de:

- Defectos epiteliales persistentes (DEP) producidos por diversas etiologías. Podemos definir el DEP como un defecto epitelial que tiene más de 2 mm de diámetro y que dura más de dos semanas sin responder a la terapia convencional con lágrimas, lentes de contacto, etc. Han sido muchas las terapias utilizadas para los DEP entre ellas aporte de lágrimas, lentes de contacto terapéuticas, tarsorrafia, trasplante de membrana amniótica, trasplante de limbo, fibronectina tópica, tetraciclinas o reconstrucción con células epiteliales cultivadas. En estos pacientes se ha visto como la terapia con suero autólogo reduce considerablemente la duración de los DEP. Así, el 63% de los DEP tratados con esta terapia curaron en menos de un mes frente a los 7,2 meses de media que tardaron en curar los DEP que fueron tratados con terapia convencional.<sup>49</sup>

- Ojo seco grave. Ésta fue la primera utilización del suero autólogo en oftalmología.<sup>48</sup> Casi todos los autores reportan una mejoría subjetiva considerable tras sólo 48 horas después de iniciar el tratamiento. Tsubota et al., encuentran una mejoría rápida de los síntomas y de las tinciones con rosa de bengala, fluoresceína y test de Schirmer, y un empeoramiento progresivo de éstos unas 4 semanas después de suspender la aplicación. En casos de ojo seco se ha especulado con la posibilidad de que los efectos sean dosis dependientes, así se han encontrado más beneficios en pautas de dosificación que aplicaban gotas 8 veces al día frente a 4 veces al día. En un estudio realizado en pacientes con ojo seco de diversa gravedad, encontramos como la aplicación de suero autólogo mejoró una media de 3 mm el test de Schirmer. De igual forma mejoró la tinción con fluoresceína y rosa de Bengala, así como la estabilidad de la película lagrimal.



- Manejo de la queratopatía neurotrófica. En el tratamiento de la queratopatía neurotrófica, autores como Matsumoto et al., 2004, encuentran como el defecto epitelial cicatrizó completamente en unos 17 días, mejorando la sensibilidad de la córnea después del tratamiento.<sup>57</sup>

- Erosiones corneales recurrentes. En estos pacientes se ha visto como la aplicación de suero autólogo disminuye la tasa de recurrencias hasta en un 87,5% contra la terapia convencional mediante lágrimas artificiales.

#### □ **Plasma rico en plaquetas y Plasma rico en factores de crecimiento**

Las plaquetas son pequeñas células sanguíneas discoideas, su conteo varía entre 1.5 y 3.0 x 10<sup>5</sup>/mL y su tiempo de vida media es aproximadamente 7 días, son formadas a partir de los megacariocitos y sintetizadas en la médula ósea de fragmentos de citoplasma después de lo cual son liberadas a la circulación. Dentro de las plaquetas encontramos estructuras que contienen glucógeno, lisosomas y dos tipos de gránulos que se conocen como gránulos densos los que contienen ADP, ATP, serotonina y calcio y los gránulos alfa que contienen factores coagulantes, factores de crecimiento y otras proteínas. Normalmente en estado de reposo las plaquetas son no trombogénicas y requieren un estímulo gatillo para intervenir en la hemostasia y reparación de heridas. A su activación cambian de forma y desarrollan pseudópodos que promueven la agregación y subsecuente liberación del contenido de los gránulos hacia el sistema canalicular.<sup>58</sup>

Los derivados sanguíneos han demostrado su capacidad para acelerar la reparación y estimular la regeneración de diversos tejidos lo que se atribuye a los factores de crecimiento y las proteínas bioactivas que son sintetizadas y están presentes en la sangre. El plasma rico en plaquetas (E-PRP) provee una alta concentración de factores de crecimiento esenciales y moléculas de adhesión celular por el hecho de concentrar plaquetas en un pequeño volumen de plasma comparado con el suero autólogo que ha sido empleado ampliamente en oftalmología para el cierre de heridas epiteliales de la córnea en las últimas dos décadas. Estos factores de crecimiento y células de adhesión juegan un papel fundamental en la reparación de heridas acelerando los procesos fisiológicos en el sitio de la lesión o de la cirugía vía tópica en colirios o coágulo.<sup>59</sup>

El E-PRP y el PRGF contienen 5 a 6 veces más concentración de factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento transformador beta-1, factor de crecimiento vascular endotelial y factor de crecimiento endotelial, y 8 veces más concentración de plaquetas comparados con la sangre.<sup>60</sup> Es un producto biológico libre de conservadores que por su alto contenido de los factores mencionados tiene propiedades curativas superiores. El mecanismo de acción parece ser similar al del suero autólogo con la diferencia de tener una alta concentración de factores de crecimiento y plaquetas lo que podría ser el estimulante del crecimiento de las células madre y permitir la reparación más rápida.<sup>60</sup>

El E-PRP ha sido usado más recientemente y ha alcanzado resultados exitosos reportados en los artículos de revisión en el tratamiento de úlceras persistentes, ojo seco moderado a severo, síndrome de superficie ocular post-LASIK y para la

reconstrucción de la superficie después de perforación corneal asociado con injerto de membrana amniótica.<sup>59, 60</sup> El tratamiento específico de pacientes que sufren de síntomas significativos de ojo seco ha probado ser muy efectivo con mejorías tanto en los síntomas como en los signos clínicos mayores.<sup>61</sup>

El crioprecipitado es rico en fibrinógeno, fibronectina, factor VIII y otros factores sanguíneos que son fundamentales para la formación del andamio de fibrina y el proceso de hemostasia. A pesar de los efectos benéficos de los derivados plaquetarios en la regeneración tisular que han sido reconocidos en la comunidad científica, los datos presentados son muy heterogéneos. Diversos métodos se han descrito para la producción de los derivados plaquetarios: en tubos de prueba, en bolsas tradicionales, por aféresis con separación de células, con la ayuda de diferentes instrumentos. En consecuencia la concentración plaquetaria final varía, los métodos de manipulación difieren y los métodos de aplicación y los tipos de activadores son diferentes. Existe claramente la necesidad de estándares válidos.

Es importante también recalcar el hecho de que en muchos casos el tratamiento con E-PRP no solo lleva a la mejoría en la sintomatología y a la reducción de la metaplasia escamosa si no también lleva a la reducción de terapias asociadas como corticoesteroides tópicos y ciclosporina. Esto es debido a una disminución indirecta de la inflamación al reducir la osmolaridad lagrimal y la dilución de factores proinflamatorios que están presentes en la superficie ocular. Su uso se ha extendido también debido a la presencia de inhibidores potenciales de la inflamación como el antagonista del receptor de la interleucina, inhibidores de las metaloproteinasas y otros

importantes factores de crecimiento que se sabe participan en la reepitelización corneal como el factor de crecimiento epidérmico.

El E-PRP es una alternativa terapéutica muy interesante entonces para el tratamiento del ojo seco moderado a severo comparado con otros agentes comercialmente disponibles. Debido a que existe relativamente poca experiencia con la aplicación de derivados sanguíneos se necesitan guías clínicas y protocolos de tratamiento, sin embargo, en la mayoría de las publicaciones se ha encontrado que los derivados similares al plasma como el plasma rico en plaquetas muestran mayor concentración de factores de crecimiento.

El E-PRP se encuentra disponible en dos formulaciones, en gotas oftálmicas y en coágulo, es barato y fácil a pesar de que requiere condiciones estrictas de esterilidad. No se han reportado efectos adversos en el uso de estos productos y en general es bien tolerado.<sup>59</sup>

## **Preparación (Anexo 4)**

### **□ Calidad de vida en pacientes con Ojo Seco**

Se ha reportado que los síntomas que caracterizan al ojo seco representan un impacto negativo en la calidad de vida de los pacientes incluyendo la calidad de vida en general y la calidad diaria relacionada con la visión. La percepción del paciente respecto a su calidad de vida cuando padece ojo seco es un factor importante a considerar cuando se planea y evalúa el probable tratamiento. Los estudios objetivos solo son una parte de la

evaluación pero no proveen de la amplitud suficiente para conocer la experiencia del paciente.<sup>63</sup>

Existen dos categorías en cuanto a instrumentos para valorar la calidad de vida relacionada con la visión: los genéricos, que están diseñados para ser usados en un amplio espectro de desórdenes visuales y enfermedades oculares, y los específicos que se han adaptado para padecimientos en particular. El impacto en la calidad de vida en los pacientes con ojo seco tiende a subestimarse porque no es una causa de morbilidad visual permanente comparada con otras enfermedades oculares como catarata, glaucoma y degeneración macular relacionada con la edad. Sin embargo, la alta incidencia de estos padecimientos en los adultos mayores, el aumento en la demanda visual debido al estilo de vida moderno con el uso de la computadora y aire acondicionado y una prolongada expectativa de vida han destacado la importancia de la calidad de vida relacionada con la visión en pacientes con ojo seco.<sup>63</sup>

Se ha reportado que la calificación de subescala de dolor ocular osciló entre 62.5 a 87.5 en pacientes con ojo seco lo que indica que puede causar más dolor ocular o malestar. También se encontró que la enfermedad no sólo tiene impacto en la salud física sino también en la psicológica sobretodo mostrando ansiedad o depresión.

## JUSTIFICACIÓN

Las alteraciones de la superficie ocular representan un grupo heterogéneo de patologías con diversas etiologías que muestran una sintomatología similar. La identificación de la causa que las origina y su clasificación puede orientarnos a un manejo más adecuado. El síndrome de ojo seco es un padecimiento de presentación creciente en nuestra población, de acuerdo a estudios recientes se debe probablemente a el aumento en la expectativa de vida y a los factores ambientales que rodean.

Debido a esto hay un interés aumentado en ofrecer diferentes opciones terapéuticas para los casos refractarios a tratamiento, entre estas opciones los derivados sanguíneos han ganado popularidad en la comunidad científica porque ofrecen además de un componente acuoso como vehículo factores de crecimiento y nutrición indispensables para la reparación de heridas corneales debido al crecimiento y migración de las células epiteliales. El uso de suero autólogo está ampliamente extendido, sin embargo, el plasma rico en plaquetas se ha introducido a la oftalmología apenas desde la década pasada y a pesar de que en la teoría sus diferencias son claras, en la práctica clínica existe poca evidencia de sus resultados al comparar ambos.

Lo que se pretende con este estudio es determinar los resultados clínicos de las últimas opciones terapéuticas para pacientes con ojo seco en Síndrome de Sjögren para marcar la pauta del tratamiento más efectivo en nuestros pacientes del Hospital de Especialidades de Centro Médico Nacional Siglo XXI.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

El servicio de Córnea de la División de Oftalmología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI es receptor de pacientes con patologías que corresponden al tercer nivel de atención en salud, esto significa que las enfermedades que se atienden representan un reto diagnóstico y terapéutico. Las enfermedades de la superficie ocular, en particular de la córnea, representan un desafío por su gran variedad de síntomas inespecíficos y la variabilidad de la respuesta al tratamiento. Es necesario tener disponible un tratamiento eficaz, real, benéfico y con un costo-beneficio superior para los pacientes con síndrome de ojo seco para ampliar el arsenal de opciones terapéuticas básicas en el Instituto, por lo que se plantea la siguiente pregunta de investigación:

- **En el servicio de Córnea de la División de Oftalmología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, ¿cuáles son los efectos clínicos subjetivos y objetivos que se obtienen tras el tratamiento durante cuatro semanas con suero autólogo comparado con plasma rico en plaquetas en los pacientes con síndrome de ojo seco en Síndrome de Sjögren?**

## **HIPÓTESIS**

El tratamiento tópico con plasma rico en plaquetas ofrece un beneficio clínico mayor en un 20% que el suero autólogo en el tratamiento de los pacientes con ojo seco en Síndrome de Sjögren.

## **HIPÓTESIS NULA**

El tratamiento tópico con plasma rico en plaquetas después de 4 semanas de aplicación no ofrece un beneficio clínico diferente que el suero autólogo en el tratamiento de los pacientes con ojo seco en Síndrome de Sjögren.

## **HIPÓTESIS ALTERNATIVA**

El tratamiento tópico con plasma rico en plaquetas después de 4 semanas de aplicación ofrece un beneficio clínico diferente que el suero autólogo en el tratamiento de los pacientes con ojo seco en Síndrome de Sjögren.



## **OBJETIVO.**

Determinar los efectos clínicos objetivos y subjetivos en el epitelio corneal de los pacientes con ojo seco en Síndrome de Sjögren con la aplicación de suero autólogo y plasma rico en plaquetas.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS.**

- Evaluar el estado clínico oftalmológico basal de los pacientes con ojo seco en síndrome de Sjögren del servicio de córnea de la División de Oftalmología del H. de Especialidades.
- Administrar de manera metódica y controlada de acuerdo a los estándares internacionales tanto suero autólogo como el plasma rico en plaquetas.
- Estudiar los efectos clínicos objetivos que confiere en el epitelio corneal de los pacientes seleccionados la administración de suero autólogo y plasma rico en plaquetas evaluando agudeza y capacidad visual y porcentaje de la superficie corneal e intensidad de la tinción con fluoresceína.
- Analizar los efectos clínicos subjetivos y su modificación tras la administración por 4 semanas de suero autólogo y plasma rico en plaquetas evaluando dolor ocular, fotofobia y sensación de cuerpo extraño referidos por el paciente en una escala de 1 a 4.

- Determinar estadísticamente la magnitud del beneficio con el tratamiento mencionado y cuál de las dos opciones terapéuticas ofrece mayor evidencia de progresión positiva hacia la reparación del epitelio corneal.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **1) Sede**

División de Oftalmología, Servicio de Córnea, de la Unidad Médica de Alta Especialidad Centro Médico Nacional Siglo XXI

### **2) Diseño del estudio**

Por número de mediciones: Longitudinal

Por forma de recolección de la información: Prospectivo

Por maniobra: Experimental

Por número de grupos: Analítico

Por característica de los grupos: Aleatorizado doble ciego. Existen dos investigadores, el médico de base (investigador A) quién se encargará de la evaluación de los pacientes, su registro y la toma de datos en la hoja de recolección y el residente (investigador B) quién se encargará de aleatorizar a los pacientes y preparar ya sea el suero autólogo o el plasma rico en plaquetas. Por lo tanto el investigador A no sabrá cuál es el tratamiento que se está aplicando el paciente y el investigador B no sabrá el estado en el que se encuentra el paciente clínicamente sino hasta el final que se

analicen los datos. El paciente a su vez será informado que se estará aplicando un "suero" sin especificarle cuál de los dos es.

### **3) Universo de trabajo**

Pacientes con Ojo Seco en Síndrome de Sjögren del servicio de córnea de la División de Oftalmología de la Unidad Médica de Alta Especialidad de Centro Médico Nacional Siglo XXI en el periodo del 1 de mayo al 30 de septiembre de 2014.

### **4) Tamaño de la muestra**

Para realizar el cálculo de muestra se seleccionó la prueba de la t ya que este suele utilizarse para determinar si el valor promedio de una variable de respuesta continua en un grupo difiere significativamente del valor de la de otro grupo.

- A) Se estableció la hipótesis nula
- B) Magnitud del efecto: 20
- C) Variabilidad: 80
- D) Magnitud del efecto estandarizada: 0.25
- E) alfa: 0.05 beta: 1.0
- F) Tamaño de muestra por grupo: 14 pacientes

### **5) Selección de la muestra**

Es un estudio donde se incluirán a todos los pacientes del servicio de córnea de la División de Oftalmología de la Unidad Médica de Alta Especialidad de Centro Médico

Nacional Siglo XXI en el periodo del 1 de mayo al 30 de septiembre de 2014 que cumplan con los siguientes criterios de inclusión.

- **Criterios de Selección**

- a. **Criterios de Inclusión:**

- a. Pacientes mayores de 18 años
- b. Diagnóstico histopatológico de Síndrome de Sjögren independientemente del tiempo de diagnóstico del mismo
- c. Con expediente completo en la División de Oftalmología
- d. Diagnóstico clínico de ojo seco por el servicio de córnea
- e. Con o sin tratamiento oftálmico previo

- b. **Criterios de Exclusión**

- a. Pacientes menores de 18 años
- b. Diagnóstico de úlcera de Mooren
- c. Antecedente de criterios clínicos o serología positiva para herpes virus
- d. Serología positiva para VIH, VHB, VHC o sífilis
- e. Hemoglobina menor a 10 g/dL
- f. Plaquetas menores a 150,000/mcL

- g. Deficiencia de vitamina A reportada en el expediente
- h. Con expediente incompleto en la División de Oftalmología
- i. Venopunción no posible
- j. Embarazo o lactancia
- k. Antecedente de toxicidad con el uso de derivados sanguíneos
- l. Opacidades corneales centrales de cualquier etiología
- m. Catarata avanzada\*
- n. Glaucoma avanzado\*\* de acuerdo a la clasificación de HODAPP
- o. Retinopatía de cualquier naturaleza
- p. Maculopatía de cualquier naturaleza
- q. Desprendimiento de retina
- r. Antecedente de cirugía ocular de cualquier naturaleza

**c. Criterios de eliminación**

- a. Pacientes que no acudan a las evaluaciones subsecuentes
- a. Pacientes que decidieron retirarse del estudio posterior al inicio del tratamiento
- a. Pacientes a los que se les tuvo que modificar el tratamiento

a. Pacientes con mal apego al tratamiento

a. Pacientes que presentaron reacción adversa al tratamiento

\* Catarata que independiente de su etiología tenga opacidades mayores a NO4 NC4 C4 P4 de acuerdo al LOCS III.

\*\* Neuropatía óptica glaucomatosa con daño en la campimetría en DM igual o mayor a -12dB, 26 puntos o más por debajo del 5%, más de 18 puntos por debajo del 1%, uno o más puntos en los 5° centrales con una sensibilidad de 0dB o puntos dentro de los 5° centrales con sensibilidad <15dB en ambos hemisferios.

## **6) Metodología**

Se realizará un estudio longitudinal, experimental y analítico en una población de pacientes con ojo seco evaporativo en Síndrome de Sjögren. Los pacientes se recabarán de las diversas consultas de córnea y superficie ocular de la División de Oftalmología y se hará extensivo a pacientes adscritos al servicio de Reumatología del H. de Especialidades de CMN SXXI. Se llevara a cabo una selección de aquellos pacientes que cumplan con los criterios de inclusión, posteriormente se solicitará autorización con formato de consentimiento informado escrito, se les solicitará serología para detección de VIH, VHB, VHC y sífilis, y si resultasen negativos serán incluidos en la segunda fase, si el resultado fuera positivo para alguna de las enfermedades mencionadas no podrán continuar en el estudio y serán referidos a Infectología de su Hospital General de Zona para evaluaciones complementarias y tratamiento de ser necesario. Posteriormente se llevará a cabo la evaluación basal a cargo del investigador A en el consultorio B de córnea de la División de Oftalmología y se llenará en ella la hoja de recolección de datos obteniendo información concerniente a edad, género, ocupación, tiempo de diagnóstico de Síndrome de Sjögren, enfermedades y medicamentos sistémicos, medicamentos tópicos, índice de

enfermedad de superficie ocular por sintomatología, se realizará exploración oftalmológica con determinación de agudeza y capacidad visual, biomicroscopia con lámpara de hendidura y fotografía de segmento anterior y tinción de fluoresceína BIO GLO STERILE STRIPS tiras de 1mg de fluoresceína oftálmica de HUB PHARMACEUTICALS colocada en fondo de saco inferior. El investigador B por método aleatorizado se determinará que tratamiento recibirá cada paciente asignando de manera aleatoria el tratamiento por adelantado en una serie de sobres cerrados, cada sobre se numerara, será opaco y resistente a manipulación. Se tomará 20 ml de sangre por venopunción en fosa cubital que se colocaran en tubo seco o tubo con EDTA dependiendo del grupo al que pertenecerá el paciente, se procesarán como se explica más adelante y se entregarán 1 paquete a cada paciente, uno con la dotación mensual de suero autólogo (Grupo A) o de plasma rico en plaquetas (Grupo B) y las instrucciones por escrito de cómo administrarse. Se hará un control a las 2 semanas en el que únicamente se decidirá si es necesario suspender algún tratamiento. A las 4 semanas se hará la evaluación del segundo control midiendo los mismos parámetros que en la basal y registrándolo en la hoja de recolección de datos a cargo del investigador A.

### **Preparación del suero autólogo**

- Venopunción en fosa cubital con técnica estéril
- Obtención de 20 ml de sangre misma que se deposita en tubos secos

- Los tubos se dejan reposar en posición vertical durante 2 horas a temperatura ambiente
- Se centrifugan los tubos a 2500 rpm por 5 minutos
- Bajo campana de flujo laminar en el laboratorio central del H. de Especialidades y con técnica estéril se obtiene el suero de los tubos centrifugados con jeringas de 5 ml y se deposita en frascos estériles para colirio a una dilución del 40% con cloranfenicol. Los frascos de cloranfenicol forman parte del cuadro básico de medicamentos del instituto: Cloranfenicol levógiro 5mg/1ml hecho en México por PHARMACOS EXAKTA, S.A. DE C.V.
- Los tubos se protegen de los rayos UV mediante papel aluminio
- Se entregan 4 botes por paciente indicándole que el frasco que esté en uso se mantenga en refrigeración entre 4-5°C y los botes que no se usan en congelación a -4°C, los frascos deberán reemplazarse cada semana.
- Se aplicará una gota c/ 3 horas

### **Preparación del plasma rico en plaquetas**

- Venopunción en fosa cubital con técnica estéril
- Obtención de 20 ml de sangre que se contiene en tubos con EDTA
- Se centrifugan a 2500 rpm por 5 minutos



- Bajo campana de flujo laminar en el laboratorio central del H. de Especialidades y con técnica estéril se aspira el flotante con jeringa de insulina mismo que se activa con 22.8mM de cloruro de calcio por cada mililitro y el resultante se diluye al 40% con cloranfenicol. Se deposita en frascos estériles para colirio
- Se entregan 4 botes por paciente mismos que se deben transportar todo el tiempo a no más de 4°C.
- Se aplicará una gota c/ 3 horas

Al acudir a la segunda valoración el paciente tendrá que traer los frascos vacíos o semivacíos de colirio preparado mismos que se desecharán de acuerdo al protocolo de RPBI.

## **7) Estadística propuesta**

En un primer análisis que se efectuará se comparará los grupos en sus condiciones basales con las características demográficas, medidas antropométricas y condiciones inherentes a su estado clínico. Estas se presentarán como medidas de resumen y dispersión en variables continuas y en porcentajes para las variables categóricas.

Las variables dicotómicas se compararán en proporciones mediante la prueba de ji cuadrada, las variables continuas mediante la prueba de la t.

## VARIABLES DE ESTUDIO

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidades de medición
Género	División de género humano	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Independiente	Cualitativa	Femenino Masculino
Edad	Años cumplidos al momento de la evaluación	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Independiente	Cuantitativa	18-100 años
Tiempo de diagnóstico	Tiempo desde que se realizó el diagnóstico definitivo de la patología hasta el momento de la evaluación	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Independiente	Cuantitativa	Años con meses
Ocupación	Actividad laboral que realiza el paciente de manera regular	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Independiente	Cualitativa	Variable
Enfermedades sistémicas	Enfermedad que afecta a todos los elementos de un mismo sistema	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Independiente	Cualitativa	Diabetes Mellitus Hipertensión arterial sistémica Dislipidemia Artritis reumatoide Lupus eritematoso Esclerosis múltiple Hipo hipertiroidismo Asma Insuficiencia renal EPOC Gastritis / ERGE Alergia Insuficiencia cardiaca

Medicamentos sistémicos	Fármacos que, tras su absorción, llegan al plasma y, por medio de él, se distribuyen por los tejidos para que, tras alcanzar la concentración adecuada, interactúen con sus dianas terapéuticas.	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Independiente	Cualitativa	Hormonas Diuréticos Betabloqueadores IECA Insulina Hipoglucemiantes Esteroides AINE Antihistamínicos
Medicamentos tópicos	Fármacos oftálmicos de uso tópico que se utilizan por sus efectos en el sitio de aplicación.	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Independiente	Cualitativa	Hipotensores Lubricante Antibiótico Antiviral AINE Esteroides Inmunológico Ciclopléjico Antialérgico
Agudeza visual sin corrección	Medida de la capacidad del sistema visual para detectar, reconocer o resolver detalles espaciales en un test de alto contraste y con un buen nivel de iluminación.	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Dependiente	Cuantitativa	0.025-1.0
Capacidad visual	La agudeza visual que se obtiene al utilizar la mejor refracción posible	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Dependiente	Cuantitativa	0.025-1.0
Área de tinción de fluoresceína	Se aplica una gota de tetracaína, se tiñe la lágrima con fluoresceína, se pide al paciente parpadear y se observa la superficie ocular con la luz azul. Porcentaje de la superficie corneal que se observa teñida en amarillo	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Dependiente	Cuantitativa	0-100%

Densidad de tinción con fluoresceína	Cantidad de puntos de tinción bajo haz de luz azul de 2mm	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Dependiente	Cuantitativa	1-3 = 1 3-6= 2 7-10= 3 >10= 4
Fotofobia	Intolerancia a la luz que provoca una sensación molesta o dolorosa referida por el paciente	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Dependiente	Cualitativa	Sí / No
Sensación de cuerpo extraño	Percepción subjetiva de tener un objeto extraño en contacto permanente con las estructuras oculares	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Dependiente	Cualitativa	Sí / No
Dolor ocular	Sensación urente, pulsátil, dolorosa o lacerante ubicada en o alrededor del ojo referida por el paciente	De acuerdo a lo recabado en la hoja de recolección de datos	Dependiente	Cualitativa	Sí / No

## RECURSOS PARA EL ESTUDIO

Computadora personal y de escritorio

Bolígrafos

Cartilla de Snellen y ocluser con estenopeico

Lámpara de hendidura

Colirios de tetracaína

Tiras de fluoresceína

2 cientos de hojas para impresión de consentimiento informado y de hojas de recolección de datos

Insumos para estudios de laboratorio

Colirios de cloranfenicol

Agujas y jeringas

Campana de flujo laminar y centrifugador del laboratorio central del H. de Especialidades

Gradilla

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El presente protocolo de investigación, cumplió con los principios de ética de acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, conforme a los Artículos 13, 14, 20, 21 y 22, del Título Segundo, de los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos.

“En toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberán prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar”.

Esta investigación de acuerdo al Artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación fue considerada como una investigación con riesgo mayor que el mínimo:

“III.- Investigación con riesgo mayor que el mínimo: Son aquéllas en que las probabilidades de afectar al sujeto son significativas, entre las que se consideran: estudios radiológicos y con microondas, ensayos con los medicamentos y modalidades que se definen en el artículo 65 de este Reglamento, ensayos con nuevos dispositivos, estudios que incluyan procedimientos quirúrgicos, extracción de sangre 2% del volumen circulante en neonatos, amniocentesis y otras técnicas invasoras o procedimientos mayores, los que empleen métodos aleatorios de asignación a esquemas terapéuticos y los que tengan control con placebos, entre otros.”.

## CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Año	2012		2013												2014														
Mes	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre		
Selección y planteamiento del problema																													
Revisión sistemática de la literatura																													
Formulación del protocolo																													
Presentación y aceptación por el comité de investigación y ética																													
Integración de pacientes al protocolo e intervención																													
Análisis de datos																													
Redacción final y revisión de correcciones																													
Impresión y entrega																													

## RESULTADOS.

Se realizó un análisis univariado en el que, para las variables cuantitativas se obtuvieron medidas paramétricas y no paramétricas así como proporciones para las cualitativas. En el análisis bivariado, para las variables cualitativas se utilizó ji cuadrada, test exacto de Fisher y Z de proporciones según el caso y para las variables cuantitativas T de Student y U de Mann-Whitney y Kruskal Wallis, se consideró como variables estadísticamente significativas cuando se obtuvo un valor de  $p < 0.05$ .

Durante el periodo de estudio se identificaron 22 pacientes con Síndrome de Sjögren, quienes cumplieron con los criterios de selección, y fueron incluidos en este estudio previo consentimiento informado.

El 95.5% de los casos correspondió al género femenino contra un 0.5% del género masculino; la mediana de edad fue de 57 años, con un rango que va desde 28 hasta 72 años. La mayoría de los pacientes se dedican al Hogar con el 54.5% de los casos. El tiempo de evolución del Síndrome de Sjögren fue una mediana de 4 años, con rangos que van de 1 a 10 años (**Tabla1**).

Dentro de las características de los pacientes en estudio se encontró que las tres principales enfermedades sistémicas (**Tabla 2**) más frecuentes son la artritis reumatoide con el 63.6%, hipertensión con 27.3% y la dislipidemia con un 22.7% del total de los casos. Así como los medicamentos sistémicos más usados por los pacientes corresponde a AINES, esteroides e inhibidores de la ECA (59.1%, 27.3% y 18.2% respectivamente), por otro lado, los medicamentos tópicos corresponde a



lubricantes (77.3%), esteroides (18.2%) y con el mismo porcentaje los inmunológico **(Tabla 3)**.

De acuerdo al diseño de estudio (aleatorizado doble ciego), se aplicó el tratamiento **(Tabla 4)** de la siguiente forma: el suero autólogo (SA) se administró a un total de 10 pacientes (a 8 pacientes en ambos ojos y 2 solo en ojo izquierdo). Por otro lado el plasma rico en plaquetas (PRP), se aplicó a un total de 12 pacientes (10 pacientes en ambos ojos y 2 solo en ojo izquierdo).

Al realizar la valoración de los pacientes **(Tabla 5)** se encontraron los siguientes resultados: una agudeza visual (AV) basal con una media de 0.26 la cual se incrementó a 0.29, con una p significativa de 0.0001; la capacidad visual (CV) al inicio del estudio fue de una media de 0.35 con una desviación estándar  $\pm 0.03$ , con un aumento a las 4 semanas de 0.42 (con p 0.0008). El Área de tinción de fluoresceína (QPP Área%) disminuyó un 3.32% respecto a la basal; un mismo efecto se presentó en la Densidad de tinción con fluoresceína (QPP DEN +) con una diferencia de 0.8%. Respecto a la sintomatología referida por los pacientes el 85% de los ojos presentaban fotofobia y sensación de cuerpo extraño, la cual persistió en un total de 6 y 13 ojos en la revaloración respectivamente. En cuanto al dolor fue referido en 18 ojos, el cual tras la aplicación de la terapéutica, solo persistió en uno de ellos. Por lo anterior se presenta una mejoría clínica del 95%.

### Suero Autólogo:

El suero autólogo (**Tabla 6**) se aplicó a 10 pacientes, con las siguientes características basales: en la AV y CV se obtuvo una media de 0.25 y 0.36 con una desviación estándar de  $\pm 0.03$  y  $\pm 0.05$  respectivamente; con un incremento de la media a las 4 semanas de 0.31 y 0.42. El QPP Área%, presento una media de 21.23% en la exploración basal, con un decremento en la misma de 5.22% a las 4 semanas de tratamiento; se apreció un fenómeno parecido en la QPP DEN + con una diferencia en la media de 1.12% respecto a la basal. En cuanto a la sintomatología referida, al inicio del estudio 17 ojos presentaban fotofobia (94.44%), en la segunda valoración a las 4 semanas, solamente 2 ojos (11.11%) se mantuvo. La sensación de cuerpo extraño se eliminó en 9 de los 16 ojos referidos al inicio. Por otro lado el dolor se presentó en 9 ojos al comienzo del estudio el cual desapareció en 8 a las 4 semanas. De forma general se presentó una mejoría del 100%.

### Plasma rico en Plaquetas:

El plasma rico en plaquetas se aplicó a 12 pacientes, con una media basal en la AV de 0.26 y una desviación estándar de  $\pm 0.03$  (**Tabla 7**), con un ligero incremento a las 4 semanas de 0.02, manteniendo la desviación estándar y una p significativa de 0.005. En la CV se inició con una media de 0.34 incrementando a 0.42. Tanto QPP Área% y QPP DEN +, presentaron una disminución de 20.98% y 2.12% respecto de la basal. La fotofobia fue referida en 17 ojos y sensación de cuerpo extraño en 18, de los cuales persistió en 4 (18.18%) y 6 (27.27%) de ellos. Por otro lado el dolor fue reportado en 9

ojos al inicio, de los cuales el 100% de ellos mejoro con el PRP, presentado una p significativa de 0.0001. La mejoría subjetiva fue de 90.91%.

## **DISCUSION.**

Como se ha reportado ampliamente en la literatura mundial varios componentes del suero como albúmina e inmunoglobulina son usados para el tratamiento de múltiples condiciones médicas. En oftalmología se ha extendido su uso para enfermedades externas en particular la queratoconjuntivitis sicca y los defectos epiteliales persistentes. La lágrima provee de factores antibacteriales, previene la desecación de la córnea y contiene sustancias como el factor de crecimiento del epitelio, fibronectina, factor de crecimiento de fibroblastos y otros factores que juntos mantienen la integridad epitelial.

En el Ojo Seco el epitelio corneal desarrolla tinción punteada, queratitis filamentosa y ulceración debido a la deficiencia total o parcial de lágrima. Los pacientes con ojo seco severo se benefician con el uso intensivo de lubricantes tópicos, oclusión de los puntos lagrimales y goggles. Sin embargo, a pesar de la terapia máxima muchos pacientes continúan con síntomas. Los preparados sanguíneos han demostrado ser extremadamente benéficos para estos casos.<sup>1,2,4</sup>

Los resultados favorables asociados con el uso de suero autólogo y plasma rico en plaquetas en pacientes con ojo seco y defectos epiteliales persistentes han sido descritos por numerosos autores.<sup>1,3-5</sup> La explicación a este beneficio sobre la superficie ocular no está del todo claro pero el factor de crecimiento epitelial presente tanto en la lágrima como en el suero se ha relacionado con la reparación y regeneración epitelial por sus propiedades anti-apoptóticas.<sup>20</sup> Se ha encontrado que el factor de crecimiento derivado de fibroblastos acelera la curación de defectos epiteliales en conejos.<sup>20</sup>

La fibronectina, otro componente del suero ha mostrado tener cierto efecto en la epitelización, sin embargo en estudios aleatorizados no se demostró un efecto benéfico comparado con placebo excepto en ojos con defectos mayores a 10 mm<sup>2</sup>.<sup>10</sup> La vitamina A se encuentra en concentración mucho mayor en el suero comparada con la lágrima y puede disminuir la progresión de la metaplasia escamosa asociada al ojo seco.<sup>4</sup> La expresión de mucina por las células del epitelio conjuntival se regula a la alza con la aplicación de derivados sanguíneos y su uso puede beneficiar a los pacientes con esta patología.<sup>29</sup> De igual manera la sustancia P también es importante para la migración epitelial y se puede suplementar mediante el suero tópico.<sup>18</sup>

Los datos con respecto a la estabilidad de los derivados sanguíneos son limitados, Tsubota reporta que los niveles de factor de crecimiento endotelial, crecimiento fibroblástico y vitamina A en el suero al 20% y al 100% permanecen estables a 4°C por lo menos un mes y a -20°C por lo menos 3 meses.<sup>3,4</sup>

En pacientes con ojo seco los productos farmacéuticos son usados para sustituir la deficiencia de la película lagrimal, en la mayoría de estos pacientes son suficientes para aliviar los síntomas y prevenir la progresión de la enfermedad en la superficie ocular. Sin embargo, en los pacientes con deficiencia absoluta de lágrima los sustitutos no son efectivos ya que a pesar de aplicarlos frecuentemente los defectos epiteliales pueden persistir y progresar incluso a la perforación corneal. Es por esto que los sustitutos fisiológicos de lágrimas como el suero autólogo y el plasma rico en plaquetas se reservan para aquellos casos de deficiencia severa. Los productos farmacéuticos

proveen de lubricación más no de nutrición ya que la lágrima tiene una composición muy compleja.<sup>1-3</sup>

Basados en esta evidencia, la comparación realizada en nuestro estudio demostró un efecto benéfico de ambos derivados sanguíneos para el tratamiento de nuestros pacientes, el suero autólogo resultó estadísticamente superior en la mejoría de la capacidad visual y mejoría subjetiva, mientras el plasma rico en plaquetas fue superior en agudeza visual y disminución del dolor. Es necesario ampliar el estudio para aumentar el número de pacientes incluidos en él y a pesar de que hasta la fecha no se reportan efectos adversos continuar el seguimiento y la vigilancia. También consideramos importante estudiar la preparación del suero para determinar la dilución más efectiva y el tiempo y velocidad de centrifugación adecuadas.

## **CONCLUSIONES.**

De acuerdo a lo observado en los últimos años, existe un aumento en la prevalencia de los trastornos oculares como el ojo seco, constituyendo un verdadero problema de salud pública, por todas las implicaciones que esta conlleva en la calidad de vida de los pacientes; requiriendo de esta manera la búsqueda y aplicación de terapéuticas para la curación o la mejoría.

En nuestro estudio, tras la aplicación de suero autólogo y plasma rico en plaquetas, y al hacer una comparación a través de la sintomatología y la exploración antes y después del tratamiento, se observa un comportamiento similar en la exploración. Ambas pruebas mejoraron la agudeza visual y la capacidad visual. El Área de tinción de fluoresceína (QPP Área%) y la Densidad de tinción con fluoresceína (QPP DEN +) disminuyeron.

La sintomatología también tiene un comportamiento similar, se disminuyó la fotofobia y la sensación de cuerpo extraño, en ambas pruebas, por otro lado el dolor se redujo considerablemente tras la aplicación de plasma rico en plaquetas. La mejoría subjetiva total se incrementó de manera más importante con el suero autólogo. Sin embargo, no en todas las variables se pudo demostrar una significancia estadística; esto se puede deber principalmente al tamaño de la muestra.

## **ANEXOS.**

### Anexo 1: Descripción de milieu interieur y exterieur

El milieu interieur implica las condiciones particulares de un individuo que pueden influir en su riesgo de padecer ojo seco por ejemplo el intervalo de parpadeo o la apertura de la hendidura palpebral.

Existe mucha evidencia de que las hormonas sexuales juegan un rol importante en la etiología del ojo seco<sup>25</sup> siendo los niveles de andrógenos bajos y de estrógenos altos los factores de riesgo. La secreción lagrimal disminuye por múltiples drogas sistémicas perturbando el *milieu interieur*. La edad se ha asociado con cambios fisiológicos que pueden predisponer a ojo seco incluyendo disminución en el volumen y flujo de la lágrima, aumento en la osmolaridad, disminución de la estabilidad de la película lagrimal, y alteraciones en la composición de los lípidos de las glándulas de Meibomio.<sup>26</sup>

El *milieu exterieur* involucra el ambiente ocupacional y externo que pueden representar factores de riesgo para el desarrollo de ojo seco. La pérdida de agua por evaporación aumenta en condiciones de poca humedad lo que ocurre en diferentes localizaciones geográficas o por circunstancias especiales como aire acondicionado, viaje aéreo u otros ambientes artificiales. De manera similar la evaporación aumenta por exposición al viento a alta velocidad. Los factores ocupacionales pueden ocasionar disminución en la tasa de parpadeo sobre todo cuando se trabaja en pantallas.<sup>18</sup>



## Anexo 2: Formas de Ojo seco no-síndrome de Sjögren

Deficiencias primarias de la glándula lagrimal	Deficiencias secundarias de la glándula lagrimal	Obstrucción de los ductos de la glándula lagrimal	Hiposecreción refleja
<p><b>Ojo seco relacionado con la edad:</b> se ha observado un aumento en la patología ductal que puede promover disfunción de la glándula lagrimal por efecto obstructivo. Estas alteraciones incluyen fibrosis periductal, fibrosis interacinar y atrofia de los vasos paraductales y las células acinares.</p> <p><b>Alacrima congénita:</b> causa rara de ojo seco en la juventud.</p> <p><b>Disautonomía familiar:</b> desorden autosómico recesivo con insensibilidad al dolor generalizada y falta de lágrima emocional y refleja con desórdenes sistémicos.</p>	<p><b>Infiltración de la glándula lagrimal:</b> sarcoidosis, linfoma, SIDA.</p> <p>Enfermedad de injerto contra huésped</p> <p>Ablación de la glándula lagrimal</p> <p>Denervación de la glándula lagrimal.</p>	<p>Puede ser causada por cualquier forma de conjunctivitis cicatrizal agravado por la obstrucción de las glándulas de Meibomio y por deformación de los párpados.</p> <p><b>Tracoma</b></p> <p><b>Penfigoide cicatrizal y penfigoide de las membranas mucosas</b></p> <p><b>Eritema multiforme</b></p> <p><b>Quemaduras térmicas y químicas</b></p>	<p><b>Bloqueo sensorial reflejo:</b> alteraciones del trigémino, anestesia tópica o sistémica. Uso de lentes de contacto Diabetes Queratitis neurotrófica</p> <p><b>Bloqueo motor reflejo:</b> daño central al VII nervio craneal que ocasiona hiposecreción además de lagofthalmos</p>

## Anexo 3: Preparación del suero autólogo

Revisando la bibliografía, encontramos que existe una gran variabilidad en la metodología de preparación, almacenaje y dispensación del colirio de suero autólogo. Asimismo, la mayoría de los autores coinciden en la necesidad de unificar criterios mediante estudios aleatorizados y multicéntricos para optimizar los resultados obtenidos con este tratamiento.

En la preparación del colirio de suero autólogo intervienen los servicios de Hematología (Banco de Sangre) y Farmacia. Mediante venopunción, con tubos de extracción de vacío con gelosa y sin anticoagulante, se extrae sangre al paciente. La cantidad de sangre extraída varía según los artículos publicados con una media de 40cc. Posteriormente se colocan los tubos en una rejilla en posición vertical a 22°C durante unas dos horas para que la sangre coagule. Este tiempo de coagulación varía también según los autores, así los hay que centrifugan la muestra directamente mientras que otros esperan hasta dos días.<sup>54</sup> En estudios experimentales realizados en cultivos celulares, se ha visto que un mayor tiempo de coagulación está relacionada con un mayor efecto del suero autólogo sobre la migración y diferenciación de las células epiteliales, recomendando, estos autores, un tiempo de coagulación de al menos dos horas. Estos mismos autores encuentran una mayor concentración de todos los factores examinados, siendo significativos para EGF, TGF- $\beta$  cuando la sangre se dejó en reposo más de dos horas.

Una vez coagulada la sangre se procede a su centrifugación para separar el suero del resto de elementos formes. En este apartado la diversidad en las distintas publicaciones es la norma tanto en la potencia de centrifugación como en el tiempo de ésta. Autores como Tsubota et al., centrifugan durante 5 minutos a 1500 rpm, otros como García et al. centrifugan durante 10 minutos a 5.000 rpm,<sup>55</sup> Geerling et al., centrifugan a 3.000 rpm durante 15 minutos, mientras que otros como Malavazzi et al.<sup>56</sup> centrifugan a 1.500 rpm durante una hora. En este sentido es importante considerar que la fuerza de centrifugación no sólo depende del número de rpm, sino que también

depende del diámetro del rotor y éste varía según el tipo de centrifugadora. En general se recomienda una solución intermedia centrifugando durante 10 minutos a 2.500 rpm que es una velocidad media que no produce lisis y se obtienen 5 cc de suero de cada frasco de 10 cc de sangre. <sup>49</sup>

Una vez separado el suero podemos seguir con la preparación del colirio con el suero fresco o almacenarlo en tubos que, protegidos de la luz mediante papel de aluminio y correctamente identificados, se guardan en la nevera a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su preparación posterior. En este paso también existen discrepancias entre los distintos autores. En la mayoría de los casos se prepararan todos los envases de colirio de suero autólogo con suero fresco, dan al paciente el envase o los envases que vayan a utilizar debiéndolos mantener en refrigeración a  $4^{\circ}\text{C}$  y almacenando el resto en nevera a  $-20^{\circ}\text{C}$  o  $-30^{\circ}\text{C}$ . <sup>56</sup> Algunos estudios demuestran que los componentes del suero autólogo son estables durante un mes a temperaturas de  $+4^{\circ}\text{C}$  y durante tres meses a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

La preparación del colirio se realiza en condiciones asépticas y en una campana de flujo laminar. Tras descongelar la muestra de suero o bien con suero fresco, se separan 2 cc de éste y se introducen, a través de un filtro millipore, en un frasco estéril adaptado para uso oftalmológico. Posteriormente se añaden 8 cc de suero fisiológico para conseguir una concentración final del 20%. El envase se envuelve en papel de aluminio y se identifica con los datos del paciente. Al igual que en el resto del proceso, existe gran variabilidad en la bibliografía tanto en la utilización o no de filtros como en la concentración final del producto. La mayoría de los autores no utilizan filtros, sin embargo autores como Fox et al. <sup>48</sup> sí recomiendan el uso de estos filtros para separar

del suero autólogo restos de fibrina que parecen reducir los efectos de éste. La utilización de filtros conlleva ventajas importantes como eliminar restos o partículas que estén presentes en el suero y además por el tamaño del poro (0,22  $\mu\text{m}$ ) estos filtros añaden un efecto esterilizante no dejando pasar microorganismos como bacterias. Pero por otro lado, estos filtros pueden retener moléculas alterando la composición de este suero. En este sentido, la recomendación general es la utilización de filtros millipore que presentan un poro con un tamaño de 0,22  $\mu\text{m}$  y tienen una baja afinidad por las proteínas, siendo útiles para los volúmenes que se manejan de suero autólogo.<sup>49</sup>

La mayoría de los autores utilizan suero fisiológico para hacer la dilución del suero, sin embargo, autores como Liu et al. Encuentran en cultivos de células epiteliales como estas proliferan más cuando la dilución se hace con BSS. El que se utilice una concentración de suero autólogo del 20% es empírico, de hecho no se han visto diferencias significativas entre la migración de células epiteliales en cultivos in vitro entre preparados al 10 o al 20%. Según algunos autores como Poom et al., parece que una mayor concentración tendría más efectos sobre la superficie ocular. Con todo lo más estandarizado es la utilización del suero autólogo a una concentración del 20%. Esta concentración parece suficiente y evita las molestias derivadas de la mayor viscosidad de preparados más concentrados y disminuye considerablemente el número de extracciones de sangre.<sup>49</sup>

El colirio de suero autólogo adecuadamente identificado y envuelto en papel de aluminio, que protege el contenido de la luz, se entrega al paciente. Previamente, y tras firmar el consentimiento informado, el paciente es instruido sobre el correcto uso y

manejo de estos preparados, sobre todo en lo referente a las medidas de conservación e higiene a la hora de aplicar las instilaciones, así como en la manipulación de estos preparados por otras personas ya que no hemos de olvidar que se trata de fluidos parenterales y por tanto pueden transmitir enfermedades infecciosas. En este sentido, y a pesar de que no está normado realizar de forma rutinaria un screening sobre las muestras de sangre, sí es recomendable saber si el paciente presenta alguna enfermedad de transmisión parenteral para desaconsejar el uso de este preparado o en su defecto instruirle sobre los potenciales peligros que de ello se pueden derivar para con terceras personas.

#### Anexo 4: Preparación de plasma rico en plaquetas

El plasma rico en factores de crecimiento es un extracto natural que se obtiene de la propia sangre del paciente. La preparación involucra 2 a 3 concentrados plaquetarios obtenidos de la sangre del paciente por centrifugación, resultando en un líquido que puede ser usado como gotas oftálmicas para su aplicación tópica. 50 ml de sangre se obtienen por venopunción en tubos estériles de 5 ml que contengan citrato de sodio al 3.8%, las muestras son centrifugadas durante 8 minutos a 460 g a temperatura ambiente. La fracción inmediatamente superior a los eritrocitos se toma y transfiere a un tubo estéril. La activación plaquetaria y la formación de la matriz de fibrina se induce al adicionar cloruro de calcio para una concentración final de 22.8mM y se deja por 2 horas a 37°C. Lo obtenido es rico en factores de crecimiento y se diluye a una concentración de 1:1 con cloruro de sodio al 0.9%, 2.5 ml de esta dilución se transfiere a botes estériles de 5 ml.<sup>62</sup>

La diferencia entre el plasma rico en plaquetas y el plasma rico en factores de crecimiento es en cuanto a la preparación ya que para el tratamiento con PRGF la activación plaquetaria se alcanza al añadir calcio mientras que la activación plaquetaria no se induce en los tratamientos a base de E-PRP en cuyo caso el extracto de plaquetas es congelado y al descongelarlo las plaquetas sufren lisis con lo que se liberan los factores de crecimiento. De cualquier manera el principio es el mismo y ambas se acompañan de las enzimas lisosomales responsables de su degradación.<sup>62</sup>

Inicialmente se recomienda una gota cada 2 horas (durante el día) los primeros 3 días posteriormente el régimen se personaliza dependiendo de la función y la evaluación clínica de cada epiteliopatía. Existen dos potenciales efectos adversos con el uso del PRGF la infección (principalmente debido a la manipulación del producto por el paciente) y la neovascularización.<sup>62</sup>

## Anexo 5. Hoja de consentimiento informado

### CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA

Título del protocolo: EFECTOS CLÍNICOS EN EL EPITELIO CORNEAL CON EL USO DE SUERO AUTÓLOGO VS PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN PACIENTES CON OJO SECO SECUNDARIO A SÍNDROME DE SJÖGREN

Investigador principal: Dra. Claudia Inés Galindo Galindo

Servicio de córnea de la División de Oftalmología H. de Especialidades CMN Siglo XXI

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

Se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los apartados. Siéntase con libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme este consentimiento.

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO. Los síntomas de ojo seco son muy molestos e incapacitantes, en ocasiones se tienen que utilizar muchos medicamentos y con ninguno se logra mejoría.

2. OBJETIVO DEL ESTUDIO. Encontrar el tratamiento más eficaz y seguro para disminuir los síntomas de irritación y sequedad ocular en pacientes con Sjögren que no represente costo extra.

3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO. Alrededor del mundo se han hecho estudios que demuestran la mejoría de los pacientes con este tipo de tratamiento, lo que esperamos es disminuir al máximo los síntomas y que sea evidente el progreso y permitir que usted y los pacientes que en un futuro se integren al servicio puedan recibir el tratamiento.

4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO. Se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus padecimientos, síntomas y medicamentos. Se le harán dos tomas de muestra de sangre, una para realizar estudios que detecten enfermedades transmisibles (como VIH o hepatitis) y otra para procesar la sangre y obtener gotas oftalmológicas destinadas al tratamiento del ojo seco y se evaluará antes y después del tratamiento.

5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO. Existe riesgo de contaminación al momento de tomar la muestra de sangre o de introducir más de lo necesario la aguja y provocar un hematoma de mayor tamaño y dolor. Los riesgos de la colocación de las gotas es que empeoren los síntomas o que se desarrollen vasos sanguíneos anormales sobre la córnea. Pudiera haber riesgos impredecibles que escapen de nuestro conocimiento.

#### 6. ACLARACIONES

- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo.
- La información obtenida en este estudio será mantenida con estricta confidencialidad.

#### 7. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación.

\_\_\_\_\_  
Firma del participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma del testigo

## Anexo 6. Hoja de recolección de datos



### HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NOMBRE: \_\_\_\_\_ NSS: \_\_\_\_\_  
 EDAD: \_\_\_\_\_ GÉNERO:  F  M OCUPACIÓN: \_\_\_\_\_  
 TIEMPO DE DIAGNÓSTICO SÍNDROME DE SJÖGREN: \_\_\_\_\_ AÑOS \_\_\_\_\_ MESES

#### ENFERMEDADES CRÓNICAS:

1. Diabetes	4. Artritis reumatoide	7. Tiroidea	10. EPOC	13. IC
2. Hipertensión	5. Lupus	8. Asma	11. Gastritis/ERGE	14. Otros
3. Dislipidemia	6. Esclerosis múltiple	9. Insuficiencia renal	12. Alergia	

#### MEDICAMENTOS SISTÉMICOS:

1. Hormonas	3. Betabloqueadores	5. Insulina	7. Esteroides	9. Antihistamínicos
2. Diuréticos	4. IECA	6. Hipoglucelantes	8. AINE	10. Otros

#### MEDICAMENTOS TÓPICOS:

1. Hipotensor	3. Antibiótico	5. AINE	7. Inmunológico	9. Antiérgicos
2. Lubricante	4. Antiviral	6. Esteroides	8. Ciclopléjico	10. Otros

#### CRITERIOS:

INCLUSIÓN	SI	NO	EXCLUSIÓN	SI	NO
Biopsia positiva			Deficiencia vit. A		
Serología negativa			Otras patologías corneales previas		
Hb >10 mg/dL			Antecedente toxicidad hemoderivados		
Plaquetas >150 mil			Catarata avanzada		
Letrado			Retinopatía		
			Maculopatía		
			Enf. inflamatoria ocular		
			Glaucoma avanzado		
			Desprendimiento de retina		
			Cirugía ocular previa		

#### EXPLORACIÓN:

	BASAL		4 SEMANAS		DIFERENCIA	
	OD	OI	OD	OI	OD	OI
AV						
CV						
QPP AREA %						
QPP DEN. +						
	SI	NO	SI	NO		
FOTOFOBIA						
SENSACIÓN CPO EXTRAÑO						
DOLOR						
	MEJORA SUBJETIVA					
	APEGO AL TRATAMIENTO					



ANEXO 6: TABLAS Y GRÁFICAS DE RESULTADOS

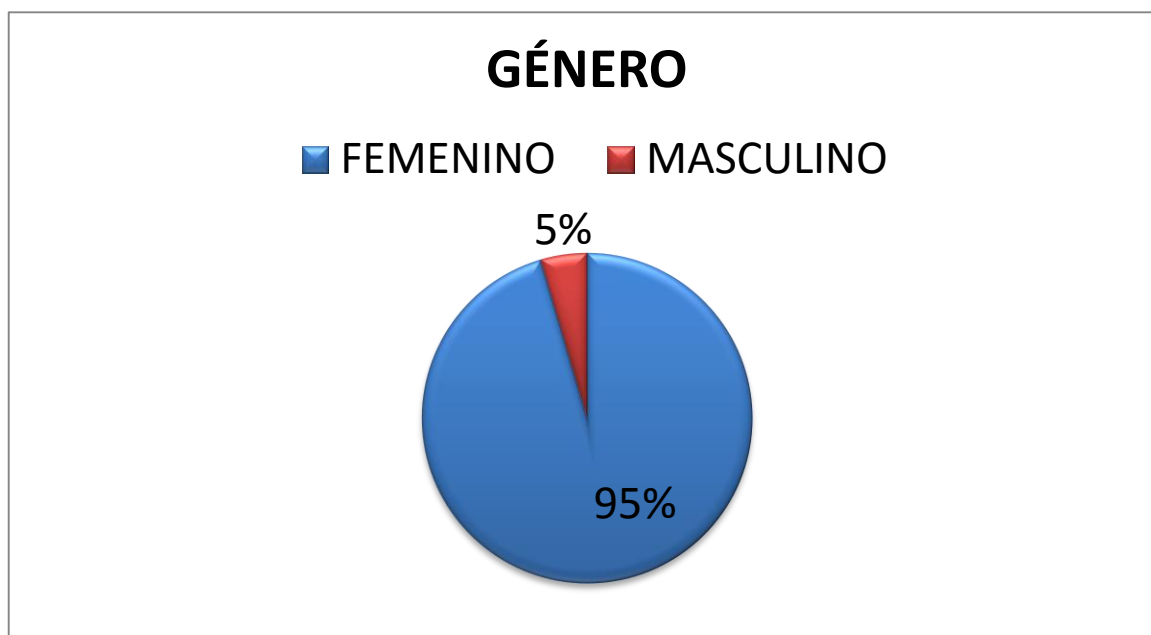
Tabla 1. Generalidades de los pacientes

Variable	N	
<b>Género</b>		
Femenino	21	(95.5)*
Masculino	1	(0.5)*
<b>Edad</b>	57	(28 - 72)**
<b>Ocupación</b>		
Hogar	12	(54.5)*
Empleada	3	(13.6)*
Asistente	2	(9.1)*
Comerciante	2	(9.1)*
Pensionada(o)	2	(9.1)*
Maestra	1	(4.6)*
<b>Tiempo de Sdx. Sjögren</b>	4	(1 - 10)**

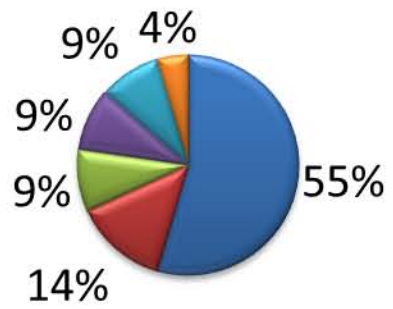
Fuente: Hoja de recolección

\*Proporción

\*\*Rango



## OCUPACIÓN

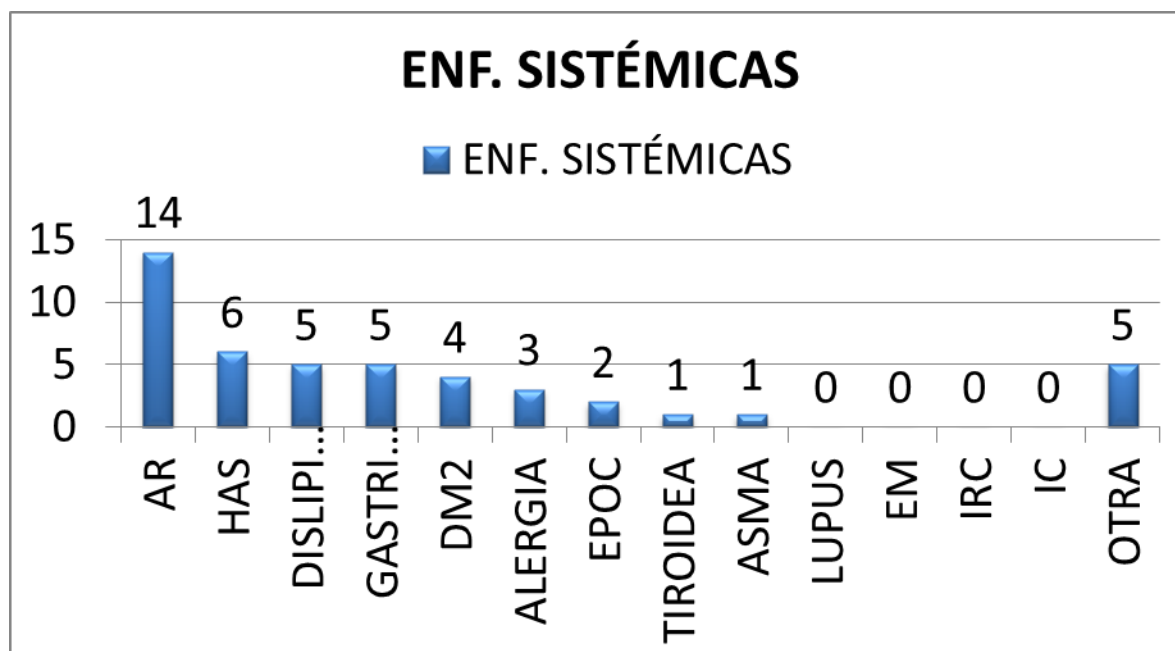


**Tabla 2. Enfermedades Sistémicas de los pacientes en estudio**

Variable	N	
<b>Enfermedades Sistémicas</b>		
Artritis reumatoide	14	(63.6)*
Hipertensión Sistémica	6	(27.3)*
Dislipidemia	5	(22.7)*
Gastritis/ERGE	5	(22.8)*
Otra enfermedad	5	(22.8)*
Diabetes Mellitus	4	(18.2)*
Alergia	3	(13.6)*
EPOC	2	(9.1)*
Tiroidea	1	(4.6)*
Asma	1	(4.6)*
Lupus	0	(0)*
Esclerosis múltiple	0	(0)*
Insuficiencia renal	0	(0)*
Insuficiencia cardiaca	0	(0)*

Fuente: Hoja de recolección

\*Proporción



**Tabla 3. Medicamentos empleados por los pacientes en estudio**

<b>Variable</b>	<b>N</b>	
<b>Medicamentos sistémicos</b>		
<b>AINES</b>	13	(59.1)*
<b>Esteroides</b>	6	(27.3)*
<b>Inhibidores de ECA</b>	4	(18.2)*
<b>Betabloqueadores</b>	3	(13.6)*
<b>Hipoglucemiantes</b>	3	(13.6)*
<b>Insulina</b>	2	(9.1)*
<b>Antihistamínicos</b>	1	(4.6)*
<b>Hormonas</b>	0	(0)*
<b>Diuréticos</b>	0	(0)*
<b>Otro tratamiento</b>	10	(45.5)*
<b>Medicamentos tópicos</b>		
<b>Lubricante</b>	17	(77.3)*
<b>Esteroides</b>	4	(18.2)*
<b>Inmunológico</b>	4	(18.2)*
<b>Antibiótico</b>	1	(4.6)*
<b>Antialérgicos</b>	1	(4.6)*
<b>Hipotensor</b>	0	(0)*
<b>Antiviral</b>	0	(0)*
<b>AINE</b>	0	(0)*
<b>Ciclopléjico</b>	0	(0)*
<b>Otro tratamiento</b>	3	(13.6)*

Fuente: Hoja de recolección

\*Proporción

**Tabla 4. Tipo de tratamiento aplicado**

<b>Variable</b>	<b>N</b>	
<b>Tratamiento aplicado</b>		
<b>Suero Autólogo</b>	10	(45.5)*
<b>Plasma rico en plaquetas</b>	12	(54.5)*

Fuente: Hoja de recolección

\*Proporción

**Tabla 5. Resultados de valoración de los Pacientes de Estudio**

	BASAL		4 SEMANAS		DIFERENCIA	p
<b>Exploración</b>						
<b>AV</b>	0.26	(±0.02)**	0.29	(±0.02)**	-0.03	0.0001
<b>CV</b>	0.35	(±0.03)**	0.42	(±0.03)**	0.07	0.0008
<b>QPP Área%</b>	22.09	(±2.07)**	18.77	(±2.91)**	-3.32	0.38
<b>QPP DEN. +</b>	2.6	(±0.17)**	1.8	(±0.14)**	-0.8	0.35
<b>Sintomatología</b>						
<b>Fotofobia</b>	34	(85)*	6	(15)*	-27	0.22
<b>Sensación de cuerpo extraño</b>	34	(85)*	13	(32.5)*	-22	0.1
<b>Dolor</b>	18	(45)*	1	(2.5)*	-17	0.3
<b>Mejoría</b>	--	--	38	(95)*	38	--

Fuente: Hoja de recolección

\*Proporción

\*\*Desviación estándar

**Tabla 6. Resultados de la aplicación de Suero Autólogo**

	BASAL		4 SEMANAS		DIFERENCIA	p
<b>Exploración</b>						
<b>AV</b>	0.25	(±0.03)**	0.31	(±0.04)**	0.06	0.01
<b>CV</b>	0.36	(±0.05)**	0.42	(±0.06)**	0.06	0.08
<b>QPP Área%</b>	21.23	(±1.68)**	16.01	(±2.07)**	-5.22	0.4
<b>QPP DEN. +</b>	3	(±0.25)**	1.88	(±0.17)**	-1.12	0.3
<b>Sintomatología</b>						
<b>Fotofobia</b>	17	(94.44)*	2	(11.11)*	-15	0.6
<b>Sensación de cuerpo extraño</b>	16	(88.89)*	7	(38.89)*	-9	0.4
<b>Dolor</b>	9	(50)*	1	(5.56)*	-8	0.3
<b>Mejoría</b>	--	--	18	(100)*	18	--

Fuente: Hoja de recolección

\*Proporción

\*\*Desviación estándar

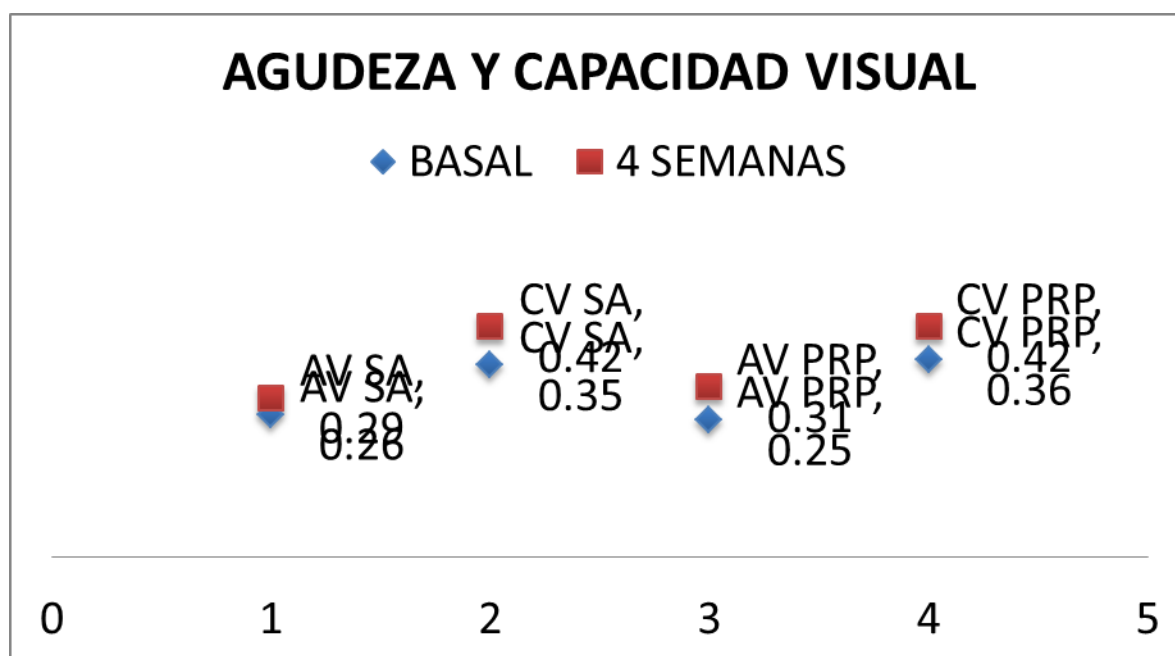
**Tabla 7. Resultados de la aplicación de Plasma rico en plaquetas**

	BASAL		4 SEMANAS		DIFERENCIA	<i>p</i>
<b>Exploración</b>						
<b>AV</b>	0.26	(±0.03)**	0.28	(±0.03)**	0.02	0.005
<b>CV</b>	0.34	(±0.04)**	0.42	(±0.04)**	0.08	0.09
<b>QPP Área%</b>	22.7	(±3.5)**	1.72	(±0.22)**	-20.98	0.3
<b>QPP DEN. +</b>	2.3	(±0.21)**	0.18	(±0.08)**	-2.12	0.6
<b>Sintomatología</b>						
<b>Fotofobia</b>	17	(77.27)*	4	(18.18)*	0-13	0.2
<b>Sensación de cuerpo extraño</b>	18	(81.82)*	6	(27.27)*	0-12	0.1
<b>Dolor</b>	9	(40.92)*	0	(100)*	0	0.0001
<b>Mejoría</b>	--	--	20	(90.91)*	20	--

Fuente: Hoja de recolección

\*Proporción

\*\*Desviación estándar



## BIBLIOGRAFÍA

1. Begley CG, et al. The relationship between habitual patient-reported symptoms and clinical signs among patients with dry eye of varying severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(2):4753-61
2. A datia FA, et al. Correlation between corneal sensitivity, subjective dry eye symptoms and corneal staining in Sjogren's syndrome. *Can J Ophthalmol* 2004;39:767-71
3. Vitale S, et al. Comparison of the NEI -VFQ and OSDI questionnaires in patients with Sjogren's syndrome-related dry eye. *Health Qual Outcomes* 2004;2:44
4. Rieger G. The importance of the precorneal tear film for the quality of optical imaging. *Br J Ophthalmol* 1992;76:157-8
5. Liu Z, Pflugfelder SC. Corneal surface irregularity and the effect of artificial tears in aqueous tear deficiency. *Ophthalmology* 1999;106:936-43
6. Goto E, et al. Impaired functional visual acuity of dry eye patients. *Am J Ophthalmol* 2002;133:181-6
7. Holly F, Lemp MA. Formation and rupture of the tear film. *Exp Eye Res* 1973;15:515-25
8. Bron AJ. Diagnosis of dry eye. *Surv Ophthalmol* 2001;45(2):S221-6
9. Goto T, et al. A new method for tear film stability using videokeratography. *Am J Ophthalmol* 2003;135:607-12
10. Farris RL, Stuchell RN. Tear osmolarity variation in the dry eye. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1986;84:250-68
11. Gilbard JP. Human tear film electrolyte concentrations in health and dry eye disease. *Int Ophthalmol Clin* 1994 Winter;34:27-36
12. Murube J. Tear osmolarity. *Ocul Surf* 2006;1:62-73
13. Tomlinson A, et al. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:4309-15
14. Stern ME, et al. The pathology of dry eye; the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea* 1998;17:584-9
15. Pflugfelder SC, Solomon A. The diagnosis and management of dry eye:a twenty-five year review. *Cornea* 2000;19:644-9
16. Beuerman RW, et al. The lacrimal functional unit, in Pflugfelder SC, Beuerman RW, Stern ME (eds). *Dry eye and ocular surface disorders*. New York, Marcel Dekker, 2004

17. Stern ME, et al. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004;78:409-6
18. The Ocular Surface ISSN: 1542-0124. (No authors listed). The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). 2007;5 (2):75-92.
19. Richard G. Fiscella, PharmD. Understanding Dry Eye Disease: A Managed Care Perspective. Published Online: April 14, 2012
20. Murube J, Benitez del Castillo JM. The Madrid triple classification system. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2003;78;587-93
21. Murube J, et al. The triple classification of dry eye for practical clinical use. *Eur J Ophthalmol* 2005;15:660-7
22. Behrens A, et al. Dysfunctional tear syndrome: A Delphi approach to treatment recommendations. *Cornea* 2006;25:900-7
23. Nakamori K, et al. Blinking is controlled primarily by ocular surface conditions. *Am J Ophthalmol* 1997;124:24-30
24. Mangubat L, Luague S. Normal measurements of the palpebral fissure and the interpalpebral distance among Filipinos. *Philipp J Surg Surg Spec* 1966;21:304-6
25. Sullivan DA. Sex and sex steroid influences on the dry eye syndrome, in Pflugfelder SC, Beuerman RW, Stern ME (eds). Dry eye and ocular surface disorders. New York, Marcel Dekker, 2004
26. Sullivan BD, Evans JE. Influence of aging on the polar and neutral lipid profiles in human meibomian gland secretions. *Arch Ophthalmol* 2006;124: 286-92
27. De Paiva CS, et al. Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAP K activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Exp Eye Res* 2006;83:526-35
28. Hayashi Y, Arakaki R. The role of caspase cascade on the development of primary Sjogren's syndrome. *J Med Invest* 2003;50:32-8
29. Zoukhri D. Effect of inflammation on lacrimal gland function. *Exp Eye Res* 2006;82:885-98. [Epub 2005 Nov 23]
30. Dawson L, et al. Antimuscarinic antibodies in Sjogren's syndrome: where are we, and where are we going? *Arthritis Rheum* 2005;52:2984-95
31. Dawson LJ, et al. Antimuscarinic antibodies in primary Sjogren's syndrome reversibly inhibit the mechanism of fluid secretion by human submandibular salivary acinar cells. *Arthritis Rheum* 2006;54:1165-73



32. Foulks G, Bron AJ. A clinical description of meibomian gland dysfunction. *Ocul Surf* 2003;107-26
33. Bron AJ, Tiffany JM. The contribution of Meibomian disease to dry eye. *Cornea* 2004;2:149-64
34. Bron AJ, et al. Functional aspects of the tear film lipid layer. *Exp Eye Res* 2004;78 347-60
35. Hori Y, et al. Differential regulation of membrane-associated mucins in the human ocular surface epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:114-22
36. Li DQ, et al. Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4302-11
37. Bourcier. Decreased corneal sensitivity in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2341-5
38. Benitez-Del-Castillo JM, et al. Relation between corneal innervation with confocal microscopy and corneal sensitivity with noncontact esthesiometry in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:173-81
39. Belmonte C, Tervo T. Pain in and around the eye, in McMahon S, Koltzenburg M (eds). Wall and Melzack's Textbook of Pain, 5th Edition. London, Elsevier Science, 2005
40. Uchiyama E, Aronowicz JD. Pattern of vital staining and its correlation with aqueous tear deficiency and meibomian gland dropout. *Eye Contact Lens* 2007; 33:177-179.
41. Erdogan-Poyraz C, et al. Delayed tear clearance in patients with conjunctivochalasis is associated with punctal occlusion. *Cornea* 2007; 26:290-293.
42. Latkany R. Dry eyes: etiology and management. *Current Opinion in Ophthalmology* 2008, 19:287-291
43. Korb DR. Survey of preferred tests for diagnosis of the tear film and dry eye. *Cornea*. 2000;19(4):483- 486.
44. Benjamin D, et al. An Objective Approach to Dry Eye Disease Severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:6125-6130
45. Stefano B, Yihe Chenb. Ocular Surface Immunity: Homeostatic Mechanisms and Their Disruption in Dry Eye Disease. *Prog Retin Eye Res*. 2012 May; 31(3): 271-285.

46. Lekhanont K, et al. Effect of topical olopatadine and epinastine in the botulinum toxin B-induced mouse model of dry eye. *J Ocul Pharm Thera* 2007; 23:83-88.
47. Erdurmus M, Totan Y. Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007; 245:1577-1579.
48. Fox RI, et al. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 459-461.
49. López-garcía J, García-lozano I. Use of autologous serum in ophthalmic practice. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2007; 82: 9-20.
50. Alvarado Valero MC, et al. Tratamiento de defectos epiteliales persistentes mediante suero autólogo. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2004; 79: 537-542.
51. Lagnado R, King AJ. A protocol for low contamination risk of autologous serum drops in the management of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2004; 88: 464-465.
52. Geerling G, Daniels JT. Toxicity of natural tear substitutes in a fully defined culture model of human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 948-956.
53. Noble BA, et al. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol* 2004; 88: 647-652.
54. Geerling G, Maclennan S. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2004; 88: 1467-1474.
55. Garcia Jimenez V, et al. The elaboration, use and evaluation of eyedrops with autologous serum in corneal lesions. *Farm Hosp* 2003; 27: 21-25.
56. Malavazzi GR, Lake JC. Effect of honey and autologous serum on corneal epithelial healing in rabbits. *Arq Bras Oftalmol* 2005; 68: 347-351.
57. Matsumoto Y, et al. Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy. *Ophthalmology* 2004; 111: 1115-1120.
58. Peter A.M. Everts, EKP. Platelet-Rich Plasma and Platelet Gel: A Review. *JECT*. 2006;38:174-187.
59. Alio JL, Arnalich-Montiel F. The role of "eye platelet rich plasma" (E-PRP) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13(7):1257-65.
60. Panda A, Mohit-Jain. Topical Autologous Platelet-Rich Plasma Eyedrops for Acute Corneal Chemical Injury. *Cornea* 2012;31:989-993.
61. Alio JL, Colecha J. Symptomatic Dry Eye Treatment with Autologous Platelet-Rich Plasma. *Ophthalmic Res* 2007;39:124-129

62. López-Plandolit, Morales, Freire V. Plasma Rich in Growth Factors as a Therapeutic Agent for Persistent Corneal Epithelial Defects. *Cornea* 2010;29:843-848.
63. García-Catalán, Jerez-Olivera. Dry eye and quality of life. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2009; 84: 451-458.