

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**Facultad de Medicina**

**Departamento de Histología**



**Tesis Doctoral**

**Utilidad del suero autólogo en el tratamiento  
de lesiones tróficas corneales**

**María del Carmen González Gallardo**

**Granada, 2012**

Editor: Editorial de la Universidad de Granada  
Autor: María del Carmen González Gallardo  
D.L.: GR 2192-2012  
ISBN: 978-84-9028-108-6







**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**Facultad de Medicina**

**Departamento de Histología**



**Tesis Doctoral**

**Utilidad del suero autólogo en el tratamiento  
de lesiones tróficas corneales**

Memoria que presenta la Licenciada en Medicina y Cirugía y  
Máster en Biomedicina Regenerativa **María del Carmen  
González Gallardo** para aspirar al título de Doctora.

**Fdo: María del Carmen González Gallardo**









**Universidad de Granada**  
***Facultad de Medicina***  
**Departamento de Histología**

## **Utilidad del suero autólogo en el tratamiento de lesiones tróficas corneales**

Los doctores José Luis García Serrano, perteneciente al Servicio de Oftalmología del H.U. San Cecilio y Profesor asociado de Oftalmología del Departamento de Cirugía de la Universidad de Granada, Miguel González Andrades Servicio de Oftalmología del H.U. San Cecilio de Granada y Miguel Alaminos Mingorance, Profesor titular de Universidad y perteneciente al Departamento de Histología de la Universidad de Granada.

Certifican:

Que el trabajo de investigación que recoge esta Memoria de Tesis Doctoral, titulada “**Utilidad del suero autólogo en el tratamiento de lesiones tróficas corneales**”, presentada por la licenciada en Medicina y cirugía y Máster en Biomedicina Regenerativa D<sup>a</sup> María del Carmen González Gallardo, ha sido realizada bajo nuestra dirección en el Servicio de Oftalmología del H.U. San Cecilio de Granada y en el Departamento de Histología de la Universidad de Granada.

**Vº Bº El Director de Tesis    Vº Bº El Director de Tesis    Vº Bº El Director de Tesis**

**Fdo: José Luis García Serrano**  
*Servicio de Oftalmología HU San Cecilio. Profesor Asociado Universidad de Granada*

**Fdo: Miguel González Andrades**  
*Servicio de Oftalmología HU San Cecilio de Granada.*

**Fdo: Miguel Alaminos Mingorance**  
*Profesor Titular Departamento Histología Universidad de Granada*







# AGRADECIMIENTOS:

En primer lugar, deseo agradecer toda la ayuda recibida a mis directores de tesis:

- Al doctor José Luis García Serrano, quién también ha sido mi “tutor de residencia” durante todos estos años. Gracias por tu esfuerzo y apoyo, por todas esas horas de trabajo y por todo lo que he aprendido en estos años trabajando contigo.

- Al doctor Miguel González Andrades, mi “R pequeño”, gracias Migue por toda tu dedicación y paciencia, por estar disponible a cualquier hora y por todos tus consejos.

- Al doctor Miguel Alaminos Mingorance, por su cercanía y disposición y porque siempre que lo he necesitado han buscado tiempo para ayudarme.

En segunda lugar, deseo agradecer la ayuda recibida en el estudio estadístico de esta tesis al doctor Jesús Cantero, sin su apoyo este trabajo no hubiera podido llevarse a cabo.

Al Departamento de Anatomía Patológica, empezando por el Dr Aneiros por permitirme poner en marcha la técnica de la Citología de Impresión. A los doctores José Luis López Caballero y Francisco O’valle, por la ayuda recibida en la interpretación de mis muestras. A mi compañera y amiga Mercedes Caba Molina. Gracias Merche por todo el tiempo empleado en ayudarme a realizar mi trabajo.

A mi jefe, el Dr. Daniel Serrano Laborda, por sus enseñanzas, por facilitarme la realización de mi trabajo, la asistencia a conferencias, congresos... y sobre todo por haber sabido despertar en mí las ganas de aprender cada día más disfrutando con mi trabajo.

Al servicio de Farmacia hospitalaria por facilitarme la recogida de datos y por resolverme cuantas dudas me han surgido a lo largo de la realización de la tesis.

Al Banco de Tejidos por su colaboración, sin su trabajo este proyecto no se habría llevado a cabo.

Al Dr. Javier Auriguiberry González, por la ayuda que me ha brindado en la valoración de los pacientes y en la puesta en marcha de la técnica de citología de impresión.

Al resto de mis compañeros en el Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario San Cecilio: residentes, adjuntos, enfermeras y auxiliares de enfermería. Gracias por haberme echado un cable cuando os he necesitado.

En último lugar, y como apoyo más importante durante tantas horas de trabajo, a mis padres, a mi hermano y a Juanfran. Gracias por estar siempre ahí.

**A mi familia**



## **ÍNDICE**



**ÍNDICE GENERAL**

	<i>Página</i>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>35</b>
I.1. Anatomía corneal	37
I.1.1. Epitelio corneal	38
I.1.2. Membrana de Bowman	40
I.1.3. Estroma	40
I.1.4. Membrana de Descemet	42
I.1.5. Endotelio	42
I.2. Conservación de la integridad de la superficie ocular	43
I.2.1. Epitelio corneal	43
I.2.2. Estroma	44
I.2.3. Inervación corneal	45
I.3. Patología trófica corneal	47
I.3.1. Úlcera neurotrófica	47
I.3.2. Queratitis sicca	48
I.3.3. Causticaciones	51
I.3.3.1. Álcalis	52
I.3.3.2. Ácidos	52
I.3.4. Úlceras inmunológicas	53
I.4. ¿QUE ES EL SUERO AUTÓLOGO?	57
I.4.1. Propiedades del suero autólogo	60
I.4.2. Aplicaciones del SA en oftalmología	63
I.4.3. Complicaciones derivadas del empleo del SA	65

---

<b>II. JUSTIFICACIÓN</b>	67
II.1. Justificación	69
II.2. Hipótesis	70
<b>III. OBJETIVOS</b>	71
III.1. Objetivo general	73
III.2. Objetivos específicos	73
<b>IV. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	75
IV.1. Diseño del estudio	75
IV.2. Elaboración del colirio de SA	75
IV.3. Selección de pacientes	82
IV.2.1. Criterios de inclusión	82
IV.2.2. Criterios de exclusión	82
IV.2.2.1. Grupo de tratamiento con SA	82
IV.2.2.2. Grupo control	83
IV.4. Valoración de las lesiones	84
IV.3.1. Macroscópicamente	84
IV.3.2. Microscópicamente	86
IV.4. Análisis de los resultados	88
<b>V. RESULTADOS</b>	91
V.1. Estadística descriptiva	93
V.1.1. Grupo control	95
V.1.1.1. Variables cuantitativas	95
V.1.1.2. Variables cualitativas	97
V.1.2. Grupo de tratamiento con SA	99
V.1.2.1. Variables cuantitativas	100

---

V.1.2.2. Variables cualitativas	103
V.1.3. Comparación características epidemiológicas del grupo control frente al grupo de tratamiento con SA	105
V.1.4. Grupo de tratamiento con SA. Complicaciones corneal antes y después del tratamiento con SA	107
V.2. Estadística inferencial	111
V.2.1. Análisis bivalente curación/no curación en el grupo control	113
V.2.1.A. Variables cuantitativas	113
V.2.1.B. Variables cualitativas	115
V.2.1.B.1. Relación curación/no curación según el tipo de úlcera	115
V.2.1.B.2. Relación curación/no curación según el sexo	116
V.2.1.B.3. Relación curación/no curación según patología uni/bilateral	118
V.2.1.B.4. Relación curación/no curación según la necesidad de cirugía reconstructiva	119
V.2.2. Análisis bivalente curación/no curación en el grupo de tratamiento con SA	121
V.2.2. A.1. Variables cuantitativas	121
V.2.2. B. Variables cualitativas	124
V.2.2. B.1. Relación curación/no curación según el tipo de úlcera	124
V.2.2. B.2. Relación curación/no curación según el sexo	128
V.2.2. B.3. Relación curación/no curación según la patología sea uni/bilateral	129

V.2.2.B.4. Relación curación/no curación según la necesidad de cirugía reconstructiva	130
V.2.3. Análisis bivalente cirugía/no cirugía en el grupo de tratamiento con SA	133
V.2.3.A. Variables cuantitativas	133
V.2.3.B. Variables cualitativas	135
V.2.3.B.1. Realización cirugía/no cirugía según el tipo de úlcera	135
V.2.3.B.2. Realización cirugía/no cirugía según el sexo	137
V.2.2.B.3. Relación cirugía/no cirugía según la patología sea uni/bilateral	138
V.2.4. Análisis bivalente del grupo de tratamiento con SA pretratamiento- postratamiento	140
V.2.4.1. Queratitis punctata	140
V.2.4.2. Defecto epitelial	141
V.2.4.3. Conjuntivalización	143
V.2.4.4. Queratinización	144
V.2.4.5. Neovascularización	145
V.2.4.6. Opacificación	147
V.2.4.7. Agudeza visual (comparación frente a grupo control	148
V.2.5. Correlación score pretratamiento-postratamiento con agudeza visual pretratamiento-postratamiento	151
V.2.6. Matriz de correlación para agudeza visual pretratamiento y postratamiento con SA	155
V.2.7. Relación entre duración del tratamiento con SA en úlceras tróficas corneales y su gravedad	158

---

V.2.8. NNT enucleación y/o evisceración	161
V.2.9. NNT cirugía versus no cirugía	163
V.2.10. Análisis de curación en función del tiempo de tratamiento con SA	166
V.2.10.1. Análisis del tiempo de tratamiento con SA en función del grado de queratinización pretto	170
V.2.10.2. Análisis de correlación entre la duración del tratamiento y el tipo de úlcera	172
V.2.11. Análisis multivariante	173
<b>VI. DISCUSIÓN</b>	<b>179</b>
VI.1. Principales obstáculos en la realización del estudio	181
VI.2. Resultados	191
VI.2.1. Análisis de los cambios de la superficie ocular tras tratamiento con SA	200
VI.2.1.1. Defecto epitelial	202
VI.2.1.2. Neovascularización	205
VI.2.1.3. Conjuntivalización	207
VI.2.1.4. Queratinización	210
VI.2.1.5. Opacificación	212
VI.2.2. Valoración de superficie ocular mediante citología de impresión	215
VI.3. Comparación del SA con otras terapias en biomedicina regenerativa	219
VI.3.1. Membrana amniótica	219
VI.3.2. Suero obtenido de cordón umbilical	223
VI.3.3. Plasma enriquecido en factores de crecimiento	225

---

<b>VII. CONCLUSIONES</b>	227
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA</b>	231
<b>IX. ANEXOS</b>	249
IX.1. Anexo 1: Consentimiento informado	251
IX.2. Anexo 2: Clasificación de Sotozono	253
IX.3. Anexo 3: Tabla para la clasificación de las citologías de impresión	254
IX.4. Anexo 4: Casos clínicos representativos	255
IX.4.1. Queratitis siccas	255
IX.4.2. Úlceras neurotróficas	261
IX.4.3. Úlceras inmunológicas/causticaciones	273

**ÍNDICE DE TABLAS:****I. INTRODUCCIÓN:**

<b>Tabla 1.</b> Concentraciones comparadas entre lágrima y SA de los principales factores epiteliotróficos	58
--	----

**II. MATERIAL Y MÉTODOS:**

<b>Tabla 1.</b> Concentración factores de crecimiento en función de la energía de centrifugación empleada	79
---	----

**III. RESULTADOS:**

<b>Tabla 1.</b> Resumen estadística descriptiva variables cuantitativas en el grupo control	95
<b>Tabla 2.</b> Resumen estadística descriptiva variables cualitativas en el grupo Control	97
<b>Tabla 3.</b> Resumen estadística descriptiva variables cuantitativas en el grupo tratado con SA	100
<b>Tabla 4.</b> Resumen estadística descriptiva variables cualitativas en el grupo de tratamiento con SA	103
<b>Tabla 5.</b> Comparación variables epidemiológicas entre grupo control y grupo de tratamiento con SA	105
<b>Tabla 6.</b> Resumen estadística descriptiva de lesiones antes y después del tratamiento con SA	108
<b>Tabla 7.</b> Resumen curación/no curación en el grupo control	113
<b>Tabla 8.</b> Porcentaje de conservación/no conservación del órgano según tipo de úlcera en el grupo control	115
<b>Tabla 9.</b> Test estadístico $\chi^2$ : conservación/no conservación en función del tipo de úlcera en el grupo control	116

<b>Tabla 10.</b> Porcentajes de conservación/no conservación del en función del sexo	117
<b>Tabla 11.</b> Test estadístico $\chi^2$ : conservación/no conservación según sexo en grupo control	118
<b>Tabla 12.</b> Porcentajes de conservación/no conservación según patología uni/bilateral en el grupo control	118
<b>Tabla 13.</b> Curación/no curación en función de la realización de cirugía reconstructiva en grupo control	120
<b>Tabla 14.</b> Curación/no curación en función de variables cuantitativas en el grupo de tratamiento con SA	122
<b>Tabla 15.</b> Curación/no curación en función del tipo de úlcera en el grupo de tratamiento con SA	124
<b>Tabla 16.</b> Test estadístico $\chi^2$ : curación/no curación en función del tipo de úlcera en el grupo de tratamiento con SA	124
<b>Tabla 17.</b> Número de pacientes que curan/no curan según grupo de tratamiento al que pertenecen	126
<b>Tabla 18.</b> Pacientes con úlceras inmunes o causticación que curan/no curan según grupo de tratamiento al que pertenecen	127
<b>Tabla 19.</b> Resumen curación/no curación en función del sexo	128
<b>Tabla 20.</b> Test estadístico $\chi^2$ : curación/no curación en función del sexo en el grupo de tratamiento con SA	129
<b>Tabla 21.</b> Porcentajes de curación/no curación en función de patología uni/bilateral en el grupo de tratamiento con SA	129
<b>Tabla 22.</b> Número y porcentaje de curaciones/no curaciones en función de necesidad y tipo de cirugía realizada en grupo de tratamiento con SA	131
<b>Tabla 23.</b> Número y porcentaje de curaciones/no curaciones en función de necesidad de cirugía	131

<b>Tabla 24.</b> Cirugía/no cirugía en función de variables cuantitativas en grupo SA	133
<b>Tabla 25.</b> Necesidad de cirugía en función del tipo de úlcera en grupo de tratamiento con SA	135
<b>Tabla 26.</b> Test estadístico $\chi^2$ : cirugía/no cirugía en función del tipo de úlcera en el grupo de tratamiento con SA	136
<b>Tabla 27.</b> Comparativa de necesidad de cirugía en queratitis siccas frente a úlceras inmunes, neurotróficas y causticaciones en grupo de tratamiento SA	136
<b>Tabla 28.</b> Necesidad de cirugía en función del sexo en grupo de SA	138
<b>Tabla 29.</b> Porcentaje de pacientes según el grado de queratitis punctata antes y después del tratamiento con SA	140
<b>Tabla 30.</b> Porcentaje de pacientes según el grado de defecto epitelial antes y después del tratamiento con SA	142
<b>Tabla 31.</b> Porcentaje de pacientes según el grado de conjuntivalización antes y después del tratamiento con SA	143
<b>Tabla 32.</b> Porcentaje de pacientes según el grado de queratinización antes después del tratamiento con SA	144
<b>Tabla 33.</b> Porcentaje de pacientes según el grado de neovascularización antes y después de realizar el tratamiento con SA	146
<b>Tabla 34.</b> Porcentaje de pacientes según el grado de opacificación antes y después del tratamiento con SA	147
<b>Tabla 35.</b> Pacientes con AV inferior y superior a 0,3 tras realizar tratamiento con SA	149
<b>Tabla 36.</b> AV alcanzada al final del tratamiento en el grupo control y en el grupo de tratamiento con SA	150
<b>Tabla 37.</b> Coeficiente de correlación de Spearman entre AV pretratamiento puntuación pretratamiento	151
<b>Tabla 38.</b> Coeficiente de correlación de Spearman entre AV postratamiento	

puntuación postratamiento	152
<b>Tabla 39.</b> Coeficiente de correlación de Spearman entre score pretratamiento y score postratamiento con SA	154
<b>Tabla 40.</b> Matriz de correlación de Spearman para AV pretratamiento SA	155
<b>Tabla 41.</b> Matriz de correlación de Spearman para AV postratamiento SA	157
<b>Tabla 42.</b> Relación entre duración de tratamiento, AV y grado de las lesiones en superficie ocular	158
<b>Tabla 43.</b> Porcentaje y número de conservación/pérdida del órgano en grupo control y en grupo de tratamiento con SA	161
<b>Tabla 44.</b> Porcentaje y número de pacientes que precisaron cirugía en grupo control y en grupo de tratamiento con SA	163
<b>Tabla 45.</b> Resumen del tipo de cirugía realizada en grupo control y en grupo de tratamiento con SA	165
<b>Tabla 46.</b> Media, mediana e intervalo de confianza del tiempo necesario hasta la curación de úlceras severas en tratamiento con SA	167
<b>Tabla 47.</b> Cuartiles del tiempo de curación de úlceras severas en tratamiento con SA	167
<b>Tabla 48.</b> Regresión de Cox para la duración de tratamiento con SA y las complicaciones corneales pretratamiento	169
<b>Tabla 49.</b> Duración tratamiento con SA según el grado de queratinización	170
<b>Tabla 50.</b> Resultados análisis multivariante (regresión logística binaria)	173
<b>Tabla 51.</b> Resultados análisis multivariante (regresión lineal)	175
<b>Tabla 52.</b> Modelo ajustado del análisis multivariante (regresión lineal)	176

**ÍNDICE DE GRÁFICOS:****I. RESULTADOS:**

<b>Gráfico 1.</b> Diagrama de cajas: representación mediana de edad de pacientes a los que se enucleó globo ocular y de pacientes que conservaron órgano	114
<b>Gráfico 2.</b> Comparación conservación /pérdida anatómica en función del tipo de úlcera	115
<b>Gráfico 3.</b> Comparación conservación / pérdida del órgano en el grupo control en función del sexo	117
<b>Gráfico 4.</b> Comparación conservación / pérdida del órgano en función de que la patología sea uni/bilateral en grupo control	119
<b>Gráfico 5.</b> Representación curación/no curación en función de realización de cirugía reconstructiva	120
<b>Gráfico 6.</b> Pacientes que curan/no curan tratados por úlceras neurotróficas: causticaciones/inmunológicas frente a los tratados por queratitis sicca	125
<b>Gráfico 7.</b> Comparación curación/no curación entre el grupo control y el grupo de tratamiento con SA	126
<b>Gráfico 8.</b> Porcentaje de casos de úlceras inmunológicas/causticaciones que curan/no curan en el grupo control y en el grupo tratado con SA	127
<b>Gráfico 9.</b> Porcentaje curación/no curación en función del sexo en grupo SA	128
<b>Gráfico 10.</b> Porcentaje de curación/no curación en función de patología uni/bilateral en el grupo de tratamiento con SA	130
<b>Gráfico 11.</b> Porcentaje de curación/no curación en el grupo de tratamiento SA en función de la necesidad de cirugía reconstructiva	132
<b>Gráfico 12.</b> Comparación de porcentaje de lesiones en queratitis sicca que requirieron cirugía frente a úlceras neurotróficas, inmunológicas y causticaciones	137
<b>Gráfico 13.</b> Representación de la necesidad o no de cirugía en función de que la patología sea uni/bilateral en el grupo de tratamiento con SA	138

<b>Gráfico 14.</b> Gráficos de sectores: necesidad de cirugía en función de pato uni/bilateral en grupo de tratamiento con SA	139
<b>Gráfico 15.</b> Representación pacientes afectos por distintos grados de quer punctata antes y después de haber realizado el tratamiento con SA	141
<b>Gráfico 16.</b> Representación pacientes afectos por distintos grados de defe epitelial antes y después del tratamiento con SA	142
<b>Gráfico 17.</b> Representación pacientes afectos por distintos grados de conjuntivalización antes y después del tratamiento con SA	144
<b>Gráfico 18.</b> Representación pacientes afectos por distintos grados de queratinización antes y después del tratamiento con SA	145
<b>Gráfico 19.</b> Representación pacientes afectos por distintos grados de neovascularización antes y después del tratamiento con SA	146
<b>Gráfico 20.</b> Representación pacientes afectos por distintos grados de opacificación antes y después del tratamiento con SA	147
<b>Gráfico 21.</b> Representación pacientes con AV superior e inferior a 0.3 (Sn tras tratamiento con SA	149
<b>Gráfico 22.</b> Comparación AV final alcanzada por grupo de tratamiento con SA y por el grupo control	150
<b>Gráfico 23.</b> Relación entre agudeza visual pretratamiento y puntuación Pretratamiento	152
<b>Gráfico 24.</b> Relación entre agudeza visual postratamiento y puntuación Postratamiento	153
<b>Gráfico 25.</b> Porcentaje de enucleaciones/visceraciones en pacientes con úlceras neurotróficas, inmunológicas y causticaciones	162
<b>Gráfico 26.</b> Comparación de la necesidad de cirugía entre el grupo control el grupo de tratamiento con SA	164
<b>Gráfico 27.</b> Comparación grupo control y grupo de tratamiento con SA en f de la necesidad o no de cirugía y el tipo de cirugía	165

<b>Gráfico 28.</b> Representación gráfica del índice de curación de úlceras con neurotróficas y queratitis sicca grave en función del tiempo	168
<b>Gráfico 29.</b> Representación gráfica del índice de curación de úlceras se en función del grado de queratinización	171
<b>Gráfico 30.</b> Gráfico de correlación entre el tiempo de tratamiento necesario hasta la curación y el tipo de úlcera	172

**ÍNDICE DE FIGURAS:****I. ANEXO II:**

**Figura 1.** Clasificación de Sotozono 253

**II. ANEXO IV: CASOS CLÍNICOS REPRESENTATIVOS**

**Figura 1.** Síndrome de ojo seco severo por Síndrome de Sjögren con filamentos mucosos y defectos epiteliales 256

**Figura 2.** Aspecto de la superficie ocular tratada con SA tras resolución de las lesiones producidas por el síndrome de ojo seco 257

**Figura 3.** Imagen de la citología de impresión previa y posterior al tratamiento con SA en el síndrome de ojo seco severo 258

**Figura 4.** Defecto epitelial por síndrome de ojo seco severo y posterior resolución tras el tratamiento con SA 259

**Figura 5.** Úlceras corneales con afectación del eje visual en un síndrome de ojo seco severo. Tinción con fluoresceína para valorar de extensión de úlceras corneales 260

**Figura 6.** Lesión neurotrófica corneal secundaria a cirugía de retina y regeneración de la misma tras iniciar tratamiento con SA 252

**Figura 7.** Necrosis escleral secundaria a cirugía de retina. Se visualiza explante escleral .Tejido de granulación que cubre la lesión y el cerclaje tras nueve meses de tratamiento con SA 263

**Figura 8.** Úlcera neurotrófica secundaria a trasplante corneal y resolución de la misma con tratamiento con SA. Secuelas: neovascularización corneal y opacidad corneal leve 264

**Figura 9.** Úlceras neurotróficas secundarias a queratitis herpética de repetición sobre leucoma corneal que tras tratamiento con SA desaparecen reduciendo la extensión de la opacificación y aumentando la neovascularización 264

**Figura 10.** Citología de impresión antes y después del tratamiento con SA de úlceras neurotróficas metaherpéticas 266

<b>Figura 11.</b> Úlcera neurotrófica y degeneración calcárea sobre la misma disminución de la lesión y del depósito cálcico tras tratamiento con SA	267
<b>Figura 12.</b> Úlcera neurotrófica tras panfotocoagulación retiniana. Resolución de la misma tras el tratamiento con SA	269
<b>Figura 13.</b> Citología de impresión: metaplasia escamosa en lesión neurotrófica	269
<b>Figura 14.</b> Úlcera neurotrófica bilateral en paciente con paresia del nervio Trigémino	270
<b>Figura 15.</b> Leucomas corneales como secuela tras resolución de úlceras neurotróficas con el tratamiento con SA	271
<b>Figura 16.</b> Úlcera neurotrófica postcirugía de neurinoma del nervio acústico. leucoma postratamiento con SA y resolución de la lesión	272
<b>Figura 17.</b> Citología de impresión en úlcera neurotrófica secundaria a cirugía de neurinoma del acústico	272
<b>Figura 18.</b> Aspecto corneal tras tratamiento de úlcera secundaria a necrosis epidérmica tóxica	275
<b>Figura 19.</b> Lesión corneal de origen inmune que termina en perforación con hernia de iris	276
<b>Figura 20.</b> Aspecto globo ocular tras tratamiento con SA de lesión corneal secundaria a psoriasis ( conjuntivalización, neovascularización y opacificación	277
<b>Figura 21.</b> Citología de impresión de lesión inmune corneal previa y posterior al tratamiento con SA	277
<b>Figura 22.</b> Adelgazamiento corneal por lesión inmune en el contexto de una artritis reumatoide	278
<b>Figura 23.</b> Reducción adelgazamiento corneal de úlcera de origen inmune con tratamiento con SA	278
<b>Figura 24.</b> Isquemia límbica y úlcera corneal secundaria a causticación	279
<b>Figura 25.</b> Aspecto de la superficie ocular tras el tratamiento de úlcera trófica secundaria a causticación	280

**ÍNDICE DE ABREVIATURAS:**

AO: Ambos ojos

AV: Agudeza visual

DE: Defecto epitelial

DEP: Defecto epitelial persistente

EGF: Factor de crecimiento epitelial

GESOC: Grupo español de superficie ocular y córnea

gl: grados de libertad

IC: Intervalo de confianza

IEC: índice evento enucleación el grupo control

IEE: Índice evento enucleación en el grupo experimental

MA: Membrana amniótica

NNT: Número de pacientes que es necesario tratar

OD: Ojo derecho

OI: Ojo izquierdo

OR: Odds ratio

PAS: Ácido peryódico de Schiff

PEFC: Plasma enriquecido en factores decrecimiento

QCS: Queratoconjuntivitis sicca

QPS: Queratitis punctata superficial

RAR: Reducción absoluta del riesgo

RPM: Revoluciones por minuto

RRR: Reducción relativa del riesgo

SA: Suero autólogo

SCU: Suero de cordón umbilical

SS: Síndrome Sjögren

VS: Versus

## **I. INTRODUCCIÓN**



**INTRODUCCIÓN:**

La córnea constituye junto con la esclera la capa externa del globo ocular, suponiendo un tercio de la misma. Aunque ambas estructuras están compuestas por fibras de colágeno, la distinta arquitectura en que se disponen en ambos tejidos, hacen que la córnea sea transparente permitiendo el paso de los rayos de luz, mientras que la esclera es opaca, actuando ésta como una caja oscura para la formación de imágenes (Krachmer 2008).

La córnea está separada de la esclera por el limbo, estructura que a diferencia de la córnea está ricamente vascularizada, y en la que se encuentran células pluripotenciales, con la capacidad de diferenciarse a células del epitelio corneal, ya que como se verá a continuación, la córnea es un tejido en continua regeneración.

**1. Anatomía corneal :**

La córnea es un tejido transparente y avascular que actúa como barrera física entre el medio ambiente y el interior del ojo. En el ojo adulto, tiene un diámetro de 11-12mm en eje horizontal y de 9-11 mm en su eje vertical. Tiene un grosor variable de unas 550m a nivel central, que aumenta hacia la periferia donde puede alcanzar las 700micras (krachmer 2008).

Es una superficie poderosamente refractiva, con un una potencia de 40-44 dioptrías, lo que constituye dos tercios del poder refractivo total del ojo. Estas propiedades ópticas se deben a su superficie lisa, su transparencia, su curvatura y a los distintos índices de refracción de sus componentes (Freegard 1997). El índice de refracción disminuye desde el epitelio donde es de 1,401 hasta el estroma cuyo

índice es de 1,380, siendo en la región posterior corneal de 1,373 ( Academia Americana de Oftalmología 2011).

Está constituida por cinco capas que desde el exterior al interior comprenden el epitelio, la membrana de Bowman, estroma, membrana de Descemet y endotelio. Aunque este tejido avascular es aparentemente simple en su composición, la enorme regularidad y uniformidad de su estructura son las que permiten sus propiedades ópticas.

#### 1.1. Epitelio corneal:

El epitelio corneal es la capa más superficial de la córnea, formada por un epitelio pluriestratificado no queratinizado. Esta capa tiene un grosor de 50 micras, lo que supone aproximadamente el 10% del espesor corneal total (Krachmer 2008).

Tiene entre cinco y siete capas, formadas por tres tipos celulares diferentes. Una superficial, más diferenciada, de células escamosas, que degeneran y se desprenden de la superficie corneal, una capa de células aladas por debajo de la capa superficial y una capa más interna de epitelio basal columnar. La capa de epitelio basal se apoya sobre la membrana basal y es la única capa que experimenta mitosis, regenerando el resto de células corneales. Éstas células basales proceden a su vez de las células madre del limbo. Además, éstas células basales poseen un aparato de Golgi muy desarrollado y múltiples mitocondrias que indican una alta actividad metabólica.

Sus principales características son su regularidad, su resistencia y su capacidad de renovación que tiene lugar cada 7-14 días. La resistencia de este epitelio, se

debe a los complejos de unión existentes (zónulas ocludens, gap junction, desmosomas, hemidesmosomas) entre células ,que mantienen por un lado los distintos estratos, actuando de barrera al paso de estímulos externos a capas corneales más profundas, y unen además el epitelio a la membrana basal subyacente.

Cuando se observa al microscopio electrónico de barrido, la superficie corneal es una matriz de células poligonales irregulares, las más superficiales cubiertas por una densa trama de microvellosidades. Adherido a esas microvellosidades hay un glicocálix que interactúa con la capa mucosa de la lágrima permitiendo la formación de una capa lagrimal suave y estable en la superficie corneal. Este glicocálix deriva de numerosas granulaciones citoplasmáticas que existen en la capa superficial de células epiteliales, y que son liberadas mediante exocitosis. La alta viscosidad de este glicocálix impide la penetración de los gérmenes que no poseen el equipamiento enzimático necesario para destruirla. Por otra parte, las células epiteliales superficiales vecinas se unen entre sí mediante zónulas ocludens, creando una barrera impermeable al agua que contribuye, junto con el endotelio, a la deshidratación del estroma corneal.

Por último, existe subyacente al epitelio corneal, como en cualquier otro epitelio del organismo una membrana basal. Ésta conforma una estructura independiente segregada por las células basales, constituida en su mayor parte por colágeno IV y laminina, cuya función principal es la de unir fuertemente el epitelio a la membrana de Bowman mediante los complejos de adhesión.

### 1.2. Membrana de Bowman:

La membrana de Bowman está compuesta por fibras de colágeno de tipo I y III, siendo altamente resistente (Academia Americana de Oftalmología 2011). Es acelular, y se puede considerar una modificación de la capa superficial del estroma. Su función se desconoce, aunque se ha sugerido que es un elemento estabilizador de la estructura corneal, esta capa está ausente en algunos mamíferos.

### 1.3. Estroma:

Las características estructurales y refractivas de la córnea, son debidas en gran medida al estroma que representa hasta el 90% del grosor corneal. La disposición de las fibras de colágeno así como la lenta y continua síntesis-degradación de las mismas, son esenciales para la transparencia corneal.

El contenido normal de agua de la córnea es de un 78% en peso (Academia Americana de Oftalmología 2011). A pesar de este contenido en agua, la córnea normal es deturgescente, es decir, tiende a capturar agua adicional. Así una rotura de las capas del epitelio o el endotelio y o sus membranas de soporte conducirá a la penetración de agua en el estroma y a la producción de edema.

El estroma está constituido predominantemente por fibrillas de colágeno con disposición laminar y dispuestas en paralelo a la superficie corneal, de manera que las fibrillas individuales de colágeno están separadas por una matriz constituida por proteoglucanos, denominada a veces como sustancia fundamental del estroma. Los queratocitos son las células que elaboran y mantienen las fibrillas de colágeno y se localizan entre las bandas de colágeno, constituyendo

aproximadamente el 2-3% del volumen del estroma. Las fibras de colágeno que constituyen el estroma son fundamentalmente de los tipos I y V. Estas se ordenan en unas 200 a 250 láminas paralelas a la superficie, teniendo todas las fibras una dirección igual dentro de cada lámina (Edelhauser et Ubels ,2004).

Los queratocitos son las células predominantes a nivel estromal, aunque suponen sólo un 2-3% del volumen del mismo. Se piensa que se regeneran cada 2-3 años. Se ha demostrado que los queratocitos están conectados mediante uniones estrechas que contienen conexina 43, a través de las cuales un marcador pasa de una célula a otra (Edelhauser et Ubels ,2004).

Se observa además en esta capa, una pequeña cantidad de leucocitos polimorfonucleares, células plasmáticas, células dendríticas presentadoras de antígenos y macrófagos que se localizan entre las láminas de las fibras de colágeno.

La matriz estromal está constituida fundamentalmente por proteoglicanos, que se distribuyen entre las fibras de colágeno. Parece ser que estos compuestos intervendrían en la modulación de la fibrinogénesis del colágeno. Salvo el ácido hialurónico el resto de glicosaminoglicanos que forman parte del estroma se encuentran en forma de proteoglicanos. El más abundante de estos compuestos es el queratán-sulfato que supone el 65%, el resto estaría constituido por condroitín-sulfato y dermatán-sulfato.

Los glicosaminoglicanos tienen la capacidad de absorber y retener agua, lo que podría alterar la transparencia corneal, sin embargo, la hidratación de la misma está regulada por el endotelio, la barrera epitelial, la evaporación en superficie y la

presión intraocular.

#### 1.4. Membrana de Descemet:

Separa estroma de endotelio, tiene un espesor de aproximadamente 8-12 micras en los adultos (aumenta su grosor a lo largo de la vida) y se trata de una lámina basal gruesa producida por el endotelio, que se mantiene tenuemente unida al estroma. Está constituida por colágeno IV y VIII, laminina y fibronectina. El anillo de Schwalbe señala el final de la membrana de Descemet.

#### 1.5. Endotelio:

El endotelio es una capa única de células que están ligadas entre sí por uniones estrechas. Esta monocapa está formada por células hexagonales con múltiples organelas en su citoplasma, lo que sugiere que son metabólicamente activas. Asimismo poseen sistema de transporte de iones que ayudan a mantener la hidratación corneal a un nivel óptimo, de modo que crean un gradiente de sodio entre el humor acuoso y el estroma corneal.

Una característica del endotelio corneal, a diferencia del epitelio corneal es su incapacidad para la renovación celular por lo que la pérdida celular se debe cubrir con la expansión de las células vecinas.

Se origina una pérdida de población de células endoteliales celular con la edad. Este envejecimiento puede darse de manera exagerada en algunas distrofias y como consecuencia de patología o cirugía ocular.

## 2. Conservación de la integridad de la superficie ocular:

### 2.1. Epitelio corneal:

Las lesiones de la superficie corneal se caracterizan por una rápida cicatrización. En este proceso de cicatrización se distinguen tres fases caracterizadas por migración de células epiteliales, proliferación y diferenciación de las mismas.

El defecto epitelial corneal induce la migración de células epiteliales adyacentes a la lesión, hacia el área del defecto (Krachmer 2008).

Los cambios que acontecen en la relación entre células a nivel de la lesión y las interacciones (integrina-fibronectina) de la matriz celular mediadas por ácido hialurónico, y la matriz extracelular, así como por la expresión de enzimas proteolíticas juegan un papel importante en estos movimientos de las células epiteliales en respuesta a una lesión. Estos cambios están controlados por los distintos factores de crecimiento y las citosinas:

- Hialurónico: favorece la cicatrización
- Enzimas proteolíticas: rompen unión entre epitelio y matrix, de modo que las células puedan migrar.
- Factores de crecimiento (factor de crecimiento epitelial, factor de crecimiento de fibroblastos, etc.): favorecen la proliferación celular.
- Factor transformante Beta: en presencia del factor de crecimiento epitelial promueve la migración epitelial
- Interleukinas (IL): promueven cicatrización y la unión de las células a la fibronectina durante la migración celular.
- Regulación neurológica: la integridad de las terminaciones nerviosas son indispensables como se comentará más adelante, en la restitución de la

superficie corneal, de modo que gracias a éstas se libera al medio sustancia P, que parece participar en la mantención de la integridad del epitelio corneal. Tiene acción sinérgica con el factor de crecimiento similar a insulina, promoviendo la migración celular.

## 2.2. Estroma:

La integridad del estroma se mantiene gracias al equilibrio de la síntesis y degradación de componentes de la matriz extracelular regulada por los queratocitos.

Cuando existe una lesión corneal, los queratocitos se transforman en miofibroblastos y activan la producción de componentes de la matriz extracelular para cicatrizar la lesión

Los queratocitos junto con los linfocitos, neutrófilos y macrófagos, secretan citoquinas y factores de crecimiento que van a modular el comportamiento de las células en la cicatrización estromal. Para ello, cada una de estas sustancias activará la expresión de genes específicos.

En este caso también el factor de crecimiento transformante Beta, tiene un papel en la promoción de la cicatrización , de modo que mediante el bloqueo de esta señal, se puede reducir la cicatriz así como el grado de opacificación postcicatrización en experimentos realizados con ratones (Edelhauser et Ubels ,2003).

### 2.3 Inervación corneal:

La inervación de la córnea humana proviene en su mayor parte de la rama oftálmica del ganglio trigémino a través de los nervios nasociliares largos. Esta rama oftálmica es la primera de las tres ramas del V par craneal y se subdivide a su vez en tres ramas: lagrimal, frontal y nasociliar. Estas tres ramas penetran en la órbita a través de la hendidura orbitaria superior.

Los nervios nasociliares largos penetran en el estroma corneal a nivel del limbo mediante 10-12 troncos nerviosos. Alcanzan la córnea en el tercio medio y se dirigen en dirección anterior y de forma radial hasta la zona central, donde dan lugar a ramas que inervan la parte media y anterior del estroma. En la superficie entre la capa de Bowman y el estroma anterior, los nervios estromales forman el plexo subepitelial, que a continuación atraviesan la capa de Bowman y forman el plexo nervioso epitelial subasal, que inerva la capa de células basales y finaliza en las capas epiteliales superficiales. Existe una cierta controversia sobre si hay inervación en el estroma posterior. La membrana de Descemet y el endotelio no están inervados.

Los troncos nerviosos pueden ser mielinizados o no, siendo similares a los troncos nerviosos periféricos. La mielinización desaparece a 2-3 mm del limbo y constituyen el plexo nervioso subepitelial.

La córnea es el tejido periférico más ricamente inervado (siendo de 300 a 500 veces mayor que en la piel).

Se diferencian distintos tipos de fibras nerviosas a nivel corneal:

- Las fibras simpáticas corneales, se originan en el ganglio cervical superior. La mayor parte de estas fibras se disponen en el limbo esclero-corneal y se

encuentran estrechamente asociadas a vasos. Algunas fibras simpáticas penetran en el estroma y terminan bajo la forma de expansiones axonales preterminales a nivel subepitelial y epitelial (Assouline M, 1993). Se ha sugerido que participan en la modulación del transporte iónico o de la actividad mitótica. La estimulación de los nervios simpáticos inhibe la curación de las heridas del epitelio corneal.

- Fibras sensitivas: Los axones nociceptivos son de velocidad de conducción lenta (fibras A-delta o fibras C-Assouline). La córnea es un sistema mayoritariamente nociceptivo (Edelhauser et Ubels ,2003) a nivel del nervio ciliar, el 80% de las fibras no presentan mielinización, siendo éstas de tipo C. Este porcentaje es mucho mayor que en la mayor parte de los nervios periféricos y corrobora la hipótesis de un sistema corneal nociceptivo puro o casi puro (Assouline , 1993).

- Receptores sensitivos: Los receptores sensitivos corneales están representados por terminaciones libres intraepiteliales. Pero existe especialización funcional de dichas terminaciones libres diferenciándose en mecanorreceptores y termorreceptores (Assouline 1993).

Además de su función como receptores sensitivos es evidente que los nervios corneales también desempeñan una función trófica. De tal modo que los pacientes con denervación sensitiva de la córnea por accidente cerebrovascular (ACV), neuropatía diabética o infección por herpes muestran una incidencia elevada de erosiones y ulceraciones neurotróficas. Esta complicación puede deberse en parte a la pérdida de la sensibilidad frente a los cuerpos extraños, lo que causa lesión mecánica. No obstante, en los nervios corneales existen neuropéptidos, sustancia P y péptido relacionado con el gen de la calcitonina que parecen ejercer un efecto trófico directo pero poco estudiado sobre el epitelio.

### **3.- Patología trófica corneal:**

La patología corneal es una de las afecciones oculares a nivel de población que más disminuye la calidad visual (Whitcher 2001). Entre las patologías que mayor alteración producen en la anatomía y fisiología ocular encontramos aquellas que van a afectar al trofismo corneal. Para mantener el trofismo corneal, es necesario que las estructuras que integran la superficie ocular, como son epitelio conjuntival y corneal, glándulas lagrimales accesorias, así como la unidad funcional que constituyen junto con la película lagrimal, párpados y arcos neurales reflejos, cuya vía aferente principal, está vehiculizada por la rama oftálmica del trigémino, tengan un funcionamiento correcto e integrado. De esta manera se consigue preservar la homeostasis de la superficie ocular, cuya finalidad es la de mantener el epitelio corneal íntegro. La alteración de cualquiera de estos elementos puede conducir a la aparición de una lesión corneal. Así, existen patologías como las úlceras neurotróficas producidas por una alteración en la inervación corneal y otras patologías que van a producir una alteración en la síntesis de sustancias encargadas de mantener la integridad corneal como son: queratitis sicca, causticaciones y lesiones inmunológicas. Si bien el diagnóstico clínico de estas patologías se orienta fácilmente a partir de la historia y los hallazgos clínicos, el tratamiento de estas afecciones es uno de las más difíciles entre todas las enfermedades de la córnea (Bonini et al, 2003)

#### **3.1. Úlcera neurotrófica:**

La úlcera o queratopatía neurotrófica es una patología, ya conocida desde el año 1824, que se produce como resultado de una lesión del nervio trigémino, y especialmente de sus ramas nasociliar y nervios ciliares largos, encargados de la inervación sensitiva corneal. Por lo tanto, se produce esta alteración cuando existe

una disminución de la sensibilidad corneal. La patogenia de la alteración epitelial no es bien conocida, pero parece ser que los nervios corneales proporcionan algún tipo de influencia trófica sobre el epitelio. En ausencia de inervación, el metabolismo celular disminuye así como el índice mitótico (Arffa 1998).

Esta lesión del nervio trigémino puede ser debida a varias causas, entre las que destacan: infecciones virales de repetición (queratitis herpética) que van destruyendo terminaciones nerviosas corneales (Hamrah et al 2010), lesiones químicas (causticaciones) y la cirugía corneal. También existen algunas patologías sistémicas que pueden afectar a la inervación corneal como son la diabetes y la esclerosis múltiple (Nishida and Yanai 2009, Bonini et al 2003). Algunos procedimientos a nivel ocular, como son la panfotocoagulación y la cirugía retiniana (cerclaje y vitrectomía) también pueden lesionar las ya citadas fibras nerviosas (Stephan et al, 2006).

### 3.2. Queratitis sicca:

Los factores de crecimiento que se aportan a la superficie ocular a través de la lágrima juegan un papel crítico en la preservación de la función corneal normal. Los desequilibrios en estos factores son la patogénesis de varias alteraciones en superficie ocular. Entre estas patologías destacan la queratitis sicca y el síndrome de Sjögren, este último caracterizado por una lesión inflamatoria que destruye las glándulas lagrimales. Ambas patologías son más frecuentes en mujeres, especialmente cuando se producen los cambios hormonales que caracterizan a la menopausia. El problema con estas patologías se inicia cuando existe una alteración importante en la composición de la película lagrimal, que junto con la falta de aporte de factores de crecimiento deriva en la aparición de lesiones corneales de evolución tórpida.

El síndrome de ojo seco puede ser provocado por alteración de una o varias de las capas que componen la película lagrimal. La película lagrimal está compuesta por tres capas (García Jiménez et al, 2002):

1.- Capa lipídica, es la más externa de las tres, y está producida por las glándulas de Meibomio y las glándulas de Zeis. Su función es la de retrasar la evaporación de la capa acuosa de la película lagrimal, aumentar la tensión superficial para incrementar la estabilidad de la misma, y lubricar los párpados en su paso por la superficie del globo ocular.

2.- Capa acuosa: secretada por las glándulas lacrimales, es la capa intermedia, cuyo cometido es el de aportar oxígeno atmosférico al epitelio corneal avascular, acción antibacteriana, reducir las irregularidades de la córnea y eliminar sustancias de desecho.

3.- Capa mucínica: producida por las células caliciformes conjuntivales, las criptas de Henle y las glándulas de Manz. Su misión es la de convertir el hidrófobo epitelio corneal en una superficie hidrofílica y permitir así su humectación.

Así, la alteración de cada una de estos distintos componentes de la película lagrimal puede ser debida:

- Deficiencia de la capa acuosa: Esta capa de la película lagrimal está compuesta fundamentalmente por proteínas, electrolitos y agua. Esta secreción va a verse afectada fundamentalmente por dos patologías: lesión de la glándula lagrimal principal y patologías neurológicas que afectan a la inervación de la misma, con la consiguiente alteración en la regulación de su secreción (Dartt ,2009). La disfunción de la glándula lagrimal resulta de la toxicidad inducida por mediadores inflamatorios y células citotóxicas de origen sistémico (síndrome Sjögren). En el síndrome de Sjögren (SS)

primario las células epiteliales de la glándula lagrimal participan en un bucle de reacciones autoinmunes (Zoukhri, 2006) produciendo mediadores inmunológicamente activos o ejerciendo el rol de células presentadoras de antígenos. La severidad de la enfermedad es probablemente más dependiente de la severidad de la inflamación de la superficie ocular que del grado de disfunción de la glándula lagrimal, por lo tanto, este síndrome podría incluirse también en el grupo de patologías de causa inmune. Otras situaciones de deficiencia acuosa son: hiposecreción senil posmenopáusica, la escisión de glándula lagrimal traumática, cicatricial, quemaduras, penfigoide, tracoma, déficit vitamina A, linfoma, sarcoidosis y el uso prolongado de lentes de contacto. También puede ser secundaria a tratamientos sistémicos de amplio uso en nuestra sociedad: antidepresivos, betabloqueantes, anticolinérgicos, benzodiazepinas, antiparkinsonianos y antihistamínicos.

Por otra parte, alteraciones neurológicas pueden propiciar el déficit de la capa acuosa: pueden ser por privación sensitiva debido a una alteración del nervio lagrimal, rama del trigémino, por afectación del V par o por privación motora, debido a una lesión pontocerebelosa, del nervio facial pregeniculado, del nervio petroso superficial mayor o del nervio vidiano, que se encargan de la inervación secretomotora de la glándula principal. Estas alteraciones conducen a una disminución en la secreción lagrimal que desencadenan un síndrome de ojo seco (Toshida, 2007)

- Deficiencia de la capa lipídica: esta capa de la película lagrimal puede considerarse un fluido viscoelástico (Rantamäki et al, 2011), cuya alteración permite una excesiva evaporación del componente acuoso (Borchman et al 2009). El componente lipídico de la lágrima es secretado por las glándulas de Meibomio, por ello la obstrucción de las mismas o inflamación crónica del borde palpebral, donde segregan su contenido dichas glándulas, como ocurre en blefaritis crónica, es causa frecuente de sequedad ocular. La disfunción de las glándulas de Meibomio ha sido ampliamente estudiada,

observando que puede asociarse también a enfermedades de tipo alérgico, como queratoconjuntivitis vernal o atópica, la conjuntivitis papilar gigante, a contaminantes o a instilación crónica de fármacos.

- Deficiencia de la capa de mucina: se caracteriza por la pérdida de células caliciformes, resultado de inflamación crónica. Esta disminución en la población de células caliciformes, es fácilmente detectable con la citología de impresión, técnica diagnóstica que además va a permitir valorar el tipo de células implicadas en el infiltrado inflamatorio pudiendo orientar el diagnóstico. Por otro lado, la deficiencia de vitamina A, las alteraciones cicatriciales conjuntivales, causticaciones y los conservantes químicos de las formulaciones tópicas pueden causar la alteración de la capa mucínica de la lágrima. Esta alteración va a derivar en una inestabilidad de la película lagrimal que no va a extenderse de forma uniforme por toda la superficie corneal (Watanabe 2002).

### 3.3. Causticaciones:

Son lesiones químicas de la superficie ocular que producen una inflamación severa con alteración de la homeostasis normal corneal. Estas lesiones pueden derivar en una pérdida de visión permanente. Estos agentes químicos van a producir sus graves efectos, como resultado de las alteraciones en la concentración local de hidrógeno e iones hidróxido. La intensidad de la lesión va a depender de la cantidad, concentración del producto químico, tiempo de exposición del ojo a la sustancia y de la capacidad de penetración de la misma.

Se distinguen fundamentalmente dos tipos de sustancias:

3.3.1. *Álcalis*: suelen producir las lesiones más graves, entre ellos destacan el amoníaco y sosa cáustica. Estos agentes se disocian rápidamente al entrar en contacto con la lágrima, liberando grandes cantidades de hidróxido tóxico, con lo que va a aumentar el pH del medio, dando lugar a la saponificación y disociación de membranas celulares, con la consiguiente muerte celular. A nivel estromal, se alteran las fibras de colágeno y se hidrolizan glucosaminoglicanos interfibrilares. Por el mismo mecanismo, pueden afectar nervios corneales, queratocitos y vasos límbicos, lo que se traducirá en una pérdida de la sensibilidad corneal e isquemia.

La curación de estas lesiones depende del estado del epitelio límbico, del cual migran y proliferan células que van a recubrir el defecto epitelial. Sin embargo, cuando la lesión límbica es tal, que no existen células epiteliales a dicho nivel, es la conjuntiva la que va a recubrir dicho defecto, proceso que va a ser más prolongado en el tiempo, dando lugar a una córnea desestructurada, opaca, engrosada y con neovascularización asociada.

A las 24-48h de la agresión química, se produce una infiltración por neutrófilos a nivel de la lesión, que desencadenan un proceso inflamatorio. Esto va a derivar en un aumento de lesión mediante la activación de enzimas proteolíticas por los neutrófilos. Así, se prolonga el tiempo hasta la reepitelización corneal apareciendo un adelgazamiento progresivo de la córnea que puede acabar en perforación corneal.

3.3.2. *Ácidos*: Producen lesiones similares a las producidas por álcalis, aunque existen algunas características diferenciales. Cuando un ácido cae sobre la superficie ocular, las proteínas coagulan y precipitan, así el colágeno se contrae y precipitan los aminoglucanos. Generalmente, los ácidos se neutralizan en superficie y no penetran al interior ocular, aunque ciertos ácidos como el fluorhídrico tienen una mayor

capacidad de penetrar, disolviendo membranas celulares, con lo que la lesión es devastadora.

En general, la lesión más grave producida por los ácidos es la isquemia límbica, sobre todo cuando se destruyen las células madres limbares, mermando la capacidad regenerativa corneal.

Ambos tipos de sustancias van a producir también una alteración a nivel de la película lagrimal, secundaria a la destrucción de células caliciformes. Estas células son las encargadas de la secreción de mucina, sustancia encargada de estabilizar la película lagrimal haciendo que se distribuya de forma uniforme por toda la superficie ocular (Le QH, 2010).

#### 3.4. Úlceras inmunológicas:

Existen una serie de patologías sistémicas de carácter inmune capaces de afectar a la superficie corneal. Entre ellas se encuentran alteraciones del tejido colágeno y vascular. Suelen ser úlceras que afectan la región corneal periférica, produciendo una lesión inflamatoria destructiva del tejido conectivo, con una degradación progresiva del estroma y adelgazamiento corneal, que puede llegar a la perforación corneal. Por todo ello, el pronóstico visual es realmente desalentador (Augsten, 2011).

Las úlceras inmunológicas presentan características morfológicas e inmunológicas predisponentes a la ya citada reacción inflamatoria. De hecho, estas úlceras aparecen en regiones corneales cuya nutrición depende en parte de los capilares que llegan al limbo, que son fuente de células inmunocompetentes. La existencia de estímulos inflamatorios en la periferia corneal, causados por ejemplo por el depósito de

inmunocomplejos en enfermedades sistémicas inmunes (artritis reumatoide, Wegener, poliarteritis nodosa, lupus, ect.), infecciones, traumas, etc; darán lugar a una respuesta inmune con la consiguiente activación del complemento. La activación del complemento incrementa la permeabilidad vascular generando factores quimiotácticos para neutrófilos. Estos neutrófilos van a liberar enzimas proteolíticas y colagenolíticas así como sustancias proinflamatorias (leucotrienos, prostaglandinas), lo que va a derivar en la degradación y adelgazamiento estromal de la córnea. Además, la conjuntiva adyacente inflamada, tiene la capacidad de producir colagenasas que aumentan el daño estromal. Por lo tanto, en este tipo de úlceras lo que existe es una degradación y necrosis del estroma corneal producido por enzimas proteolíticas (Ladas 2000).

También pueden verse afectadas las glándulas lagrimales, glándulas de Meibomio y superficie conjuntival, dando lugar a un síndrome de ojo seco muy severo que unido a las lesiones corneales pueden producir una fibrosis importante en la superficie corneal.

Todos los trastornos corneales anteriormente citados, tienen en común, la aparición de lesiones en superficie ocular de evolución tórpida, en la que se puede distinguir dos etapas:

1) *Defecto epitelial persistente*, que puede ser debido bien a la falta de sensibilidad corneal que no activa los procesos de reparación, o bien al déficit de sustancias tróficas, como son los factores de crecimiento encargados de la reparación del tejido o sustancias encargadas de regular la respuesta inflamatoria.

2) *Reclutamiento de células inflamatorias* que desencadenan la cascada de reacciones que finalmente deriva en síntesis y activación de enzimas que van a hacer progresar el daño corneal.

Por lo tanto, es de crucial importancia procurar el cierre de los defectos epiteliales en el menor tiempo, por su capacidad para desencadenar las otras etapas de la lesión. Como tratamiento se encuentran una serie de medidas entre las que ha de destacarse el limitar los medicamentos potencialmente tóxicos.

En un intento de reducir la agresión y favorecer la reparación del tejido corneal, se utilizan generalmente para estas patologías, lágrimas artificiales monodosis (sin conservantes) y se utilizan pomadas antibióticas, sobre todo, aureomicina y azitromicina tópica por su efecto anticolagenasa. Sin embargo, en muchas ocasiones estos tratamientos son ineficaces por no actuar sobre la etiología de estos cuadros, por lo que hay que recurrir a tratamientos quirúrgicos para evitar que estas lesiones acaben en perforación corneal.

A continuación se resume el tratamiento específico de cada una de éstas patologías empleado en nuestro servicio:

- En úlceras metaherpéticas (neurotróficas): pomada de zovirax 5 veces al día , colirio ciclopléjico 3 veces al día, pomada antibiótica 3 veces al día y lagrimas artificiales sin conservantes.
- En úlceras neurotróficas por problemas neurológicos (paresia o parálisis que dificulten correcta oclusión palpebral, o disminución de sensibilidad a nivel corneal): pomada antibiótica más oclusión, lagrimas artificiales densas sin conservante y cámara húmeda para dormir.

- En úlceras recidivantes de tipo inmunológico: pomada antibiótica para evitar sobreinfección de la úlcera y tratamiento inmunosupresor. Para la introducción de estos últimos se suele seguir una escalera terapéutica. En primer lugar, se inicia tratamiento tópico con corticoides. Si los corticoides no son suficientes para el mantenimiento a largo plazo se emplea la ciclosporina, y si ésta no es suficiente o el paciente no la tolera bien, situación que es bastante frecuente, se emplea tacrólimus.
- Queratitis sicca: lágrimas artificiales a demanda sin conservantes, corticoides en caso de queratitis filamentosas, con retirada mecánica de los filamentos mucosos adheridos al epitelio corneal y pomada antibiótica con oclusión en caso de úlceras de gran tamaño.

En los últimos años, se ha investigado mucho acerca de tratamientos capaces de reparar los tejidos afectados aportando los factores necesarios para el trofismo corneal, actuando así sobre la base del problema. Entre los tratamientos en este campo estarían por un lado el empleo de suero autólogo y otros derivados hemáticos, y por otro lado, una serie de técnicas quirúrgicas destinadas a restituir la integridad de la superficie ocular como son: el trasplante de membrana amniótica (MA), el injerto limbal de células madre, la neurotización corneal y el desarrollo de córneas artificiales. De todos estos tratamientos, el más fácil de obtener, y que además puede ser aplicado por el propio paciente, es el suero autólogo.

#### 4.- ¿Qué es el suero autólogo?

El suero autólogo (SA), es un colirio que se prepara a partir de la sangre que se extrae a un sujeto. Se trata de un producto de uso individual, por lo que se considera una fórmula magistral, y en nuestro país sus normas de elaboración están reguladas por el Real Decreto 175/2001 de 23 de febrero (López García , 2007).

El inicio del uso del autosuero como tratamiento de superficie ocular fue citado por primera vez por Rucker en 1938, que trató queratitis sicca filamentosa con suero autólogo diluido al 10%. Sin embargo, no es hasta varias décadas después, a partir de los trabajos realizados por Fox y sus colaboradores en el año 1984 (Fox 1984), que se incrementa paulatinamente su uso, apareciendo más publicaciones sobre esta terapia en relación con sus propiedades y posibles aplicaciones en oftalmología.

En el campo de la oftalmología , empezó a ser utilizado con el fin de tratar problemas de la superficie ocular en pacientes afectados por el síndrome de ojo seco, especialmente con el fin de tratar los defectos epiteliales persistentes (DEP) que aparecen en el contexto de síndrome de ojo seco severo. (Tsubota, 1999). Posteriormente, se han ampliado las indicaciones de tratamiento con colirio de SA a otras patologías oculares gracias a los trabajos realizados por Tsubota hacia finales de los años noventa.

Como ha sido demostrado, la composición de la película lagrimal tiene una gran importancia en la estabilidad y viabilidad del epitelio corneal y conjuntival (Herrero Vanrell, 2008). Existen trabajos, en los que se compara la composición del SA en factores de crecimiento y otras sustancias necesarias para la preservación del epitelio corneal, frente a la composición lagrimal, demostrando que el SA no sólo posee estas

sustancias sino que además posee una mayor concentración de las mismas (López García 2007) (Tabla 1).

**Tabla I. Concentraciones comparadas entre lágrima y suero autólogo de los principales factores epiteliotróficos**

	Lágrima	Suero autólogo
EGF (ng/ml)	0,2-3,0	0,5
TGF- $\beta$ (ng/ml)	2-10	6-33
Vitamina A (mg/ml)	0,02	46
Lisocima (mg/ml)	1,4	6
Fibronectina ( $\mu$ g/ml)	21	205

EGF: factor de crecimiento epitelial; TGF: factor de crecimiento transformante.

En los pacientes afectados por queratitis sicca, patología sobre la que existe mayor evidencia clínica de la utilidad del SA, por ser esta la enfermedad más frecuente en oftalmología (Yu 2010), están disminuidas tanto la secreciones lagrimal basal como la refleja, y además se haya alterada la composición de la lágrima. Este hecho , va a suponer una deprivación de importantes componentes ( tales como el factor de crecimiento epidérmico, vitamina A y factor transformador del crecimiento de fibroblastos B) los cuales , están implicados directamente en el mantenimiento y la regulación de la proliferación , diferenciación y maduración de las células epiteliales de la superficie corneo-conjuntival.

La deficiencia de estos componentes implica un compromiso en la integridad de la superficie ocular, resultando en la disrupción del epitelio y la formación de

DEP y úlceras tróficas. Según esto, parece ser que el tratamiento tópico con SA podría acelerar la cicatrización de estos defectos epiteliales.

Hasta los años 70, se creía que en las queratoconjuntivitis siccas (QCS) se producía una desecación de la superficie ocular debido a un déficit en la secreción lacrimal. A partir de esa fecha es cuando las investigaciones realizadas apuntan a un cambio en alguna de las tres capas lagrimales. Así la alteración de la capa acuosa se produciría por déficit de producción, mientras las alteraciones en las capas lipídica o mucínica llevarían a un incremento en la evaporación lagrimal, que secundariamente produciría una desecación de la superficie ocular. Puede existir además una deficiencia importante en la expresión de receptores de mucina por la pérdida de células caliciformes de la conjuntiva, secundario a un proceso de metaplasia escamosa como mecanismo defensivo a la irritación crónica por la disminución o la mala calidad de la película lagrimal. Éste déficit de receptores hace que la capa mucínica de la lágrima, que constituye la capa basal de la película lagrimal, no se extienda de modo uniforme en el polo anterior. Debido a esto los sustitutos lagrimales utilizados no van a humectar adecuadamente la superficie ocular, ya que es la capa mucínica la que se va a adherir a las células epiteliales superficiales, favoreciendo la formación de una capa homogénea y continua sobre la que se extendería dicha lágrima, lubricando por igual las distintas regiones de la superficie ocular. En este, y otros aspectos, interviene el SA mejorando las características de la superficie ocular como se describe en el siguiente apartado.

#### 4.1 Propiedades del Suero Antólogo:

- Posee características similares a las de la lágrima en cuanto a pH y osmolaridad (Goulart Quinto, 2008) que hacen que sea bien tolerado, sin efectos secundarios de hiperemia ni irritación ocular.
- Aporta factores nutricionales y de crecimiento, necesarios para mantener la viabilidad celular en los procesos de reparación epitelial (Phasukkijwatana, 2011).
- Contiene componentes bactericidas que reducen el riesgo de contaminación e infección (Knop, 2008).
- Acelera la proliferación y diferenciación de las células epiteliales gracias a su contenido en factores de crecimiento.
- Evita la queratinización del epitelio (López García 2011).
- Recuperación de los epitelios gracias a la involución del grado de metaplasia que produce (llegando a ser de hasta dos grados en la citología de impresión corneal). Para ello parece ser que influye positivamente en la diferenciación de las células caliciformes.
- Actividad antiproteasa, lo que parece beneficioso en quemaduras por álcalis y en úlceras marginales autoinmunes tipo Mooren. (Watson, 2008)
- Según algunos autores, las células epiteliales conjuntivales cultivadas con suero antólogo presentan una mayor expresión del receptor de mucina MUC-1, MUC-4 y MUC-16, lo que va a aportar una mayor estabilidad a la película lagrimal (Hori Y, 2004).

-

Por todas estas propiedades, el SA es muy superior a la terapia con lágrimas artificiales. (Noble 2004). Así, entre los componentes del SA encontramos:

- *Factor de crecimiento epitelial*: facilita la epitelización por su acción mitógena sobre células epiteliales y fibroblasto. Favorece migración y diferenciación de células epiteliales. Ejerce la modulación en la proliferación celular por medio de la activación del receptor tirosina kinasa del factor de crecimiento epitelial (EGF) y la proteína kinasa C (Zanati 1997, Carpenter 1981). Aumenta la síntesis de mucina 1 y fibronectina.
- *Factor transformador del crecimiento de fibroblastos B*: este factor ayuda a mantener la integridad corneal y a la curación de la herida. Sin embargo, también es el principal responsable de los trastornos fibróticos y cicatriciales en la córnea. Parece ser que está implicada la transformación de queratocitos en miofibroblastos inducidos por esta sustancia, aunque el mecanismo molecular preciso involucrado en este proceso aún no es conocido (Tandon 2010). Además el factor transformador del crecimiento de fibroblastos B, inhibe a metaloproteasas, enzimas causantes en muchos casos del incremento de las lesiones corneales, y estimula la proliferación celular.
- *Vitamina A*: disminuye la metaplasia escamosa del epitelio alterado, evitando la queratinización del mismo. Tiene además, propiedades antioxidantes y antibacterianas.
- *Fibronectina*: se trata de la proteína más abundante en la matriz extracelular corneal. En sinergia con los factores de crecimiento, promueve la migración de las células epiteliales, favoreciendo así la epitelización (Sugioka 2010).
- *Albúmina*: esta proteína forma un entramado en la zona del defecto epitelial que favorece la migración de las nuevas células que van a cubrir dicho defecto. Posee además efectos antiapoptóticos.
- *Alfa-2-macroglobulina*: inhibe colagenasas

- *Factor de crecimiento derivado de las plaquetas*: favorece la mitosis de células epiteliales y la cicatrización de heridas corneales (Goulart Quinto 2008) regulando las interacciones entre células epiteliales y estroma durante los procesos de cicatrización (Fernández-García, Murube del Castillo, 2011). Tiene también este factor de crecimiento efectos angiogénicos.
- *Neuropéptidos*: favorecen la migración y adhesión de las células epiteliales al estroma corneal (Goulart Quinto 2008).
- *Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1)*: favorece la migración de células epiteliales. En estudios realizados in vitro se ha observado que tiene acción sinérgica con la sustancia P, lo que sugiere que el mantenimiento de la integridad normal de la superficie corneal debe estar regulada por factores humorales y neurales (Nishida 1996). Posee además efectos antiapoptóticos y quimiotácticos para fibroblastos.
- *Lisozima*: tiene acción bactericida y bacteriostática. Actúa junto con inmunoglobulinas A y G, que también forman parte de la composición del SA (Goulart Quinto G, 2008).
- *Sustancia P* (Kojima 2008, Brown 1997): neurotransmisor producido por el nervio trigémino implicado en la reparación de defectos epiteliales corneales. Por sí misma, no tiene efecto sobre la migración epitelial, pero su acción es sinérgica con IGF-1, estimulando la migración de células epiteliales y la expresión de integrina 5 y b1 esenciales para el anclaje de las células en la matriz extracelular.

Por todas estas propiedades, el SA se ha utilizado en las siguientes patologías de superficie ocular:

#### 4.2. Aplicaciones del suero autólogo en oftalmología.

- *Defecto epitelial persistente*, es aquel que tiene más de 2 mm de diámetro y que dura más de dos semanas sin responder a la terapia convencional con lágrimas artificiales (López García 2007, Tsubota 1999, Kasper 2008).

- *Síndrome de ojo seco grave*, como se ha comentado antes, fue la primera indicación para la que se empleó el SA en oftalmología. La mayoría de los autores refieren mejoría subjetiva en las primeras 48h en sus pacientes tras la prescripción del mismo. En la QCS se detecta déficit de numerosos componentes lacrimales, como factores de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento básico de fibroblastos, factor de crecimiento transformante B, retinoides, factor de crecimiento hepatocitos,... (Jirsová 2008, Kojima 2008, García Jiménez 2003).

- *Queratopatía neurotrófica* (Fernández García 2008, Matsumoto 2004): es la principal indicación del SA. Suelen ser úlceras de aspecto redondeado, rectangular o cuadrado y presentan de forma típica unos bordes epiteliales anchos y enrollados. Se desarrolla en tres etapas: defecto epitelial persistente, reclutamiento de células inflamatorias y síntesis – activación de enzimas proteolíticas. Cuando se inicia la lisis estromal se incrementa el edema de los bordes y el centro se hace translúcido. En este momento el riesgo de perforación es elevado y se requiere una acción terapéutica activa para frenar la evolución natural hacia la destrucción corneal grave que incluso puede poner en riesgo la viabilidad del globo ocular.

Esta patología es debida a la pérdida de neurotrofismo corneal, que lleva a la disminución en la sensibilidad corneal, lo que conlleva no solamente una deficiencia en el parpadeo y en el lagrimeo reflejos, sino también una reducción en el metabolismo y la proliferación celular, y un aumento de la permeabilidad del epitelio a elementos nocivos. Normalmente se lleva a cabo un recambio continuo de las células del epitelio

corneal de modo que la hipoestesia, al alterar el trofismo, puede generar un defecto epitelial en ausencia de traumatismo o lesión. Según esto, en la queratopatía neurotrófica se altera la capacidad de reepitelización con la consiguiente ulceración y a veces necrosis del estroma corneal que puede conducir a la perforación corneal. Generalmente, cuanto más profundo es el déficit en la sensibilidad corneal, más grave es la enfermedad epitelial.

- *Úlcera metaherpética*: aparece en ojos con infección herpética de larga evolución y se debe a anestesia corneal más que a la propia infección. De forma típica aparecen en la mitad inferior de la córnea. En pacientes con queratitis herpética se ha evidenciado, por estudios con microscopia confocal, que la pérdida de sensibilidad corneal se correlaciona fuertemente con la pérdida de plexos nerviosos, lo que determina un déficit de factores neurotróficos, siendo en esencia la patogénica igual a la de la queratopatía neurotrófica (Hamrah P 2010).

- *Erosiones corneales recurrentes*: son defectos epiteliales que se repiten de forma periódica. Suelen estar asociados con trauma previo causante de úlcera corneal. Se deben a una alteración en el complejo de adhesión entre epitelio y estroma (López García JS 2007).

- *Úlcera de Mooren*: lesión necrosante de la córnea. Se diagnostica por exclusión. Se produce adelgazamiento y ulceración corneal que se extienden centripetamente desde el limbo. En la exploración por biomicroscopia, se observa un límite abrupto con la córnea alterada. En algunas ocasiones es muy dolorosa (Mavrakanas 2007).

- *Postoperatorio de pterigium*: produce una mejoría subjetiva por reepitelización del lecho quirúrgico, asociada a una menor tasa de recidivas.(Goulart Quinto 2008).

- *Asociado a cirugía de trasplante de limbo* porque mejora el microambiente para optimizar la diferenciación de las células madre limbares. También en *conjunto con el trasplante de membrana amniótica* porque ambos tratamiento se potencian (Leonard 2006, Nakamura 2006).

- *Queratopatía cálcica*, se emplea asociado a los quelantes del calcio tras el raspado corneal para retirar los mismos (López García 2007).

- *Otros*: queratopatía asociada a la aniridia, queratoconjuntivitis límbica superior. (López-García 2006).

A día de hoy, aunque las indicaciones de este tratamiento se han incrementado de forma importante en la última década, son escasos los efectos secundarios descritos derivados de su empleo.

#### 4.3. Complicaciones del empleo de suero antólogo:

- Depósito de inmunocomplejos en la córnea (Fox 1984)
- Infiltrados periféricos corneales
- Conjuntivitis bacteriana
- Eccema de párpado
- Confusión de colirio entre pacientes
- Contagio de infecciones

Actualmente, el SA se está empleando como tratamiento de rescate, en aquellos casos de pacientes con falta de respuesta a los tratamientos estándar empleados en las patologías corneales citadas anteriormente. Parece que la respuesta clínica al SA es mejor que a dichos tratamientos, sin embargo, a día de hoy, sólo podemos basarnos en nuestras observaciones clínicas y en las de otros autores, ya que faltan estudios con un tamaño muestral suficiente, que permitan obtener unas conclusiones basadas en resultados estadísticamente significativos.

Asimismo, no existe en la actualidad ningún protocolo elaborado para la indicación del tratamiento con SA en patología de superficie ocular.

## **II. JUSTIFICACIÓN**



**1. JUSTIFICACIÓN:**

En la actualidad, existe un alto nivel de demanda en consultas oftalmológicas de segmento anterior por patología derivada de la alteración del trofismo corneal. Entre dichas patologías encontramos: síndrome de ojo seco severo, úlceras neurotróficas e inmunológicas y causticaciones.

Todas estas lesiones tienen como tratamiento estándar antibióticos y lubricantes artificiales, que en la mayoría de los casos contienen conservantes en su composición que empeoran la sintomatología. Además, a veces es necesario aunar el tratamiento quirúrgico a estas terapias para conseguir la curación de dichas úlceras (cirugía reconstructiva). Sin embargo, existen algunas lesiones que presentan una evolución tórpida a pesar de la cirugía reconstructiva, que en los casos de peor pronóstico, acaban en enucleación/evisceración. Por otro lado, muchos de estos casos en los que se consigue la curación, la alteración en la estructura corneal es tal, que aparecen cicatrices e irregularidades que alteran la función óptica de la córnea. Por esta razón, la agudeza visual de estos pacientes queda en algunos casos muy mermada.

El problema de los tratamientos empleados como estándar a día de hoy, es que no van dirigidos a solucionar la etiología del problema, sino que son sintomatológicos aunque a veces pueden actuar evitando posibles complicaciones (verbigracia, queratitis infecciosa). Por este motivo, la curación de estos pacientes en la mayoría de las ocasiones se prolonga mucho en el tiempo, con el consumo de recursos terapéuticos y asistenciales que ello supone. Por otro lado, hay que tener en cuenta el posible impacto psicológico que tiene sobre el paciente la disminución de visión cuando la córnea queda muy desestructurada, y peor aún cuando existe pérdida del órgano en los casos de peor evolución.

Este hecho, hace que nos planteemos la necesidad de utilizar un tratamiento que vaya dirigido a la fisiopatología de éstas lesiones, disminuyendo así el consumo de recursos y por tanto el gasto que ello conlleva. Como opción terapéutica que pueda solucionar dichos inconvenientes, nosotros planteamos el uso de SA, tratamiento que en la actualidad se está empleando como uso compasivo en casos de lesiones corneales (neurotróficas sobre todo) que no responden al tratamiento estándar.

## **2. HIPÓTESIS:**

La curación de lesiones tróficas corneales con suero autólogo, se produce en mayor proporción y en menor tiempo, que en aquellos casos en los que se aplica el tratamiento estándar, con menor número de complicaciones.

### **III. OBJETIVOS**



**OBJETIVOS:****1. GENERAL:**

Evaluar la eficacia del tratamiento con suero autólogo (SA) en lesiones tróficas corneales (úlceras neurotróficas, causticaciones y lesiones inmunes) frente al tratamiento estándar (pomada antibiótica, lubricantes oculares y oclusión).

**2. ESPECÍFICOS:**

2.1. Determinar el porcentaje de pacientes que alcanzan la curación en el grupo tratado con suero autólogo frente al grupo control tratado con terapia convencional, y determinar los factores asociados a la curación en ambos grupos.

2.2. Determinar el tiempo medio necesario para alcanzar la curación en pacientes tratados con SA.

2.3. Determinar el porcentaje de pacientes tratados con suero autólogo que han precisado tratamiento quirúrgico adicional para su curación y compararlo frente al grupo control tratado con terapia convencional.

2.4. Analizar la agudeza visual alcanzada en el paciente al final del tratamiento con suero autólogo y compararlo frente al grupo control tratado con terapia convencional.

2.5. Evaluar la aparición de efectos colaterales del tratamiento con suero autólogo sobre la superficie ocular



## **MATERIAL Y MÉTODOS**



**MATERIAL Y MÉTODOS:****1.- DISEÑO DEL ESTUDIO:**

Se ha realizado un estudio cuasiexperimental, controlado con control histórico (Argimon-Pallas 2009). El estudio es prospectivo en el grupo de tratamiento con SA y es retrospectivo en el grupo de control histórico.

**2.- ELABORACIÓN DEL SUERO AUTÓLOGO:**

Una vez que se ha decidido que un paciente es candidato para el tratamiento con SA, se deriva a dicho paciente al banco de tejidos con el fin de realizar una serología para descartar que el paciente esté afecto por alguna infección que pueda ser contagiada a través del colirio, ya que al ser el suero un derivado hematológico, supondría un riesgo para las personas que le rodean. Previamente en la consulta, al paciente hay que explicarle en que consiste el tratamiento y los riesgos que comporta el mismo, y debe firmar el consentimiento informado (ver anexo I).

En el banco de tejidos el paciente debe entregar el consentimiento informado firmado que nosotros le aportamos y una copia del informe donde se describe la patología que el paciente presenta, así como la necesidad de tratamiento con SA. Una vez se ha descartado patología infecciosa, se extrae mediante venopunción aproximadamente 40 cc de sangre al sujeto y se reparten en cuatro tubos, sin anticoagulante, que serán procesados como se explica a continuación:

1.- Se dejan los tubos en una rejilla en posición vertical a 22°C durante unas dos horas ( en este punto no hay consenso entre los distintos autores, variando los tiempos desde los 30 minutos hasta las 48h). Se ha comprobado que a mayor tiempo de coagulación el suero autólogo va a tener un mayor efecto sobre la

migración y diferenciación de las células epiteliales. Esto se explica porque ha sido objetivado que a mayor tiempo de coagulación aparece un mayor nivel de factores de crecimiento en el suero ( Liu 2005), por lo que se recomienda mantener un tiempo de coagulación de al menos dos horas ( López García 2007).

2.- Coagulada la sangre se procede a su centrifugación con el fin de separar el suero del resto de elementos formes.

En este punto, las discrepancias entre los distintos autores es aun mayor, así autores como Tsubota et al (Tsubota 1999) , centrifugan durante 5 minutos a 1500 rpm, *García et al.* 2003 centrifugan durante 10 min a 5000rpm, *Geerling et al* 2004 centrifugan a 3000 rpm durante 15 min, mientras que otros como *Malavazzi et al*, centrifugan a 1500 rpm durante 1 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. Por este motivo, es preferible hablar de fuerza “g” que engloba tanto el número de rpm como el diámetro del rotor.

En cuanto a que fuerza es mejor emplear, es necesario tener en cuenta que a medida que aumenta “g” aumenta la concentración de los distintos factores tróficos contenidos en el suero, así como la cantidad de suero obtenido de la sangre extraída.

Sin embargo, a medida que aumenta “g”, aumenta el grado de hemólisis y de contaminación del suero, por lo que lo ideal es buscar un parámetro medio, como lo es el centrifugado a 2500 rpm durante 10 minutos

En la siguiente tabla (tabla 1) se observa como cambian las concentraciones de los distintos factores de crecimiento al cambiar los parámetros de centrifugación “g” y tiempo. (Liu 2005). Como se puede observar, la mayoría de los factores de crecimiento aumentan al aumentar la fuerza y tiempo de centrifugación, sólo existe una excepción , el TGF- B1 y la fibronectina, que disminuyen al aumentar la fuerza de centrifugación.

**Table 1** Quantification of epitheliotropic factors in serum eyedrops with different preparations

Production parameters	EGF (ng/ml)	TGF-β1 (ng/ml)	PDGF (ng/ml)	FGF (ng/ml)	HGF (ng/ml)	Fibronectin (ng/ml)	Vitamin A (nmol/ml)	Vitamin E (nmol/ml)
Group 1								
500 g/120 min	0.56±0.33	21.08±6.1*	14.92±5.07			181.46±64.57	3.17±0.55	38.79±13.68
3,000 g/120 min	0.71±0.39*	13.31±4.85	15.01±4.83			177.58±88.46	3.30±0.57*	40.29±10.93
Group 2								
3,000 g/20 min	0.23±0.17	39.13±5.69	14.14±8.93	0.01±0.01	0.44±0.13	378.45±88.86	3.41±0.89	30.94±8.14
3,000 g/60 min	0.49±0.37	40.11±6.59	14.72±7.97	0.01±0.01	0.49±0.26	419.52±105.40	3.41±0.93	33.26±8.84
3,000 g/120 min	0.75±0.45 <sup>#</sup>	46.10±3.16 <sup>#, §</sup>	15.45±5.63	0.02±0.01	0.74±0.26 <sup>#</sup>	438.62±67.56 <sup>§</sup>	3.45±0.91	33.52±8.61

3.- Una vez obtenido el suero se prepara el colirio. Para ello, es imprescindible la existencia de condiciones asépticas, por lo que se trabaja en una campana de flujo laminar. En nuestro hospital, se encarga de prepararlo el servicio de Farmacia.

Se depositan en un tubo 2 cc de dicho suero a través de un filtro millipore. Posteriormente, a dicho tubo se le añaden 8 cc de suero fisiológico para conseguir una concentración final del 20% que es la que generalmente se suele prescribir , aunque también es posible obtener otras concentraciones.

En este punto de la preparación también existen opiniones distintas entre diferentes autores. Por ejemplo, en cuanto al uso del filtro, hay autores que lo defienden como Fox, porque dicen que así se retiran del suero restos de fibrina y otras partículas, ejerciendo una función además esterilizante, porque dado el tamaño del poro, de

0'22 micras, se evita el paso de algunos microorganismos como las bacterias. Por otro lado, estos filtros pueden alterar la composición del suero reteniendo moléculas de alto peso molecular.

El motivo de que la concentración empleada con mayor frecuencia sea la del 20%, es porque se ha visto en experimentos realizados in vitro que es suficiente para provocar migración de células epiteliales en cultivo. Además, a esta concentración se evitan las molestias que produciría una concentración mayor del mismo, dada la viscosidad del SA a concentraciones mayores. Así, con una concentración del 20% se consigue un mejor cumplimiento terapéutico. Otra ventaja es que se disminuye el número de extracciones que hay que realizarle al paciente. Si bien, existen autores como *Poom (2001)* que prefieren emplearlo al 50 y 100 % de concentración, ya que al aumentar la concentración del suero autólogo aumentan los efectos beneficiosos.

4.- Por último, es necesario una adecuada conservación del colirio para evitar su contaminación y pérdida de propiedades. Para ello, se envuelven los colirios obtenidos en papel de aluminio para evitar su alteración por la luz, que afectaría sobre todo a la concentración de vitamina A (*López García 2007*).

Además, debe estar correctamente identificado, así se evita que un paciente adquiera el colirio elaborado con sangre de otro paciente. Aunque hoy en día esto no es posible, dado los estrictos controles por los que pasa la sangre del sujeto, existe un caso en la literatura descrito de contagio de VIH a través de éstos colirios (*Eberle et al 2000*).

Aún no se sabe qué hacer en el caso de pacientes oncológicos, si existe o no riesgo de diseminación. De hecho, no existen en la literatura publicados hasta el momento trabajos que traten dicho problema. Aunque hay algunos autores que usan el suero

autólogo en pacientes con tumores no transmisibles por vía hemática, en nuestra serie, hemos excluido a los enfermos oncológicos.

El colirio que se va a usar se debe conservar en el frigorífico a 4°C y el resto en congelador a -20°C. La duración de cada colirio es de un mes como máximo.

Llegados al apartado de conservación, tampoco existe consenso entre los distintos investigadores. Hay algunos como *Poom* (2001) que defienden el uso de suero autólogo acompañado de antibiótico para evitar contaminación, ya que según algunos estudios (*Sauer et al, 2004*) existe un 7'5% de frascos que se contaminan, especialmente por *S. epidermidis*.

Sin embargo, a criterio de otros autores como *Nakamura, (1993)*, el uso de antibióticos reduce los efectos sobre el epitelio del suero autólogo.

Hay autores que no aumentan la concentración sino la frecuencia de administración del suero autólogo. Por último, en cuanto a lo que a la posología se refiere también existen discrepancias, variando desde la aplicación horaria hasta la aplicación de suero tres veces al día.

En resumen, la preparación del colirio de SA en nuestro hospital se atiene a la normativa legal vigente (RD 175/2001 de 23 de febrero) . Sigue estrictos protocolos del banco de tejidos de Granada en cuanto a extracción y estudios serológicos. Una vez pasamos este primer filtro, se elabora el colirio en Farmacia Hospitalaria bajo condiciones de esterilidad en la campana de flujo lamiar. Posteriormente se conserva refrigerado a -20°C hasta su dispensación al paciente. Gracias a la buena colaboración existente entre los tres servicios contamos con experiencia en la obtención del SA desde hace 7 años.

### **3.- SELECCIÓN DE PACIENTES:**

Como grupo control, se ha tomado una serie histórica que representa los enfermos tratados en el Hospital Clínico por úlceras tróficas (neurotróficas, inmunológicas y causticaciones) tratadas en nuestro hospital entre los años 1999-2004. Es decir, pacientes con gravedad similar a la de los pacientes seleccionados para el tratamiento con SA. Los datos de esta serie son retrospectivos e incluyen un total de 42 pacientes.

Por otro lado, se ha seleccionado el grupo de tratamiento con SA, en el que se han incluido pacientes afectados por úlceras neurotróficas corneales, queratitis sicca severa, úlceras inmunológicas y causticaciones en seguimiento en el servicio de oftalmología del Hospital Clínico San Cecilio, por dichas patologías entre los años 2005-2010. Este grupo está formado por un total de 81 casos.

#### **3.1. Criterios de inclusión:**

- Lesión corneal de origen trófico: úlceras neurotróficas, queratitis sicca, úlceras inmunológicas y causticaciones.

#### **3.2. Criterios de exclusión:**

2.2.1. Para el grupo de tratamiento con suero autólogo:

- Patología sistémica que contraindique la elaboración de SA, bien por ser perjudicial para el propio paciente( por ejemplo, anemia severa), bien porque presentara un riesgo de contagio (infecciones por VHC,VHB,VIH, etc) para las personas que manipulan el colirio o tiene contacto con el paciente (familiares o sanadores)

2.2.2. Para el grupo de controles:

- Perforación ocular de causa traumática
- Eucleación por causas distintas a las lesiones tróficas

#### **4.- VALORACIÓN DE LESIONES:**

##### **4.1. Macroscópicamente:**

Para poder evaluar de la forma más objetiva posible a estos pacientes , se ha empleado la clasificación de lesiones en polo anterior de *Sotozono et al (2007)*. Además siempre ha sido el mismo observador el que ha puntuado las lesiones en base a esta clasificación,

Ésta clasificación incluye la evaluación de lesiones a nivel de párpados y superficie ocular diseñada originalmente para evaluar la extensión y severidad de las manifestaciones oculares crónicas en relación con el síndrome de Stevens-Johnson (ver anexo II). Nosotros en este trabajo hemos empleado los parámetros de esta clasificación referentes a la valoración de lesiones en superficie corneal:

1. Queratitis punctata
2. Defecto epitelial
3. Conjuntivalización corneal
4. Opacificación corneal
5. Neovascularización
6. Queratinización

Severidad de la **queratitis punctata superficial** (QPS), en función del área usando tinción de fluoresceína:

□□□G0: no se observa QPS.

□□G1: la QPS ocupa menos de un tercio de la córnea.

□□G2: la QPS ocupa de uno a dos tercios de la córnea.

□□G3: la QPS ocupa más de dos tercios de la córnea.

**Defectos epiteliales** (DE) corneales, cuya extensión se valora de 0 a 3:

□□G0: no se observa defecto epitelial.

□□G1: DE que ocupa menos de un cuarto de la superficie corneal.

□□G2: DE que ocupa de un cuarto de la superficie corneal hasta la mitad corneal.

□□G3: DE que ocupa más de la mitad de la superficie corneal.

**Conjuntivalización**, cuya extensión se valora de 0 a 3:

□□G0: ausencia de conjuntivalización.

□□G1: conjuntivalización que ocupa menos de un cuarto de la superficie corneal.

□□G2: conjuntivalización que ocupa de un cuarto de la superficie corneal hasta la mitad corneal.

□□G3: conjuntivalización que ocupa más de la mitad de la superficie corneal.

**Neovascularización** corneal, cuya extensión se valora de 0 a 3:

□□G0: ausencia de neovascularización.

□□G1: neovascularización confinada a la periferia.

□□G2: neovascularización que se extiende hasta el margen pupilar.

□□G3: neovascularización que sobrepasa el margen pupilar, ocupando el centro de la córnea. En ojos donde exista una opacificación significativa o un simblefaron, se puntuará como 3, dada la dificultad para valorar la neovascularización corneal.

**Opacificación** corneal, cuya severidad se valora de 0 a 3:

□□G0: córnea clara, pudiendo visualizar claramente los detalles del iris.

□□G1: pérdida parcial de los detalles del iris.

□□G2: detalles del iris muy poco visibles, siendo visible sólo el margen pupilar.

□□G3: pérdida completa de los detalles del iris y de la pupila.

**Queratinización** corneal, cuya extensión se valora de 0 a 3:

□□G0: ausencia de queratinización corneal.

□□G1: queratinización corneal que ocupa menos de un cuarto de la superficie corneal.

□□G2: queratinización corneal que ocupa de un cuarto de la superficie corneal hasta la mitad corneal.

□□G3: queratinización corneal que ocupa más de la mitad de la superficie corneal.

Esta clasificación se empleó para la gradación de las lesiones en el grupo de tratamiento, previamente al inicio del tratamiento con SA y posteriormente, al finalizar el tratamiento con el mismo. Esta clasificación publicada en la revista Ophthalmology (Sotozono 2007) aporta una gradación iconográfica (ver anexo 2) que nos permite una clasificación más objetiva de las lesiones que nosotros evaluamos en nuestros pacientes.

#### **4.2. Microscópicamente:**

Se empleará la citología de impresión como técnica microscópica para el análisis de las lesiones en superficie ocular. Dicha técnica permite de un modo fácil, barato, rápido y poco traumático obtener una mayor información a nivel celular de la patología subyacente.

En esta tesis se empleará la citología de impresión como ayuda en el diagnóstico, seguimiento y valoración de lesiones corneales y de cambios histológicos con el tratamiento con SA.

La toma de citología se puede realizar en la misma consulta donde se explora al paciente. El material necesario para llevar a cabo la toma de muestra consta de: blefarostato, pinzas, tijeras, papel de filtro millipore de acetato de celulosa (0,22micras), portaobjetos, tubo para fijación y transporte al laboratorio de las muestras, alcohol de 97º, guantes estériles, anestésico doble e hisopo.

En primer lugar, se le administra anestésico doble al paciente y se le coloca el blefarostato para evitar el parpadeo y la contaminación de la muestra. Se corta papel de filtro en pequeños fragmentos. Manipularemos estos pequeños fragmentos de papel de filtro con unas pinzas, colocándolos sobre la lesión que deseamos estudiar. Se ejerce algo de presión con un hisopo sobre el papel, se retira con las pinzas y se deposita

sobre un portaobjetos donde previamente hemos anotado los datos del paciente para evitar equivocaciones.

Por último, para fijar la muestra, se introduce el portaobjetos en un tubo con alcohol de 97° y se envía al departamento de Anatomía Patológica donde, en función de la lesión que deseamos estudiar, emplean un tipo de tinción u otra. De forma general, se viene empleando la técnica de Papanicolau para las lesiones corneales y la técnica de Ácido Peryódico de Schiff (PAS) para lesiones conjuntivales y detección de conjuntivalización corneal.

Para valorar estas muestras, y como parte de la metodología de esta tesis, elaboramos junto con el departamento de Anatomía Patológica una tabla en la que se recogen los distintos parámetros que se van a evaluar (ver anexo III). Dichos criterios son:

- Células epiteliales: escamosas/metaplasia/displasia/hiperplasia
- Células caliciformes: nº adecuado/ presencia en córnea
- Células inflamatorias: Polimorfonucleares/Eosinófilos/Linfocitos
- Mitosis
- Necrosis
- Alteración porcentaje células epiteliales/células Inflamatoria

Además, para que las muestras obtenidas se consideren valorables, deberán existir un mínimo de 50 células por muestra.

Por otro lado, para la valoración del grado de metaplasia encontrado en las lesiones corneales, se utilizará la clasificación de *López-García (2006)*. Este autor, clasifica la metaplasia en tres grados: leve, moderada y grave, en función de:

- Morfología más o menos homogénea de las células,

- Densidad de células, relación núcleo: citoplasma(N:C, normal= 1:8), morfología nuclear,
- Tinción de citoplasma
- Presencia de células caliciformes.

## **5.- ANÁLISIS DE RESULTADOS:**

Los análisis estadísticos aplicados a nuestros datos, y que posteriormente se desarrollarán en el apartado correspondiente de resultados han sido realizados con el programa SPSS versión 15.0 (SPSS Inc., Chicago IL, USA).

Los test estadísticos empleados han sido:

4.1. Estadística descriptiva del grupo control y del grupo de tratamiento. Las variables recogidas en ambos grupos de tratamiento han sido:

### **- Grupo control:**

- Variables cuantitativas: edad, AV postto, nº revisiones, duración del tratamiento, nº ingresos, días de ingreso
- Variables cualitativas: sexo, tipo de úlcera, lateralidad, perforación, ingreso, cirugía, tipo de cirugía, curación.

### **- Grupo de tratamiento con SA:**

- Variables cuantitativas: edad, superficie de la úlcera, profundidad de la Úlcera, AV pretratamiento, AV postto, nº revisiones, duración del tratamiento, nº ingresos, días de ingreso

- Variables cualitativas: sexo, tipo de úlcera, lateralidad, perforación, ingreso, cirugía, tipo de cirugía, curación.

4.2. Análisis bivalente comparando la necesidad o no de cirugía en el grupo control y en el grupo de tratamiento con suero autólogo frente al resto de variables recogidas (citadas en el apartado anterior). A las variables cuantitativas previamente al análisis bivalente se les realizó una Prueba de Levene para igualdad de varianzas. Posteriormente, se aplicó el test estadístico t de student para la igualdad de medias.

4.3. Test chi-cuadrado para comparar la curación en el grupo de tratamiento con la del grupo control, entendiendo como curación la restitución completa del epitelio corneal.

4.4. Cálculo del número de pacientes necesario tratar (NNT) para evitar un resultado adverso, con el tratamiento de suero autólogo, obteniendo en número de pacientes que sería necesario tratar para evitar al menos una enucleación.

4.4. Análisis estadístico de McNemar para comparar las lesiones colaterales valoradas en superficie ocular y sus distintos grados, antes y después de la cirugía.

4.5. Análisis multivariante en grupo de tratamiento con SA, tomando como variables dependientes, por un lado la agudeza visual final para valorar los resultados funcionales, y por otro lado la restitución anatómica del órgano considerada como curación del cuadro, para valorar los resultados anatómicos.

4.6. En el grupo de tratamiento con suero autólogo, en el que además, hemos recogido la gradación de las distintas lesiones colaterales antes y después del tratamiento, el análisis multivariante nos va a permitir detectar cuales de estas lesiones van a influir sobre la agudeza visual final de modo significativo.

4.7. Análisis de curación en función del tiempo de tratamiento mediante una curva basada en el algoritmo de Kaplan- Meier que permite describir la evolución de los pacientes tratados con SA, desde un estado inicial (úlceras corneales) hasta un estado final (curación) mediante la representación gráfica de las proporciones de enfermos no curados para diferentes intervalos de tiempo expresados en días.

En la realización de los análisis estadísticos para la comparación entre el grupo control y el grupo de tratamiento con SA hemos excluido úlceras debidas a queratitis sicca porque aunque fueron tratadas en el grupo control, no recibieron un intenso seguimiento, y por tanto no nos permitía una recogida adecuada de datos ni una comparación objetiva con el grupo de tratamiento con SA. Por lo tanto, es el resultado del tratamiento con ambas terapias de úlceras neurotróficas, inmunológicas y causticaciones, el que se han comparado entre ambos grupos.

Así en nuestro trabajo podemos distinguir dos partes, por un lado un estudio cuasiexperimental donde se compara el grupo tratando con SA frente al grupo control tratado con terapia convencional. Y por otro lado, un estudio cuasiexperimental donde se realiza un análisis de muestras pareadas, es decir, tratamos a un grupo de sujetos en los que analizamos una serie de variables antes y después del tratamiento con SA.

## **V. RESULTADOS**



## **ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA**



**ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA: GRUPO CONTROL**

Este grupo está formado por 42 pacientes que padecieron patología de superficie ocular (úlceras neurotróficas, causticación o úlceras inmunológicas), entre los años 1999-2004. Estos pacientes recibieron el tratamiento estándar para dichas lesiones, siendo dicho tratamiento: lubricantes artificiales y pomadas antibióticas.

En este grupo de sujetos las variables recogidas y analizadas han sido: edad, sexo, afectación uni/bilateral, tipo de úlcera, número de revisiones, necesidad de ingreso, número de ingresos, días de ingreso, duración del tratamiento, necesidad de cirugía, tipo de cirugía, perforación ocular, curación (si/no), agudeza visual postratamiento.

En la siguiente tabla (tabla 1), se representa el resumen de la estadística descriptiva para las variables cuantitativas del grupo control:

VARIABLES CUANTITATIVAS	Nº SUJETOS/TOTAL	%	m ± DS	MIN.	MÁX.
Edad			64 ± 18	16	99
AV postto (logMAR)			3.94±2.3	0	6
0<0,1 (0- 2)	36/42	30.95			
0,1-0,5 (>2- 4)	3/42	16.7			
>0,5-1 (4- 6)	3/42	52.4			
Nº revisiones			5.4±4.5	0	22
0	1 / 42	2.4			
1-10	36/42	85.7			
10-22	5/42	11.9			

Duración tratamiento			151±306	2	1530
<0.5m	13/42	31			
0.5-1mes	7/42	16.7			
1mes-3 meses	10/42	23.8			
>3meses	12/42	28.5			
Nº ingresos			1.17± 1	0	6
0	7/42	16.7			
1-3	34/42	80.9			
3-6	1/42	2.4			
Días de ingreso			9 ±12	0	57

**Tabla 1.** Estadística descriptiva de las variables cuantitativas del grupo control.  
M= media; DS= desviación típica; Mín= mínimo; Máx= máximo

En la siguiente tabla (tabla 2), se resume la estadística descriptiva de las variables cualitativas. Como podemos observar, entre las patologías incluidas en el grupo control se encuentran:

- Úlcera neurotrófica que supone el 71.4% de las úlceras de este grupo
- Causticación e inmunológicas que suponen el 28.6%

VARIABLES CUALITATIVAS	Nº SUJETOS/TOTAL	%
Sexo		
M	18/42	42.9
V	24/42	57.1
Tipo de úlcera		
Úlcera neurotrófica	30/42	71.4
Causticación/inmunológica	12/42	28.6
Afectación ocular		
Unilateral	29 /42	69
Bilateral	13/42	31
Perforación		
Si	17/ 42	40.5
No	25/42	59.5
Ingreso hospitalario		
Si	35/42	83.3
No	7/42	16.7
Cirugía		
Si	27/42	64.3
No	15/42	35.7
Tipo de cirugía		
Reconstructiva	6/42	14.3
Enucleación/evisceración	21/42	50.4
Curación		
Si	21/42	50
No	21/42	50

**Tabla 2.** Estadística descriptiva de las variables cualitativas del grupo control.

M = mujer; V = varón

No ha sido posible recoger las agudezas visuales pretratamiento en nuestro grupo control por no estar registradas en muchas de las historias clínicas de los pacientes. Lo mismo, ocurre con el tamaño de la úlcera, al no existir en el periodo de seguimiento del grupo control equipo necesario para recoger iconografía, no es posible valorar la superficie de las úlceras de los pacientes de este periodo de un modo objetivo.

**En resumen, la serie de control (histórico) consiste en un grupo de úlceras graves, neurotróficas e inmunológicas y debidas a causticaciones. La respuesta al tratamiento disponible entonces, antibióticos, lubricantes y oclusión, fue en general pobre, con frecuencia de complicaciones graves como la perforación. La mayoría de los pacientes necesitaron ingresos hospitalarios e intervenciones quirúrgicas. En la mitad de los casos la intervención quirúrgica consistió en la enucleación o evisceración del globo ocular. Algunos de los pacientes sometidos a cirugía reconstructiva acabaron necesitando también la enucleación (cuatro pacientes), debido a que el tratamiento quirúrgico no aporta el trofismo necesario para mantener la viabilidad del órgano. Finalmente, aquellos pacientes que conservaron el órgano, en la mayoría de los casos, alcanzaron pobres agudezas visuales.**

### **ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA: SUERO AUTÓLOGO**

Este grupo consta de 81 casos de pacientes afectados por el mismo tipo de lesiones que los pacientes del grupo control, incluyendo lesiones por queratitis sicca grave, que han sido tratados con suero autólogo entre los años 2005-2010.

En nuestro grupo de tratamiento, las variables recogidas han sido: edad, sexo, afectación uni/bilateral, tipo de úlcera, número de revisiones, necesidad de ingreso, número de ingresos, días de ingreso, duración del tratamiento, necesidad de cirugía, tipo de cirugía, perforación ocular, curación (si/no), agudeza visual pretratamiento y postratamiento, superficie y profundidad de la úlcera. En este grupo, al haber realizado un seguimiento (no son datos históricos), y disponer de soporte informático para las historias clínicas e iconográfico (registro fotográfico de las lesiones y su evolución), ha sido posible obtener además otras variables como son las dimensiones (superficie y profundidad) de las distintas lesiones, así como la agudeza visual pretratamiento.

Como podemos observar en la siguiente tabla (tabla 3), en la que se resume la estadística descriptiva de este grupo, la edad media de estos pacientes es de 58.8 años, por tanto muy similar a la edad de los pacientes incluidos en el grupo control (la diferencia no es estadísticamente significativa).

VARIABLES	Nº	%	m ± DS	MIN.	MÁX.
CUANTITATIVAS	SUJETOS/TOTAL				
Edad			58.8 ± 19.6	0	79
Superficie de la úlcera			12.3± 14.2	0	100
0 mm <sup>2</sup> ≤ 6 mm <sup>2</sup>	40/81	49.4			
6 mm <sup>2</sup> ≤ 16 mm <sup>2</sup>	21/81	25.9			
≥ 16 mm <sup>2</sup>	20/81	24.7			
Profund. de la úlcera (%)			35.6±34.2	0	100
≤ 30%	53/81	65.4			
30% ≤75%	13/81	16.05			
75% ≤ 100%	2/81	2.5			
100%	13/81	16.05			
AV pretto (logMAR)			2	0	6
0<0.1 (0-2)	48/81	59.2			
0.1-0.5 (>2- 4)	23/81	28.4			
>0.5-1 (>4- 6)	10/81	12.3			
AV postto (logMAR)			0.54±0.46	0	6
0 < 0.1(0-2)	53/81	65.4			
0.1-0.5(>2- 4)	18/81	22.2			
0.5 > 1.0(>4- 6)	10/81	12.3			
Nº revisiones			9±9	0	60
0	1 / 81	1.2			
1-10	61/81	75.3			
11-60	19/81	23.5			

Duración tto (meses)			4.4±6.3	0.25	36.4
< 1 mes	21/81	25.9			
1mes – 2 meses	20/81	24.7			
2 meses -6 meses	20/81	24.7			
>6 meses	20/81	24.7			
Nº ingresos			0.21± 0.5	0	2
0	68/81	84			
1	9/81	11.1			
2	4/81	4.9			
Días de ingreso			1.7±4.5	0	21

**Tabla 3.** Resumen de estadística descriptiva de variables cuantitativas en grupo tratado con SA. M= media; DS= desviación típica; Mín= mínimo; Máx= máximo. AV pretto = agudeza visual pretratamiento; AV postto= agudeza visual postratamiento

En promedio, la úlcera de nuestros pacientes tiene una superficie extensa, de 12,3 mm ± 14 mm DS, y una profundidad de hasta un tercio del espesor corneal (35% de profundidad ± 34% DS)

En nuestro grupo de tratamiento, podemos diferenciar 3 grupos de pacientes en función de su agudeza visual:

- Por un lado, existen pacientes con muy mala agudeza visual (<0.1) y con mal pronóstico funcional.
- Por otro lado, existen pacientes con agudeza visual útil para ser autónomos (0.1-0.5)
- Por último, hay otro grupo de pacientes que alcanzan una buena agudeza visual (> 0'5).

En el grupo de pacientes con agudeza visual ( $<0.1$ ) se produce una curación anatómica pero no una mejoría funcional. La mejoría funcional se observa en aquellos pacientes que presentan una lesión previa de menor tamaño y superficie. De este modo, en algunos pacientes, el deterioro anatómico ya establecido es tal, que no es posible una mejoría en su agudeza visual.

En el grupo de tratamiento con SA, a diferencia del grupo control, hemos realizado un mayor número de revisiones, ya que con el SA se ha conseguido conservar el órgano en la mayoría de los pacientes con un menor porcentaje de perforaciones. Además, ante la buena evolución de la patología con dicho tratamiento, se han hecho necesarios menos ingresos hospitalarios, aunque el seguimiento ambulatorio se ha hecho de forma más intensiva. Como podemos ver en la tabla 4, la mayoría son úlceras que no llegan a perforarse (84%).

VARIABLES CUALITATIVAS	Nº SUJETOS/TOTAL	%
Sexo		
M	32/76	42.1
V	44/76	57.9
Tipo de úlcera		
Queratitis sicca	17/81	21
Úlcera neurotrófica	49/81	60.5
Causticación/inmunológica	15/81	18.5
Afectación ocular		
Unilateral	76/81	93.8
Bilateral	5/81	6.2
Perforación		
Si	13/81	16
No	68/81	84
Ingreso hospitalario		
Si	13/81	84
No	68/81	16
Cirugía		
Si	18/81	22.2
No	63/81	77.8
Tipo de cirugía		
Reconstructiva	17/81	21
Enucleación/evisceración	1/81	1.23
Curación		
Si	77/81	95.1
No	4/81	4.9

**Tabla 4.** Resumen de estadística descriptiva de variables cualitativas en grupo tratado con SA.

Como podemos observar en la tabla 4, en el grupo de pacientes en tratamiento con SA, se reduce de forma importante la necesidad de cirugía. Además, dentro del grupo de pacientes que precisan cirugía tan sólo se realiza una enucleación.

En este grupo de pacientes tratados con SA, existen 10 pacientes en los que aunque el SA cura las lesiones, necesitan mantener el SA de forma crónica para evitar la recidiva de las mismas. Estos son fundamentalmente casos de queratitis sicca, en los que el suero aporta factores deficitarios en la película lagrimal, necesarios para mantener el trofismo corneal. Por otro lado, los 4 pacientes cuyas úlceras no curaron fueron:

- Caso nº 5, precisó de enucleación por mala evolución.
- Caso nº 38, falleció por problemas respiratorios crónicos antes de alcanzar la curación.
- Caso nº 47, sufrió una infección corneal grave durante el tratamiento que obligó a suspender el colirio de SA.
- Caso nº 61, desarrolló depósitos cálcicos corneales (queratopatía en banda) que impidió la correcta reepitelización corneal.

Con los datos recogidos en estas tablas, y previamente a la realización del análisis estadístico de los resultados, observamos que existe un mejor resultado en las patologías estudiadas cuando los pacientes son tratados con SA, tanto a nivel de curación (conservación del órgano) como de resultados funcionales.

**COMPARACIÓN CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS ENTRE EL GRUPO CONTROL Y EL GRUPO DE TRATAMIENTO CON SA.**

En este apartado pretendemos valorar si las características de las dos muestras seleccionadas para nuestro trabajo eran similares, de modo que la única variable sustancialmente distinta en ambos grupos objeto de estudio fuera el tratamiento aplicado.

<u>VARIABLE</u>	<u>GRUPO CONTROL</u>	<u>GRUPO TTO SA</u>	<u>VALOR P</u>
Edad años (SD)	64(18)	60,3(19)	<u>0,31</u>
Duración tto. días (SD)	158(308)	131 (182)	0.6
<u>Lateralidad:</u>			<0.03
- Unilateral	29( 69%)	57 (88%)	
- Bilateral	13( 31%)	7 (12%)	
<u>Sexo</u>			0.91
- hombres	26 (62%)	39 (61%)	
- mujeres	16 (38%)	25 (39%)	
<u>Tipo de úlcera</u>			0,71
- Neurotróficas	30 (71%)	49 (77%)	

- Causticac./inmunológ.	12 (29%)	15 (23%)	
-------------------------	----------	----------	--

**Tabla 5.** Comparación de variables epidemiológicas del grupo control y del grupo de tratamiento con SA.

En la tabla 5 comparamos las características epidemiológicas del grupo Control constituidas por úlceras neurotróficas, causticaciones e inmunológicas frente al mismo tipo de úlceras en el grupo de tratamiento con SA. Observamos que ambas muestras presentan gran similitud en cuanto a edad, sexo y porcentaje de los distintos tipos de patología. La única diferencia significativa hallada se refiere al número de pacientes que presentan patología uni/bilateral, siendo la patología bilateral algo más frecuente en el grupo de terapia convencional. Esta diferencia podría llevar a pensar que en el grupo control las patologías son más severas, sin embargo, con el análisis bivariante hecho en ambos grupos de tratamiento, donde se compara la existencia de curación/no curación en función de la lateralidad de la patología queda descartada dicha posibilidad. Por lo tanto, no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la curación hallada en ambos grupos de tratamiento en función de que la patología sea uni/bilateral.

**ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA GRUPO DE TRATAMIENTO SA,  
COMPLICACIONES EN SUPERFICIE OCULAR ANTES Y DESPUÉS DEL  
TRATAMIENTO CON SUERO AUTÓLOGO.**

En este grupo se recogen los 81 casos tratados con SA, en los que se analiza el grado de las lesiones antes y después del tratamiento con suero autólogo. Para ello se valoró:

- Queratitis punctata
- Defecto epitelial
- Conjuntivalización
- Queratinización
- Neovascularización
- Opacificación
- 

Todas estas lesiones se han clasificado en 4 grados: 0, I, II y III, siendo 0 la ausencia de la lesión y III el estadio más severo de la misma. Para ello hemos utilizado la clasificación publicada por Sotozono (Sotozono et al, Ophthalmology 2007; 114: 1294-1302) que describimos en detalle en el apartado de material y métodos.

En la siguiente tabla (tabla 6) se recoge el número de pacientes, así como el porcentaje correspondiente de los mismos, que presentan las distintas lesiones estudiadas.

LESIONES	PRETRATAMIENTO	POSTRATAMIENTO
Queratitis punctata		
0	8 (9.9%)	69 (85.2%)
I	18 (22.2%)	12 (14.8%)
II	20 (24.7%)	0
III	35 (43.2%)	0
Defecto epitelial		
0	8 (9.9%)	78 (96.2%)
I	35 (43.2%)	3 (3.8%)
II	29 (35.8%)	0
III	9 (11.1%)	0
Conjuntivalización		
0	74 (91.4%)	63 (77.8%)
I	4 (4.9%)	12 (14.8%)
II	2 (2.5%)	4 (4.9%)
III	1 (1.2%)	2 (2.5%)
Queratinización		
0	72 (88.9%)	70 (86.4%)
I	6 (7.4%)	6 (7.5%)
II	3 (3.7%)	4 (4.9%)
III	0	1(1.2%)
Neovascularización		
0	32 (39.5%)	23 (28.4%)
I	18 (22.2%)	20 (24.7%)

II	18 (22.2%)	21 (25.9%)
III	13 (16.1%)	17 (21%)
Opacificación		
0	23 (28.4%)	22 (27.2%)
I	37 (45.7%)	39 (48.1%)
II	15 (18.5%)	18 (22.2%)
III	6 (7.4%)	2 (2.5%)

**Tabla 6.** Resumen de la estadística descriptiva de lesiones antes y después del tratamiento con SA.

Como podemos observar en los datos resumidos en la tabla anterior, existe una tendencia a la disminución de lesiones epiteliales tras el tratamiento con SA. Sin embargo, parece que hay determinadas lesiones como son la opacificación y la queratinización que tienden a persistir. En el caso de la opacificación, se observa sobre todo en pacientes en los que la lesión afectaba estroma corneal, ya que en la regeneración del mismo, se pierde la transparencia corneal. Por otro lado, se observa un ligero aumento en el grado de conjuntivalización y neovascularización. En el anexo IV, se adjuntan algunos de los casos clínicos más representativos de los distintos tipos de patología que han sido valorados en el grupo de pacientes tratados con SA.



## **ESTADÍSTICA INFERENCIAL**



## **ANÁLISIS BIVARIANTE CURACIÓN-NO CURACIÓN EN EL GRUPO CONTROL**

Este grupo consta de 42 pacientes portadores de úlceras neurotróficas e inmunológicas graves. En la mitad de ellos se realizó como resultado final enucleación- evisceración con pérdida anatómica de órgano y en el otro 50% se conservó el órgano (6 de ellos precisaron cirugía reconstructiva). En este grupo el análisis bivalente se centrará en la pérdida de órgano visual, considerada como ausencia de curación frente a la conservación del mismo, entendida como curación.

A todas las variables se les realizó una Prueba de Levene para la igualdad de varianzas. Después se aplicó la t de student para la igualdad de medias asumiendo varianzas iguales o desiguales según el resultado del test de Levene referido.

VARIABLES con varianzas iguales: Edad, días de ingreso, número de ingresos y número de revisiones

VARIABLES con varianzas significativamente distintas: Agudeza visual final

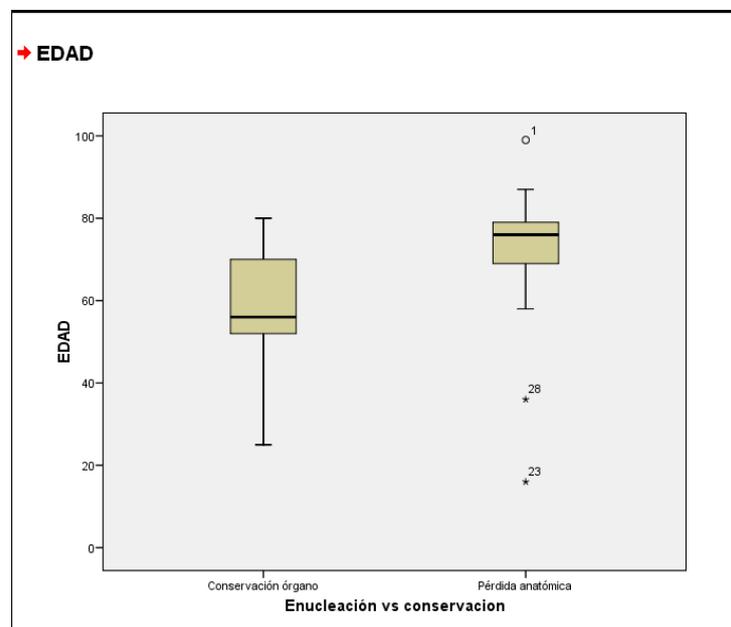
### A) VARIABLES CUANTITATIVAS

VARIABLE	CURACIÓN	NO CURACIÓN	VALOR p	Intervalo De Confianza	Valor t student
Edad	57.38 (±15.54)	70.57 (±17.86)	0.015	-23.6 a -2.7	2.55
Días de ingreso	8.67 (±8.49)	9.81 (±15.26)	0.77	-8.8 a 6.6	0.3
Nº ingresos	0.95 (±0.74)	1.38 (±1.20)	0.17	-1.1 a 0.19	1.39
Nº revisiones	5.57 (±4.79)	5.33 (±4.26)	0.87	-2.6 a 3.1	0.17
AV final (logMAR)	1.88 (±1.35)	6	0	-4.74 a -3.51	-13.95

**Tabla 7.** Tabla resumen de pacientes grupo Control que curaron/no curaron. AV = agudeza visual

En los pacientes que finalmente no alcanzan la curación, el número de días ingresados, el número de ingresos y el número de revisiones no fue significativamente distinto de los pacientes que conservaron el órgano.

La edad media de los pacientes a los que se realizó enucleación y/o evisceración fue significativamente mayor que en aquellos que se conservó el órgano (t student =2.553, g.l.=40, p= 0.015). Este resultado se representa en el siguiente diagrama de cajas.



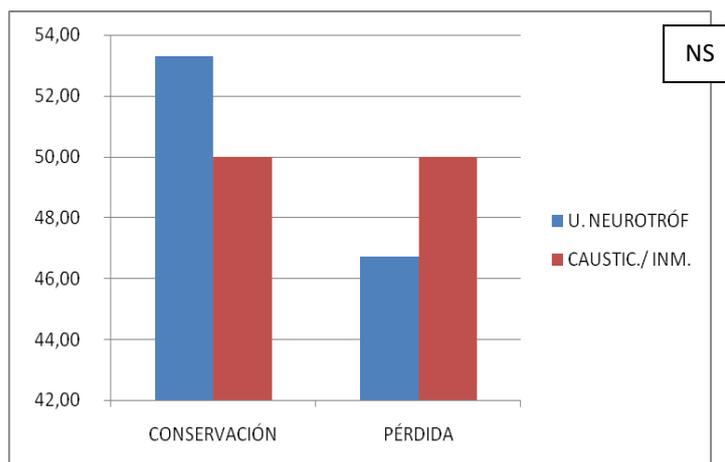
**Gráfico 1.** Diagrama de cajas en el que se observa que los pacientes a los que se enuclea o eviscera el ojo tienen una mediana de edad 78 años, frente a los pacientes que conservaron el órgano cuya mediana de edad es de 58 años.

**B) VARIABLES CUALITATIVAS****1. Relación curación versus(vs) no curación según el tipo de úlcera (úlcera neurotrófica, inmunológicas y causticaciones).**

			Enucleación vs conservación		Total
			Conservación	Pérdida anatómica	
Tipo de úlcera	úlceras neurotróficas	Recuento	16	14	30
		% de Tipo de úlcera	53,3%	46,7%	100,0%
	Causticación e inmunológicas	Recuento	5	7	12
		% de Tipo de úlcera	41,7%	58,3%	100,0%
Total		Recuento	21	21	42
		% de Tipo de úlcera	50,0%	50,0%	100,0%

**Tabla 8.** Resumen porcentaje pacientes que curaron/no curaron en grupo control en función del tipo de úlcera.

En esta tabla (tabla 8) se resume el porcentaje de cada grupo de patología, dentro del grupo control, que conservan el órgano y que pierden el mismo. Se observó, que en el grupo de úlceras por causticación e inmunológicas, fue mayor el porcentaje que no alcanzan la curación.



**NS:** no significativo

**Gráfico 2.** Comparación numérica curación /pérdida anatómica en función del tipo de úlcera

Para analizar dichos resultados, se realiza un test  $\chi^2$  en una tabla 2x2. En esta muestra no recogimos pacientes con queratitis sicca, porque los pacientes afectos por dicha patología no eran comparables con el grupo de tratamiento con SA. Se comparan los resultados del riesgo de conservación o pérdida de órgano frente al tipo de úlcera que presentan (úlceras neurotróficas y/o causticación e inmunológicas).

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,467(b)	1	,495		
Corrección por continuidad(a)	,117	1	,733		
Razón de verosimilitudes	,468	1	,494		
Estadístico exacto de Fisher				,734	,367
Asociación lineal por lineal	,456	1	,500		
N de casos válidos	42				

**Tabla 9.** Resultados test estadístico Chi-cuadrado. Gl: grados de libertad

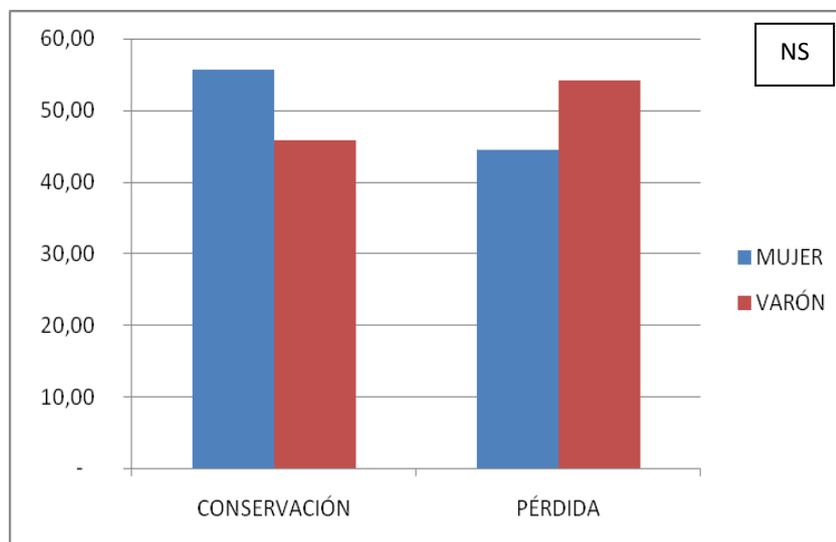
La diferencia observada en el riesgo de enucleación o lo que es lo mismo, de no alcanzar la curación entre ambos grupos de patologías no fue estadísticamente significativa. ( $\chi^2= 0.47$ , g.l.=1, p= 0.49, OR= 1.6 Int. de Confianza= 0.34 a 7.65). Por lo tanto, podemos concluir que la presencia de curación no estará influida por el tipo de úlcera.

## 2. Relación curación vs no curación según el sexo.

Resumen pérdida de órgano versus conservación del mismo en función del sexo del paciente.

			Enucleación vs conservación		Total
			Conservación órgano	Pérdida anatómica	
SEXO	M	Recuento	10	8	18
		% de SEXO	55,6%	44,4%	100,0%
	V	Recuento	11	13	24
		% de SEXO	45,8%	54,2%	100,0%
Total		Recuento	21	21	42
		% de SEXO	50,0%	50,0%	100,0%

**Tabla 10.** Porcentaje de varones y mujeres que curaron o y no curaron en el grupo control



**NS:** no significativo

**Gráfico 3.** Comparación porcentaje de conservación /pérdida del órgano en grupo control en función del sexo.

Observando el gráfico, parece que los hombres presentan un mayor riesgo de enucleación que las mujeres, sin embargo, cuando se realiza test estadístico de Chi-cuadrado observamos que esta relación no es estadísticamente significativa ( $\chi^2 = 0.39$ , g.l.=1, p= 0.53, Odds ratio= 1.47, Intervalo de Confianza: 0.36 a 6.07).

	Valor	Gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,389(b)	1	,533		
Corrección por continuidad(a)	,097	1	,755		
Razón de verosimilitudes	,390	1	,533		
Estadístico exacto de Fisher				,756	,378
Asociación lineal por lineal	,380	1	,538		
N de casos válidos	42				

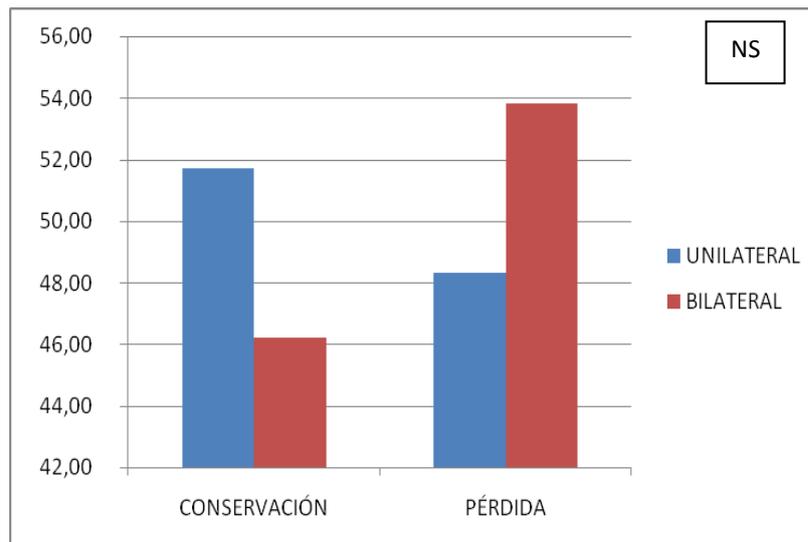
**Tabla 11.** Resultados test Chi- cuadrado .Gl: grados de libertad

### 3. Relación curación vs no curación según la patología sea unilateral o bilateral.

En la tabla se resume el porcentaje de casos unilaterales y bilaterales que conservaron el órgano y aquellos que acaban en pérdida del mismo.

		Enucleación vs conservación		Total	
		Conservación órgano	Pérdida anatómica		
OJO_AFECTO	Ojo derecho	Recuento	5	3	8
		% de OJO_AFECTO	62,5%	37,5%	100,0%
	Ojo izquierdo	Recuento	10	11	21
		% de OJO_AFECTO	47,6%	52,4%	100,0%
	Ambos ojos	Recuento	6	7	13
		% de OJO_AFECTO	46,2%	53,8%	100,0%
Total		Recuento	21	21	42
		% de OJO_AFECTO	50,0%	50,0%	100,0%

**Tabla 12.** Porcentaje de patología unilateral que afecta OD u OI, y de patología bilateral en el grupo control que alcanzan y no alcanzan la curación



**NS:** no significativo

**Gráfico 4.** Diagrama de barras que muestra porcentaje de enucleaciones y casos de curación, en función de la lateralidad. Es los casos en que la patología es bilateral, parece existir un mayor riesgo de enucleación

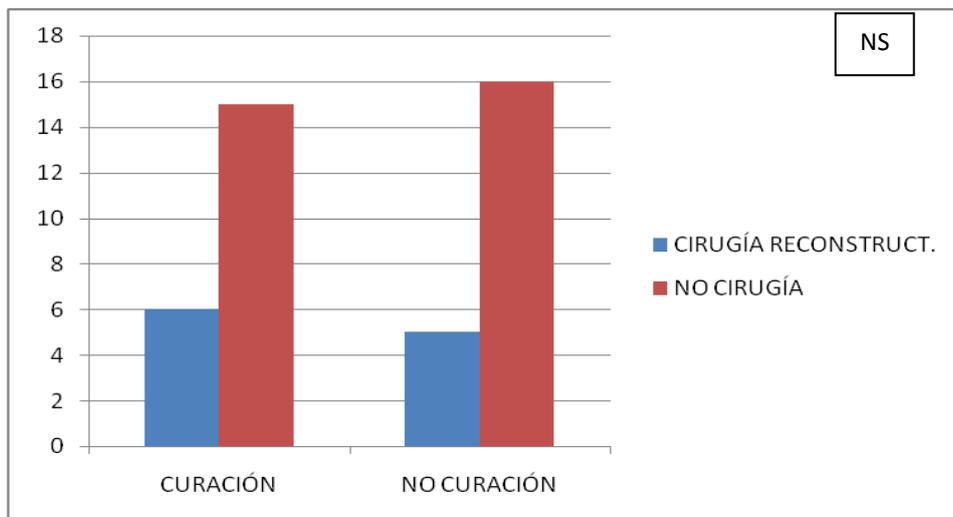
Realizamos un test estadístico Chi-cuadrado para comparación de variables cualitativas, obteniendo:  $\chi^2 = 0$ , g.l.=1,  $p= 1$ , Odds ratio (OR)= 1.25, Intervalo de Confianza: 0.3-5.6. Por lo tanto, no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la probabilidad de enucleación al comparar los casos de patología bilateral, con los de patología unilateral.

#### 4. Relación curación vs no curación según la necesidad de cirugía reconstructiva.

En la siguiente tabla se resume el número de pacientes que dentro del grupo de tratamiento convencional, alcanza o no la curación en función de la realización o no de cirugía.

	CURACIÓN	NO CURACIÓN
CIRUGÍA RECONSTRUCT.	6	5
NO CIRUGÍA	15	16

**Tabla 13.** Número de pacientes del grupo control que alcanzan o no la curación en función de la realización de cirugía reconstructiva.



**NS:** no significativo

**Gráfico 5.** Representación gráfica de la existencia o no de curación en función de la realización de cirugía reconstructiva.

Al observar el gráfico 5, el número de curaciones y fracasos del tratamiento parecen similares en el grupo de pacientes sometidos a cirugía reconstructiva frente a los que no la requirieron. Realizamos un test Chi-cuadrado, obteniendo que no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a curación en función de la realización o no de cirugía reconstructiva. Por lo tanto, el que un paciente alcance o no la curación no va a estar influenciado por la realización de dicho tratamiento quirúrgico ( $\chi^2 = 1,26$ , g.l.=1,  $p = 1$ , OR= 1.28, Intervalo de Confianza: 0.3-6.28).

## **ANÁLISIS BIVARIANTE CURACIÓN-NO CURACION EN GRUPO DE TRATAMIENTO CON SA.**

### **A) VARIABLES CUANTITATIVAS**

De los 81 casos recogidos en nuestro grupo de tratamiento con suero autólogo, curaron 67 pacientes (82.72%), y un total de 14 pacientes (17.28%) no curaron. En este grupo de pacientes que no curaron completamente, hay que diferenciar dos subgrupos:

- Por un lado, existen 10 casos en los que se curan las lesiones en la superficie ocular, es decir, se regenera el epitelio pero es necesario mantener el tratamiento con SA para mantener la integridad de la superficie ocular. En nuestra serie, algunos casos de queratitis sicca grave, requieren de tratamiento crónico con SA para continuar aportando los factores tróficos necesarios para mantener la integridad de la superficie ocular, que son deficitarios en la lágrima de estos pacientes.

- Por otro lado, no curaron 4 casos (4.94%) por los motivos que a continuación se detallan:

- Caso nº5, se complicó con ptisis bulbi y endoftalmitis, por lo que tuvo que ser enucleado el órgano.
- Caso nº 38, falleció por reagudización de una bronquitis crónica, con lo que no se pudo continuar el tratamiento, aunque la evolución durante el tiempo que estuvo en seguimiento fue favorable.
- Por último, el caso nº 47 presentó queratopatía en banda secundaria a úlcera neurotrófica que obstaculizó la reepitelización de la lesión.
- Caso nº 67, en seguimiento por úlcera neurotrófica, se produjo una sobreinfección con absceso corneal que obligó a retirar el tratamiento.

Si consideramos la curación global de las lesiones en superficie ocular, esta se alcanzó en un total de 77 casos (67+10). Curan el 95.1% de los ojos, aunque la patología de base obliga a mantener el tratamiento de forma crónica en 10 de los casos (12.35%).

A todas las variables de nuestra muestra se les realizó una Prueba de Levene para igualdad de varianzas. Después se aplicó la t de student para la igualdad de medias asumiendo varianzas iguales o desiguales según el resultado del referido test de Levene.

VARIABLES con varianzas iguales: Edad, número de ingresos, número de revisiones, superficie de la úlcera (mm<sup>2</sup>), profundidad de la úlcera respecto al espesor corneal total (%), logMAR agudeza visual pretratamiento y logMAR agudeza visual postratamiento.

VARIABLES con varianzas significativamente distintas: Número de días ingresado, duración del tratamiento.

En la siguiente tabla se recoge el valor medio de las distintas variables cuantitativas así como el resultado del test estadístico "T de student" y el valor de significación del mismo.

VARIABLES	CURACIÓN	NO CURACIÓN	VALOR P	IC	T stud.
EDAD	58.6 (±20.4)	59.6 (±16)	0.86	-10.5 a -12.5	0.17
Nº INGRESOS	0.22 (±0.6)	0.14 (±0.4)	0.6	-0.4 a 0.2	0.5
DIAS DE INGRESO	1.9 (±4.9)	0.6 (±2.1)	0.14	-2.9 a 0.4	1.5
Nº REVISIONES	8.7 (±9.7)	10.8 (±15)	0.5	-3.4 a 7.6	0.7
DURACIÓN TTO (DÍAS)	109.4 (±130)	246 (±341)	0.16	-61.9 a 335	1.48

AV PRETTO (logMAR)	2 (±1.8)	2(±2.04)	0.99	-1.1 a 1.1	-0.019
AV POSTTO (logMAR)	0.57 (±0.52)	0.4 (±0.3)	0.99	-1 a -0.4	0.282
SUPERFICIE (mm <sup>2</sup> )	12.3 (±15)	12.4 (±11)	0.99	-8.4 a 8.4	0.02
PROFUNDIDAD (%)	36.7 (±34.7)	29.6 (±33)	0.5	-27.1 a 13.2	0.68

**Tabla 14.** Pacientes del grupo SA que se curaron / no curaron en relación a variables cuantitativas. IC = intervalo de confianza.

Ninguna de las variables fue significativamente distinta en aquellos pacientes en los que se curó la úlcera frente a los que no curaron, por lo tanto, podemos decir que ambos grupos de pacientes, fueron semejantes en las variables estudiadas. Por otro lado, se observa una mejoría de agudeza visual final tras el tratamiento, tanto en los pacientes que finalmente curaron, como en los que requieren tratamiento crónico. Encontramos una mayor duración del tratamiento en los pacientes que no alcanzaron la curación, ya que en este grupo se incluyen los casos de queratitis sicca grave en los que se mantiene el SA de forma crónica. El análisis bivariante curación/no curación de las variables cuantitativas no nos aporta ninguna variable predictora de la existencia/ausencia de curación.

**B) VARIABLES CUALITATIVAS****1. Relación curación vs no curación según el tipo de úlcera (Queratitis sicca + úlcera neurotrófica + causticación e inmunológicas).**

		CURACIÓN			
			NO	SI	Total
tipoulc	ojo seco	Recuento	7	10	17
		% de tipoulc	41,2%	58,8%	100,0%
	úlceras neurotrófica	Recuento	6	43	49
		% de tipoulc	12,2%	87,8%	100,0%
	causticación y otros	Recuento	1	14	15
		% de tipoulc	6,7%	93,3%	100,0%
Total		Recuento	14	67	81
		% de tipoulc	17,3%	82,7%	100,0%

**Tabla 15.** Pacientes del grupo SA que se curaron / no curaron en relación al tipo de patología

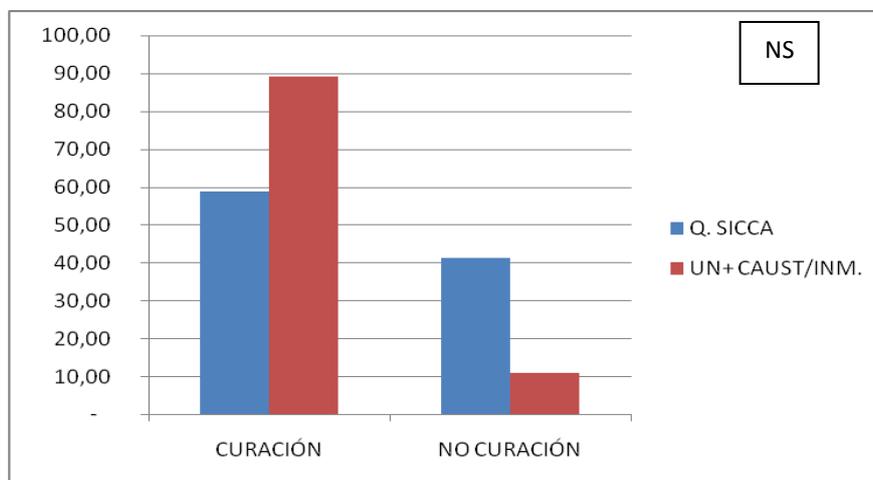
Con los resultados observados en la tabla anterior (tabla 15), podemos afirmar que existe un mayor porcentaje de casos que no curan en el grupo de afectos por queratitis sicca, propiciado por los motivos ya comentados. Realizamos un test estadístico de Chi-cuadrado para ver si la diferencia observada es estadísticamente significativa.

	Valor	Gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,841(a)	2	,012
Razón de verosimilitudes	7,762	2	,021
Asociación lineal por lineal	6,913	1	,009
N de casos válidos	81		

**Tabla 16.** Estadístico Chi-cuadrado, comparación tipo de úlcera con el resultado final curación-no curación

Podemos concluir que se produce una mayor o menor curación de las lesiones en función de la patología de base y esta relación es estadísticamente significativa ( $\chi^2$ : 8.84, gl: 2,  $p < 0.012$ ).

Si se compara la probabilidad de curación de la queratitis sicca frente a úlceras neurotróficas e inmunológicas (agrupando estas dos en un único grupo y realizando un test estadístico Chi-cuadrado, tabla 2 x 2), entendiendo la curación como resolución completa de las lesiones en superficie ocular, obtenemos que la probabilidad de curación final de úlceras neurotróficas e inmunológicas es superior a la de la queratitis sicca grave y esta relación es estadísticamente significativa ( $\chi^2$ : 6.61, gl: 1,  $p < 0.016$ , Odds ratio: 5.7; IC 1.4 a 23.82).



**NS:** no significativo

**Gráfico 6.** En las columnas de la izquierda, los pacientes tratados por úlceras neurotróficas, causticaciones/inmunológicas presentan un mayor número de curaciones.

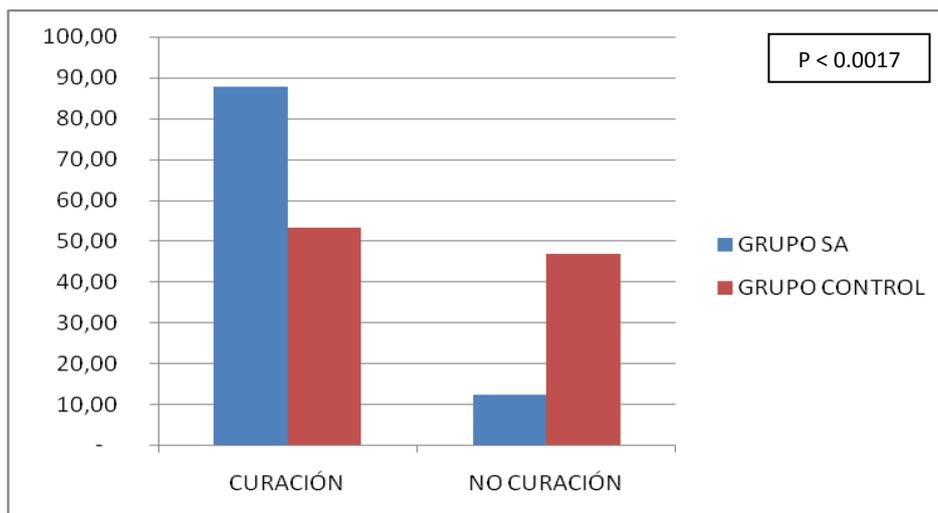
Con los resultados observados, podríamos plantear las siguientes preguntas:

1. ¿El SA ha aportado algo en la curación de las úlceras neurotróficas?

Para ello, comparamos los resultados obtenidos en el grupo tratado con SA, frente al grupo control.

	CURACIÓN	NO CURACIÓN
GRUPO SA	43(87,8%)	6(12,2%)
GRUPO CONTROL	16(53,3%)	14(46,7%)

**Tabla 17.** Resumen del número de pacientes que alcanzan o no alcanzan la curación según el grupo de tratamiento al que pertenecen.



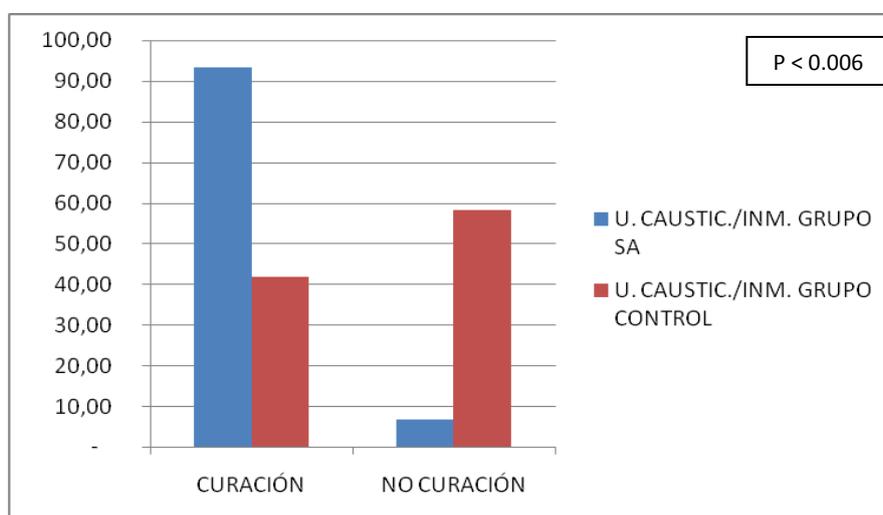
**Gráfico 7.** Porcentaje de curaciones en ambos grupos de tratamiento. En el grupo de tratamiento con SA, el número de casos que curan es superior al número de casos que no curan. En el grupo control, podemos observar, que aproximadamente son iguales el número de pacientes que alcanza la curación, y aquellos que no lo hacen.

Para comprobar si estas diferencias son estadísticamente significativas, se realiza un test Chi-cuadrado, obteniendo que las úlceras corneales neurotróficas tratadas con suero autólogo tienen una probabilidad significativamente mayor de curar que sin SA ( $\chi^2$ : 9.91, gl: 1,  $p < 0.0017$ , Odds ratio: 6.27 (IC 1.83 a 22.44)).

2. ¿El SA ha aportado algo en la curación de las úlceras por causticación e inmunológicas graves?

	CURAN	NO CURAN
ÚLCERAS CAUSTICACIÓN/ INMUNES SA	14(93.3%)	1(6.7%)
ÚLCERAS CAUSTICACIÓN/ INMUNES GRUPO CONTROL	5(41.7%)	7(58.3%)

**Tabla 18.** Resumen del número de pacientes con úlceras debidas a trastornos inmunes o secundarias a causticación que alcanzan o no alcanzan la curación según el grupo de tratamiento al que pertenecen.



**Gráfico 8.** Como se aprecia en el gráfico el porcentaje de casos de úlceras por causticación o neurotróficas que no curan es mínimo en el grupo de pacientes tratados con SA comparado con el grupo control.

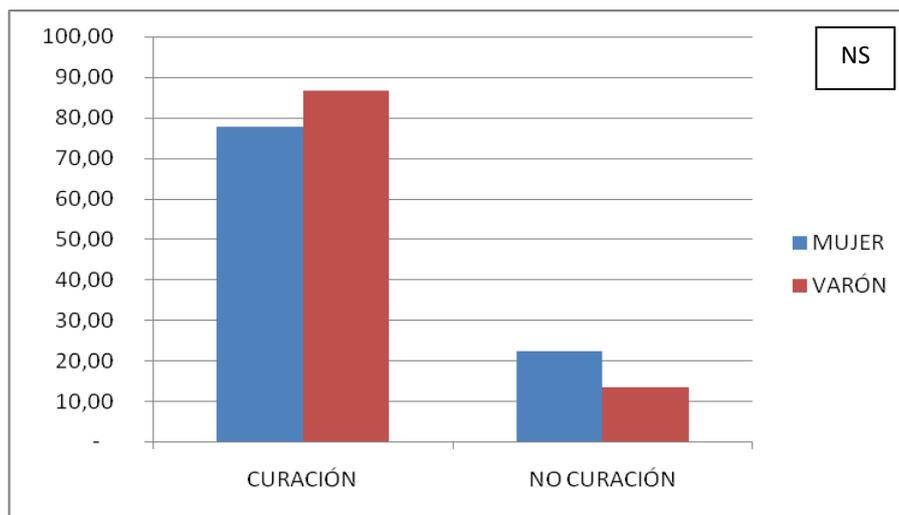
Para comparar la existencia de curación o no en el grupo de tratamiento con SA frente al grupo control en el caso de úlceras producidas por causticación/inmunológicas, es necesario emplear el test exacto de Fisher. Las úlceras corneales por causticación e inmunológicas tratadas con SA tienen una probabilidad significativamente mayor de curación que con el mismo tratamiento sin SA ( $\chi^2$ : 6.24, g.l.:1.  $P < 0.006$ , Odds ratio: 19.6 (IC 1.57 a 202.5.) (Test exacto de Fisher's:  $p = 0.006$ ).

## 2. Relación curación vs no curación según el sexo.

En la siguiente tabla se recogen el porcentaje de curaciones y no curaciones en función al sexo.

	CURACIÓN	NO CURACIÓN
MUJERES	28(77.8%)	8 (22.2%)
HOMBRES	39(86.7%)	6(13.3%)

**Tabla 19.** Resumen del número de pacientes que alcanzan o no alcanzan la curación según el género.



**NS:** no significativo

**Gráfico 9.** En este gráfico se representa la curación en función del sexo

Se realizó un test de Chi-cuadrado para comprobar si existe variación en cuanto a la existencia de curación en función del sexo:

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1,105(b)	1	,293		
Corrección por continuidad(a)	,571	1	,450		
Razón de verosimilitudes	1,099	1	,295		
Estadístico exacto de Fisher				,379	,224
Asociación lineal por lineal	1,092	1	,296		
N de casos válidos	81				

**Tabla 20.** Estadístico Chi-cuadrado, comparación sexo con el resultado final curación-no curación. gl: grados de libertad.

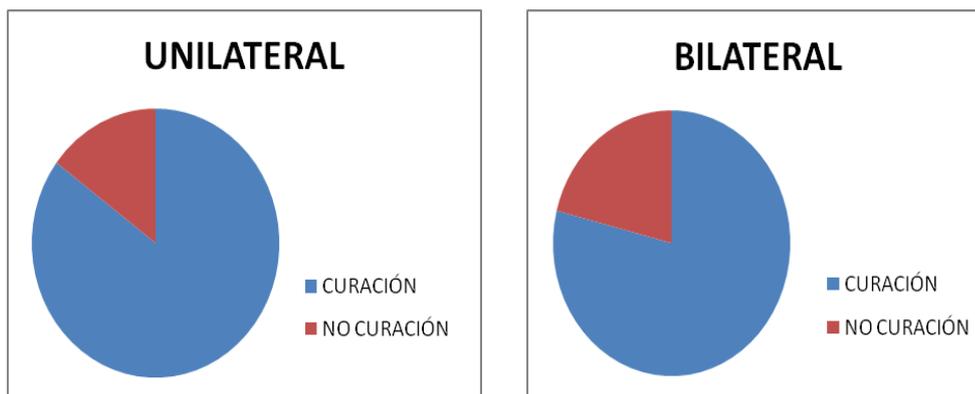
No existen diferencias estadísticamente significativas en la existencia o no de curación en función del sexo ( $\chi^2= 0.57$ , g.l.=1, Odds ratio: 1.86, IC 0.51 a 6.92). En nuestra muestra, las mujeres curaban algo menos porque había un mayor número de mujeres que presentaban queratitis sicca en este grupo.

### 3. Relación curación vs no curación según la lesión sea unilateral o bilateral.

En la siguiente tabla (tabla 21) se resumen el número de casos que curan y no curan en función de que la patología sea unilateral o bilateral, así como el porcentaje de la muestra que representan.

		Curacionrec		Total	
		no curación	curación	no curación	
OJO_AFECTO	OD	Recuento	3	25	28
		% de OJO_AFECTO	10,7%	89,3%	100,0%
	OI	Recuento	6	27	33
		% de OJO_AFECTO	18,2%	81,8%	100,0%
	AO	Recuento	4	15	19
		% de OJO_AFECTO	21,1%	78,9%	100,0%
Total		Recuento	13	67	80
		% de OJO_AFECTO	16,3%	83,8%	100,0%

**Tabla 21.** Se recogen en esta tabla, el número y porcentaje de pacientes que curan o no curan en función de que la patología sea unilateral o bilateral.



**Gráfico 10.** En este gráfico se aprecia que los pacientes con patología unilateral tienden más a la curación.

Realizamos un test Chi-cuadrado, en una tabla 2x2 comprobando que no existe una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a curación, entre los casos de patología unilateral y bilateral ( $\chi^2= 0.02$ , g.l.=1,p: 0.88, Odds ratio: 1.39, IC 0.31 a 5.884).

#### 4. Relación curación vs no curación en relación a la necesidad de cirugía reconstructiva.

Dentro de nuestro grupo de tratamiento, existen 18 pacientes (22.2%) a los que es necesario someter a cirugía. Distinguimos en nuestro trabajo dos tipos de cirugía, por un lado, cirugía reconstructiva y por otro lado, enucleación/evisceración, que suponen la pérdida del órgano. Estos datos son representados en la siguiente tabla (tabla 21):

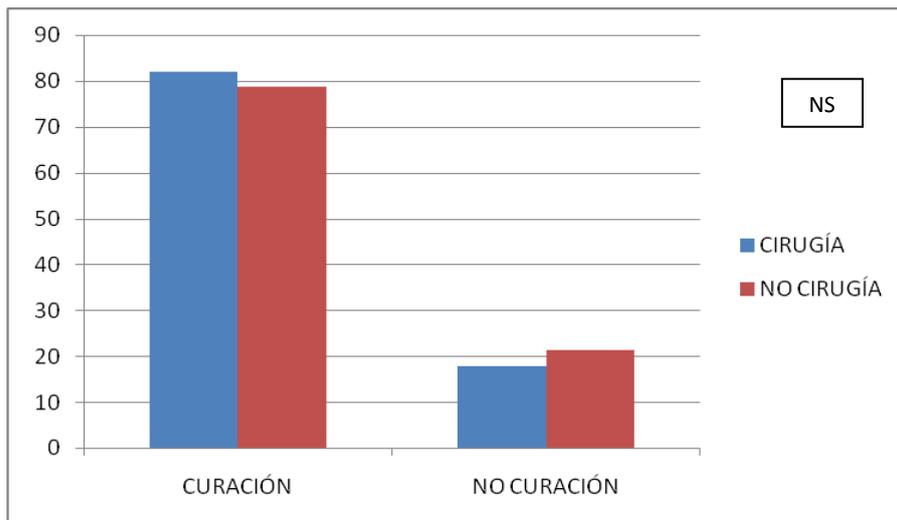
		Curación		Total	
		no curación	curación		
tipo cirugía	NO CIRUGIA	Recuento	12	51	63
		% de tipo cirugía	17,9%	82,1%	100,0%
	cirugía reconstructiva	Recuento	2	15	17
		% de tipo cirugía	15,4%	84,6%	100,0%
	Enucleación/evisceración	Recuento	1	0	1
		% de tipo cirugía	100,0%	,0%	100,0%
Total		Recuento	15	66	81
		% de tipo cirugía	17,3%	82,7%	100,0%

**Tabla 22.** Se recogen en esta tabla, el número y porcentaje de pacientes que curan o no curan en función de la necesidad o no de cirugía y el tipo de cirugía que se realiza.

¿La realización de la cirugía reconstructiva disminuye el porcentaje de ojos que necesitan tratamiento crónico con SA? Globalmente, si analizamos la curación o no curación, incluyendo dentro de este grupo a los pacientes que precisaron de tratamiento crónico, frente a la necesidad o no necesidad de cirugía obtenemos que:

	CURACIÓN	NO CURACION
NO CIRUGÍA	51(81%)	12(19%)
CIRUGIA	16(88.9%)	2(11.1%)

**Tabla 23.** Se recoge el número de pacientes que curan o no curan en función de la necesidad o no de cirugía.



**Grafico 11.** Representación del porcentaje de pacientes que curan/no curan en función de la realización o no de cirugía reconstructiva. Observamos que el porcentaje de pacientes sometidos a cirugía es similar en ambos grupos.

Realizando el test exacto de Fisher ( $\chi^2$  Fisher,  $p = 0.66$ , Odds ratio=1.88), obtenemos que los ojos a los que se realizó la cirugía no tuvieron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a curación con respecto a los ojos que no se sometieron a cirugía.

## **ANÁLISIS BIVARIANTE CIRUGÍA –NO CIRUGÍA EN EL GRUPO SUERO AUTÓLOGO**

En el grupo de SA en el que se recogen 81 ojos tratados por úlceras debidas a síndrome de ojo seco grave, neurotróficas, causticaciones y procesos inmunológicos, fue necesario someter a cirugía a 18 de los casos citados (22.2% de la muestra).

A todas las variables se les realizó una Prueba de Levene para la igualdad de varianzas. Después se aplicó la t de student para la igualdad de medias asumiendo varianzas iguales o desiguales según el resultado del test de Levene referido.

Variables con varianzas iguales: Edad, duración del tratamiento, logMAR AV pretto, logMAR AV postto, superficie y profundidad de la úlcera

Variables con varianzas significativamente distintas: N<sup>o</sup> de Ingresos, días de Ingreso y número de revisiones.

### A) VARIABLES CUANTITATIVAS

<b>VARIABLES</b>	<b>NO CIRUGIA</b>	<b>CIRUGIA</b>	<b>Valor p</b>	<b>IC</b>	<b>T STUDENT</b>
Edad	58.9 (±18.5)	58.7 (±23.6)	0.19	-10.3 a 10.7	0.036
N <sup>o</sup> Ingresos	0.06 (±0.3)	0.72 (±0.8)	0.003	-1 a -0.3	3.63
Días de ingreso	0.56 (±2.6)	5.61 (±7.2)	0.01	-8.7 a -1.4	2.94
N <sup>o</sup> revisiones	7.87 (±7)	13.33 (±14.6)	0.14	-12.9 a 1.98	1.54
Duración tto	143.22 (±208.9)	97.39 (±79.4)	0.37	-18.5 a 110.2	1.42
AV pretto (logMAR)	2.03 (±1.87)	1.91 (±1.79)	0.83	-0.88 a 1.1	0.22

AV pretto (logMAR)	1.78 ( $\pm 2.02$ )	1.61 ( $\pm 1.63$ )	0.72	-0.85 a 1.21	0.3
SUPERFICIE (mm <sup>2</sup> )	11.9( $\pm 12.95$ )	13.8( $\pm 18.6$ )	0.62	-9.57 a 5.7	0.22
PROFUNDID AD (%)	30.56 ( $\pm 32.2$ )	52.2 ( $\pm 37.2$ )	0.017	-39.4 a -3.95	-2.43

**Tabla 24.** Tabla resumen de pacientes con SA que fueron o no sometidos a cirugía.

AV pretto = agudeza visual pretratamiento. AV postto = agudeza visual postratamiento.

IC = intervalo de confianza

No se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes que requirió cirugía, y aquellos que no la necesitaron, para las variables edad, duración del tratamiento, agudeza visual pretratamiento, agudeza visual postratamiento, el número de revisiones que se realizan, ni para la superficie de la úlcera.

Los pacientes tratados con cirugía presentaron un mayor número de ingresos y un mayor número de días de ingreso, así como una mayor profundidad de la úlcera, existiendo para estas variables diferencias estadísticamente significativas entre el grupo tratado con cirugía y el que no requirió cirugía.

**Los ojos tratados con SA, a los que además se les somete a cirugía reconstructiva (Membrana amniótica, Tissucol®, queratoplastia) no presentan una agudeza visual postratamiento significativamente distinta respecto de aquellos a los que no se realiza dicha cirugía. Estos datos sugieren que la cirugía reparadora, en el tratamiento de las úlceras corneales severas, tratadas con SA, ayudan a reconstruir la superficie ocular (reparación anatómica) sin suponer una pérdida o una mejoría sobreañadida a la capacidad funcional final, con respecto a los pacientes que sólo fueron tratados con SA.**

Por lo tanto, se puede deducir de este análisis que el hecho de que un paciente sea sometido a cirugía no va a influir ni en el tiempo que precisa el paciente de tratamiento con SA, ni en el resultado funcional obtenido.

## B) VARIABLES CUALITATIVAS

1. Realización de cirugía o no, según el tipo de úlcera (queratitis sicca + úlcera neurotrófica + causticación y otras).

					Total
			No cirugía	Cirugía	
tipoulc	Ojo seco	Recuento	15	2	17
		% de tipoulc	88,2%	11,8%	100,0%
	úlceras neurotrófica	Recuento	39	10	49
		% de tipoulc	79,6%	20,4%	100,0%
	causticación y otros	Recuento	9	6	15
		% de tipoulc	60,0%	40,0%	100,0%
Total		Recuento	63	18	81
		% de tipoulc	77,8%	22,2%	100,0%

**Tabla 25.** Tabla resumen de pacientes grupo de tratamiento que fueron o no sometidos a cirugía en función del tipo de úlcera que presentaban

Se realizó un test  $\chi^2$  para valorar si existían diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la necesidad de cirugía, en función del tipo de úlcera, ya que con los datos recogidos en la tabla 25, las úlceras debidas a causticación necesitaron un mayor número de intervenciones quirúrgicas.

	Valor	Gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,912(a)	2	,141
Razón de verosimilitudes	3,718	2	,156
Asociación lineal por lineal	3,533	1	,060
N de casos válidos	81		

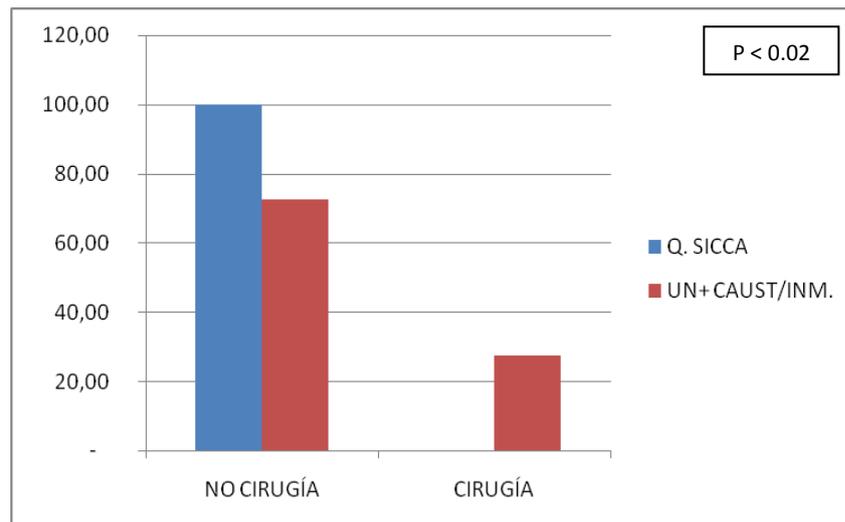
**Tabla 26.** Resultado test Chi-cuadrado, comparando patología de base con la necesidad o no de cirugía.

Según los resultados obtenidos, no existen diferencias estadísticamente significativas entre la necesidad o no de cirugía en función del tipo de úlcera ( $\chi^2 = 3.9$ , g.l.=2,  $p=0.14$ ).

Teniendo en cuenta, que los dos pacientes con queratitis sicca de base, que fueron intervenidos por perforación ocular, tenían asociado una lesión neurológica (síndrome de Stuve-Wiedemann y cirugía retiniana con vitrectomía + aceite de silicona), planteamos un nuevo análisis bivariante. Así, se comparó la necesidad o no de cirugía en las lesiones puramente debidas a queratitis sicca frente a lesiones neurotróficas o debidas a úlceras por causticación /inmunológicas. Para esta situación, encontramos que:

	No Cirugía	Cirugía
Queratitis sicca	15(100%)	0
Úlcera neurotrófica + Causticación +Inmunológica	48(72.7%)	18(27.3%)

**Tabla 27** .Pacientes que requieren o no cirugía en función del tipo de úlcera(queratitis sicca frente UN+ úlceras inmunes+ causticaciones).



**Gráfico 12** .- Representación gráfica de lesiones en síndrome de ojo seco que requirieron o no cirugía, frente a las lesiones neurotróficas y causticaciones o lesiones inmunológicas.

En este caso, como el número de ojos que requirieron cirugía en grupo de pacientes con queratitis sicca es menor de 5 , es necesario realizar el test exacto de Fisher, para valorar si hay o no diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, obteniendo que:

Aquellos ojos con **queratitis sicca sin otra patología asociada presentan un significativamente menor riesgo de cirugía que los otros tipos de úlceras corneales graves o severas** ( $\chi^2$  Fisher,  $p < 0.02$ ).

## 2. Realización de cirugía o no, según el sexo

En la siguiente tabla observamos que aproximadamente la muestra estaba compuesta por 50% de varones y 50% de mujeres.

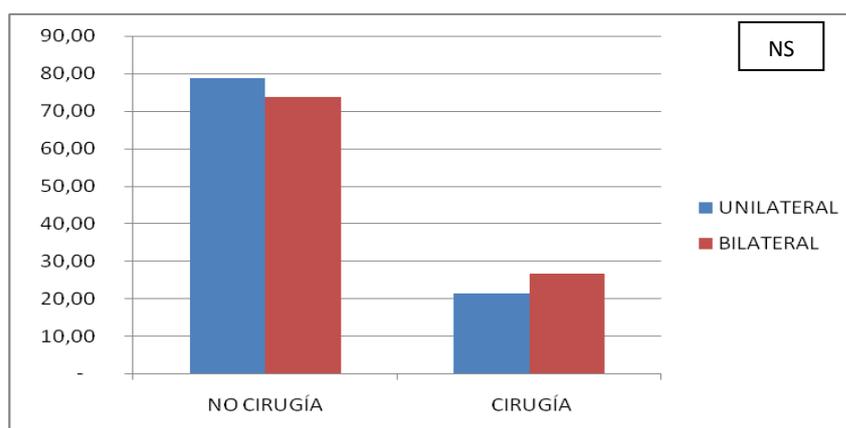
					Total
			No cirugía	Cirugía	
SEXO	M	Recuento	28	8	36
		% de SEXO	77,8%	22,2%	100,0%
	V	Recuento	35	10	45
		% de SEXO	77,8%	22,2%	100,0%
Total		Recuento	63	18	81
		% de SEXO	77,8%	22,2%	100,0%

**Tabla 28.** Tabla resumen de pacientes grupo de tratamiento que fueron o no sometidos a cirugía en función del sexo.

Aplicamos el test estadístico Chi-cuadrado y observamos que la probabilidad de la realización de cirugía en nuestra muestra fue similar en ambos sexos. ( $\chi^2 = 0.07$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.79$ , odds ratio: 1, IC: 0.31 a 3.2).

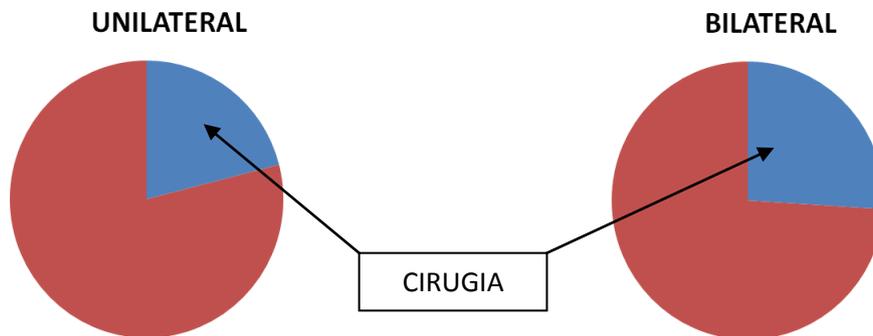
### 3. Realización de cirugía o no , según patología sea unilateral o bilateral.

De nuestra muestra la patología objeto de tratamiento fue unilateral en 62 casos, el 76.54%, y bilateral, en 19 casos, lo que supone el 24.46%.



**NS:** no significativo

**Gráfico 13:** Representación de la necesidad o no de cirugía en función de que la patología sea unilateral o bilateral.



**Gráfico 14:** Este gráfico de sectores muestra la necesidad de cirugía (en azul), en función de que la patología sea unilateral o bilateral.

Observando el gráfico, puede parecer que los pacientes con patología bilateral, requirieron un mayor número de intervenciones quirúrgicas. Sin embargo, cuando realizamos el test estadístico Chi-cuadrado, para valorar si realmente existen diferencias estadísticamente significativas, pudimos comprobar que esta diferencia no fue estadísticamente significativa. ( $\chi^2 = 0.03$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.86$ , odds ratio: 1.34, IC: 0.35 a 5.05).

## **ANÁLISIS BIVARIANTE DEL GRUPO CON SUERO AUTÓLOGO (PRETRATAMIENTO Y POSTRATAMIENTO).**

Se realizó análisis bivalente en nuestro grupo de tratamiento con SA, para comparar el valor de diversas variables antes y después del tratamiento. Entre dichas variables se encuentran: queratitis punctata, conjuntivalización, defecto epitelial, queratinización, neovascularización, opacificación corneal y agudeza visual. Con este análisis bivalente comparamos el grado de cada una de estas lesiones previa al tratamiento, con la que nos encontramos en cada uno de los casos y el resultado después de aplicar el mismo. Para ello empleamos, el test estadístico de McNemar.

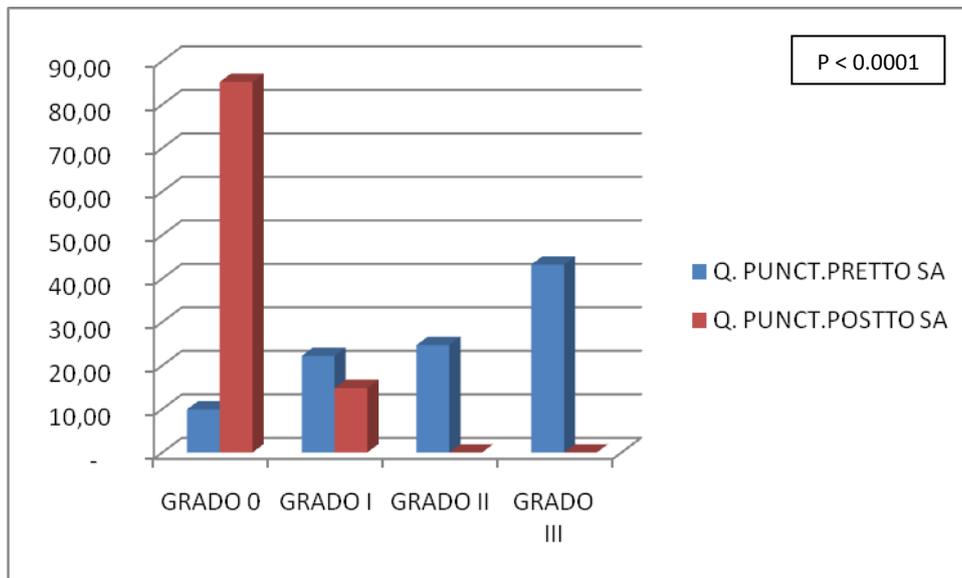
### **1. Queratitis punctata**

La distribución de casos entre los distintos grados de esta lesión, antes y después del tratamiento se recoge en la siguiente tabla.

		QPS postratamiento		Total	
			Grado 0	Grado I,II y III	Grado 0
QPS pretto.	grado 0	Recuento	8	0	8
		% de Puntateprer	100,0%	,0%	100,0%
	Grado I,II y III	Recuento	61	12	73
		% de Puntateprer	83,6%	16,4%	100,0%
Total		Recuento	69	12	81
		% de Puntateprer	84,1%	15,9%	100,0%

**Tabla 29.** Se representa el número y el porcentaje de pacientes en tratamiento con SA en función del grado de queratitis punctata antes y después del tratamiento.

Aplicando un test de McNemar, obtenemos que los pacientes tratados con SA mejoran significativamente de su queratitis punctata ( $\chi^2= 59.01$ , g.l.=1,  $p < 0.0001$ ).



**Gráfico 15:** Se representa en este gráfico el porcentaje de pacientes (eje Y) afectados por los distintos grados de queratitis punctata, antes y después de haber realizado el tratamiento con SA. Se observa que después de tratar con SA ningún paciente presentó un estadio de queratitis punctata superior al grado I (<1/3 a 2/3 de la superficie corneal y de densidad moderada).

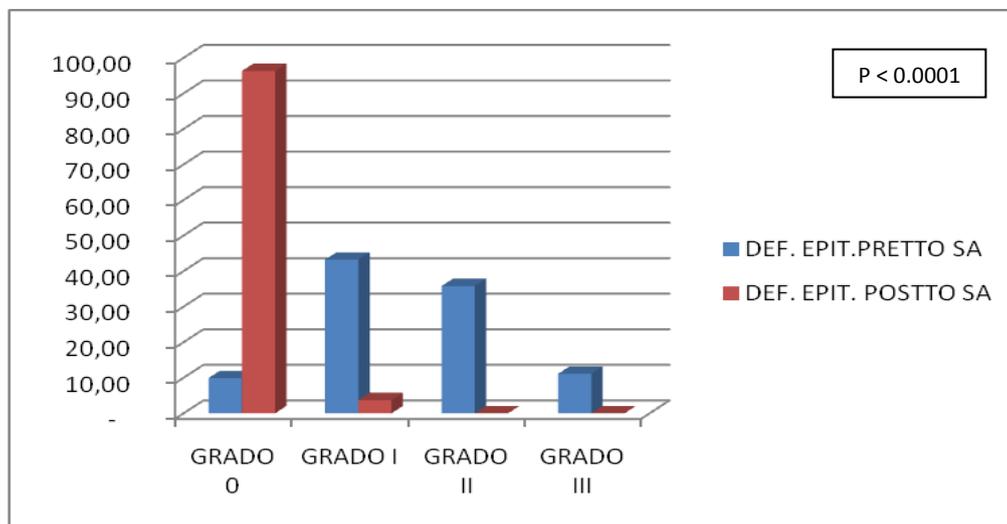
## 2. Defecto epitelial:

Como se aprecia en la siguiente tabla (tabla 30), previamente al tratamiento con SA, hay 73 pacientes afectados por defecto epitelial de grado I, II o III. Tras realizar el tratamiento, persiste el defecto epitelial en 3 de los pacientes, siendo este de grado I. Por lo tanto, se evidencia una importante mejoría tras el tratamiento con SA.

			Defecto epitelial Postto		Total
			Grado 0	Grado I,II y III	
Defecto Epitelial Pretratamiento.	Grado 0	Recuento	8	0	8
		% de Defectopre	100,0%	,0%	100,0%
	Grado I,II y III	Recuento	70	3	73
		% de Defectopre	94,6%	5,4%	100,0%
Total		Recuento	78	3	81
		% de Defectopre	95,1%	4,9%	100,0%

**Tabla 30.** Se representa el número y el porcentaje de pacientes en tratamiento con SA en función del grado de defecto epitelial antes y después del tratamiento.

Realizamos un test estadístico de Mcnemar y observamos que las diferencias en los defectos epiteliales observadas antes y después del tratamiento son estadísticamente significativas ( $\chi^2= 68.01$ , g.l.=1,  $p < 0.0001$ ).



**Gráfico 16.** Se representa en este gráfico el porcentaje de pacientes (eje Y) afectados por los distintos grados de defecto epitelial previamente y posteriormente al tratamiento con SA. Tras el tratamiento con SA, no existe ningún paciente con defecto epitelial superior a grado I.

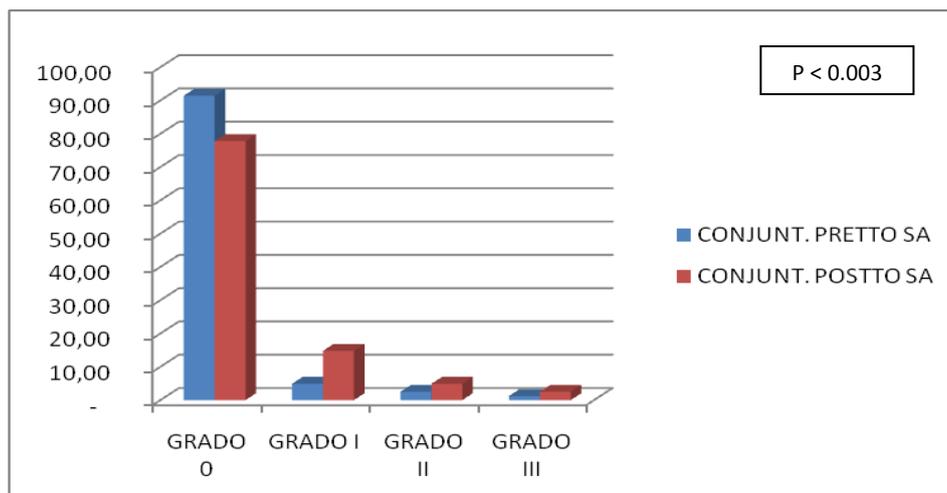
### 3. Conjuntivalización:

Como se observa en la siguiente tabla (tabla 31), previo al tratamiento con SA existe un 8.6% de casos que presentan conjuntivalización. Tras realizar el tratamiento con SA, este porcentaje aumenta al 22.2% de los casos.

		Conjuntivalización postratamiento		Total	
		Grado 0	Grado I,II y III	Grado 0	
Conjuntivaliza c pretratamiento	Grado 0	Recuento	62	12	74
		% de conjuntivprer	85,1%	14,9%	100,0%
	Grado I,II y III	Recuento	1	6	7
		% de conjuntivprer	14,3%	85,7%	100,0%
Total		Recuento	63	18	81
		% de conjuntivprer	76,8%	23,2%	100,0%

**Tabla 31.** Se representa el número y el porcentaje de pacientes en tratamiento con SA en función del grado de conjuntivalización antes y después del tratamiento.

Realizamos un test de Mcnemar para valorar las diferencias observadas entre ambos grupos, obteniendo que en los pacientes sometidos a tratamiento con SA, existen diferencias significativas antes y después del tratamiento ( $\chi^2= 9.09$ , g.l.=1,  $p < 0.00257$ ). Tras tratamiento con SA se encuentra un aumento significativo de la conjuntivalización como efecto no deseado.



**Gráfico 17.** Se representa en este gráfico el porcentaje de pacientes (eje Y) afectados por los distintos grados de conjuntivalización, antes y después de haber realizado el tratamiento con SA. Tras realizar tratamiento con SA, aumenta ligeramente el grupo de pacientes afectados por conjuntivalización grado I, I y III.

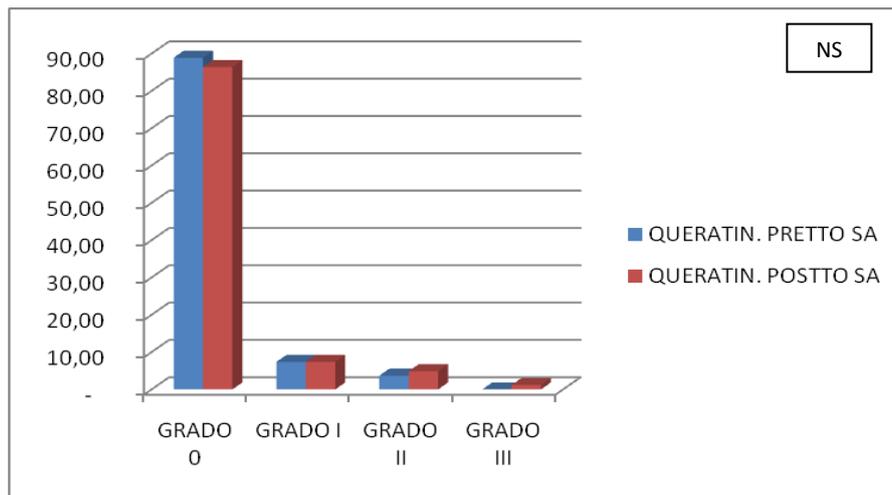
#### 4. Queratinización:

Esta lesión existe pretratamiento con SA en 9 pacientes (11.1%), y tras realizar el tratamiento con SA, encontramos queratinización en 11 de los pacientes, por lo tanto se observa un leve aumento incidencia de dicha lesión.

		Queratinización postratamiento		Total	
		Grado 0	Grado I,II y III	Grado 0	
Queratiniz. pretratamiento	Grado 0	Recuento	69	3	72
		% de quereprere	95,8%	4,2%	100,0%
	Grado I,II y III	Recuento	1	8	9
		% de quereprere	11,1%	88,9%	100,0%
Total		Recuento	70	11	81
		% de quereprere	85,4%	14,6%	100,0%

**Tabla 32.** Se representa el número y el porcentaje de pacientes en tratamiento con SA en función del grado de queratinización antes y después del tratamiento.

Realizamos test estadístico de Mcnemar para ver si las diferencias observadas entre la queratinización pretratamiento y postratamiento son significativas. Obtenemos que la queratinización no es significativamente distinta después del tratamiento con SA ( $\chi^2=0.5$ , g.l.=1,  $p < 0.48$ ). Por lo tanto, la lesión se ha estabilizado o no ha progresado con la terapia con SA.



**NS:** no significativo

**Gráfico 18:** Se representa en este gráfico el porcentaje de pacientes (eje Y) afectados por los distintos grados de queratitis punctata, antes y después de haber realizado el tratamiento con SA. Tras el tratamiento con SA, aumenta ligeramente el grado de queratinización.

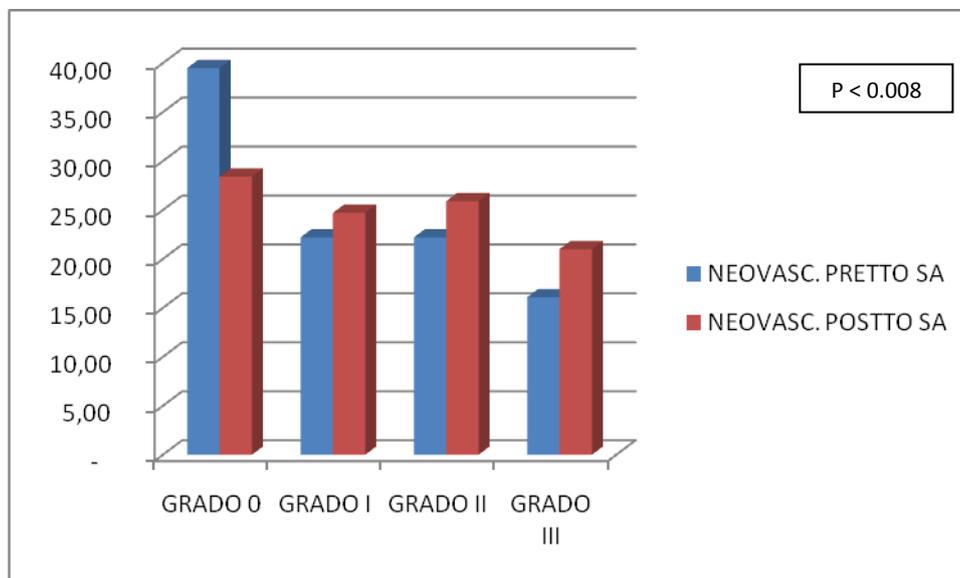
### 5. Neovascularización:

En lo que a neovascularización se refiere, como se puede apreciar en la tabla 33, previamente al tratamiento encontramos esta lesión en un 39.5 % de los casos. Tras realizar tratamiento, al valorar a nuestros pacientes, dicha lesión aparece en un 71.6% de los pacientes.

		Neovascularización postratamiento		Total	
		Grado 0	Grado I,II y III	Grado 0	
Neovasculariza c. Pretratamiento	Grado 0	Recuento	14	18	32
		% de Neovascpreere	43,8%	56,3%	100,0%
	Grado I,II y III	Recuento	9	40	49
		% de Neovascpreere	18,4%	81,6%	100,0%
Total		Recuento	23	58	81
		% de Neovascpreere	28,4%	71,6%	100,0%

**Tabla 33.** Se representa el número y el porcentaje de pacientes en tratamiento con SA en función del grado de neovascularización antes y después del tratamiento.

Realizamos test de Mcnemar para comprobar si las diferencias eran estadísticamente significativas entre la neovascularización corneal pretratamiento y postratamiento. Hallamos que el tratamiento con SA aumenta significativamente la neovascularización en los pacientes tratados por lesiones tróficas corneales. ( $\chi^2= 7.11$ , g.l.=1,  $p < 0.0077$ ).



**Gráfico 19.** Se representa en este gráfico el porcentaje de pacientes (eje Y) afectados por los distintos grados de neovascularización, antes y después del tratamiento con SA. Se evidencia en este grupo un ligero aumento de neovascularización postratamiento con SA.

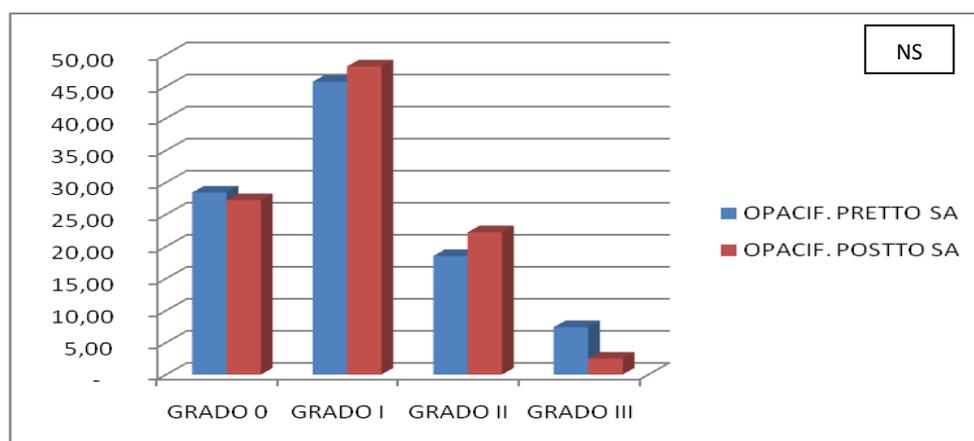
## 6. Opacificación:

Por último, en esta tabla se resume la distribución de opacificación en nuestra muestra. Antes de iniciar el tratamiento, afecta al 71.6% del total de nuestra muestra. Tras realizar el tratamiento, existe opacificación en 59 de los casos, lo que supone el 72.8%, es decir, apenas observamos modificación.

		Opacificación postratamiento		Total	
		Grado 0	Grado I,II y III	Grado 0	
Opacificación pretratamiento	Grado 0	Recuento	11	12	23
		% de opacifprere	47,8%	52,2%	100,0%
	Grado I,II y III	Recuento	11	47	58
		% de opacifprere	20,0%	81,0%	100,0%
Total		Recuento	22	59	81
		% de opacifprere	26,8%	73,2%	100,0%

**Tabla 34.** Se representa el número y el porcentaje de pacientes en tratamiento con SA en función del grado de opacificación antes y después del tratamiento.

Realizamos test de Mcnemar, no existen diferencias estadísticamente significativas en la opacificación corneal antes y después del tratamiento con SA. ( $\chi^2= 0$ , g.l.=1, p=1).



**NS:** no significativo

**Gráfico 20.** Se representa en este gráfico el porcentaje de pacientes (eje Y) afectados por los distintos grados de opacificación, antes y después de haber realizado el tratamiento con SA. Observamos que no hay prácticamente variación en cuanto al grado de opacificación antes y después del tratamiento.

**El SA tiene como efectos estadísticamente significativos en cuadros de queratitis sicca severa y úlceras neurotróficas e inmunológicas graves: una mejora de la queratitis punctata y una mejora del defecto epitelial (como efectos beneficiosos), y un aumento de la conjuntivalización y la neovascularización corneal que facilitan el cierre de las úlceras por la llegada de vasos (como eventos no deseables). El SA no influye significativamente en el grado de queratinización, ni en el grado de opacificación corneal.**

### **7. Agudeza visual:**

Por último, en este apartado, analizaremos los resultados funcionales antes y después del tratamiento con SA. Para ello, estableceremos como límite de agudeza visual deseable tras la realización del tratamiento 0,3 en la escala de Snellen. Hemos elegido este valor de agudeza visual, porque es el límite a partir del cual se considera que una persona es autónoma según la Organización Mundial de la Salud (OMS).

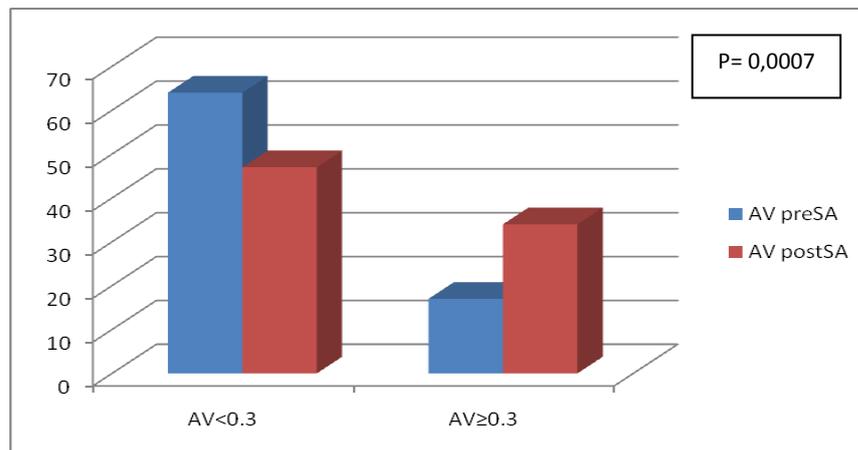
En nuestro grupo de pacientes, previamente al tratamiento con SA, como se recoge en la tabla 35, existían 64 pacientes con una AV inferior a 0.3 (74% de la muestra). Tras realizar el tratamiento, el número de pacientes con AV inferior a 0.3 es de 47 (58% de la muestra). Por lo tanto, podemos decir, que el tratamiento con SA, va a producir además de una regeneración tisular (ya comentada en los apartados previos) una mejora funcional, cuantificada por medio de la agudeza visual.

	AV<0.3	AV≥0.3
AV presa	64	17
AV postSA	47	34

**Tabla 35.** Representación de pacientes del grupo de tratamiento con AV <0.3, o AV ≥ 0.3, antes y después del tratamiento con SA.

AV pre SA= agudeza visual pretratamiento con SA

AV postSA= agudeza visual postratamiento con SA



**Gráfico 21.** En este gráfico observamos que tras realizar el tratamiento con SA, el número de pacientes con AV superior a 0.3 (Snellen) incrementó.

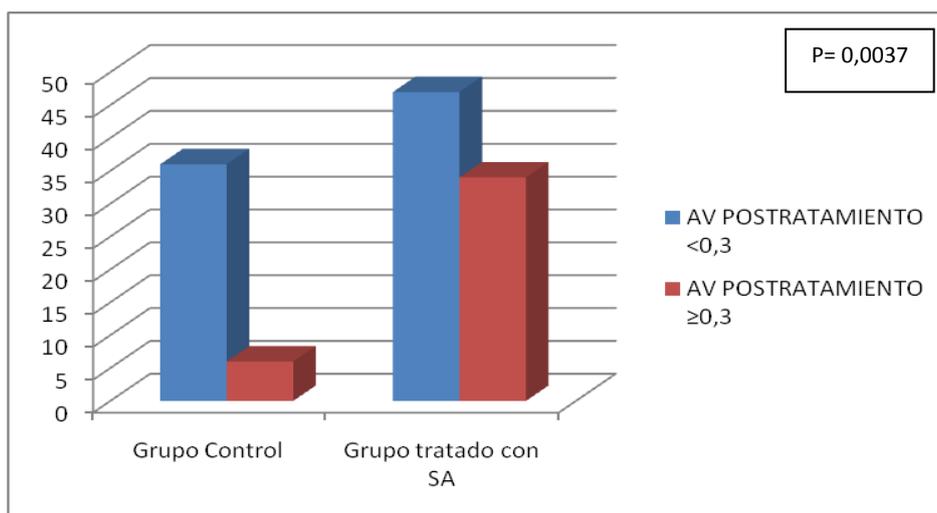
Realizamos test de McNemar para comprobar si los resultados observados en las agudezas visuales de nuestros pacientes antes y después de emplear el tratamiento con SA son significativos, obteniendo que tras realizar el tratamiento con SA, aumenta significativamente el número de pacientes que alcanzan AV ≥ 0.3 (Snellen) ( $\chi^2 = 11.53$ , g.l.=1,  $p = 0.0007$ , OR= 16, IC=91 a 104). Es importante señalar, que de los pacientes que previamente al tratamiento tenían una AV superior a 0,3 (Snellen), sólo uno empeoró

presentando AV inferior a 0.3 tras realizar el tratamiento. En contraposición, 18 de los pacientes con AV inferior a 0.3 mejoraron, pasando a tener una  $AV \geq 0.3$ . El tratamiento con SA en lesiones tróficas corneales duplica el número de pacientes con  $AV \geq 0.3$  que existía con respecto a la situación previa al tratamiento con SA.

Cuando comparamos los resultados de AV postratamiento alcanzados en grupo tratado con SA frente al grupo control tratado con terapia convencional, obtenemos que existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, siendo mayor la AV final alcanzado por los pacientes tratados con SA ( $\chi^2= 11.53$ , g.l.=1,  $p= 0.0037$ , OR= 4,34, IC=1,5 a 12,9).

	AV POSTRATAMIENTO	
	<0,3	$\geq 0,3$
Grupo Control	36	6
Grupo tratado con SA	47	34

**Tabla 36.** Representación de la AV postratamiento de pacientes en el grupo control y en el grupo tratado con SA.



**Gráfico 22.** Representación gráfica de la AV final alcanzada por el grupo de tratamiento con SA y por el grupo control tratado con terapia convencional.

### **CORRELACIÓN SCORE PRE-POSTRATAMIENTO CON AGUDEZA VISUAL PRETRATAMIENTO Y POSTRATAMIENTO.**

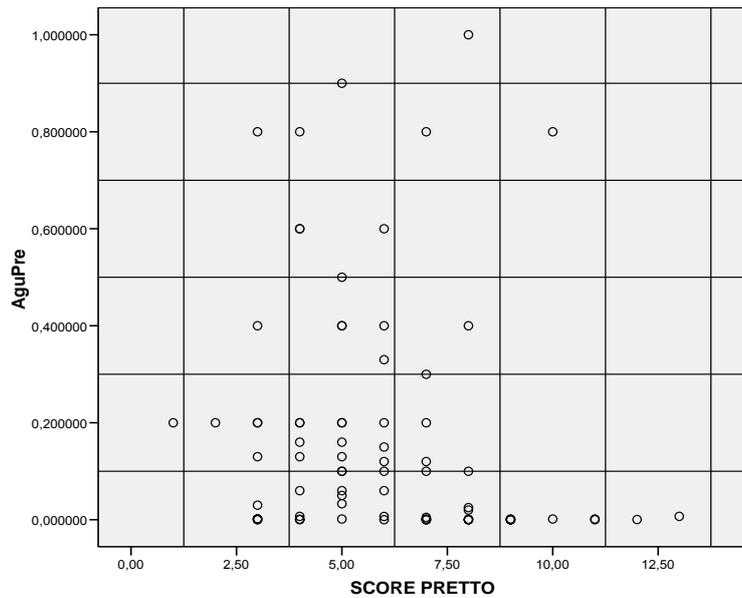
El puntaje global de comorbilidad o score pretratamiento se obtiene con la suma de las puntuaciones obtenidas pretratamiento con la clasificación de Sotozono de: queratitis punctata, defecto epitelial, conjuntivalización, neovascularización, queratinización y opacificación. A mayor puntuación, mayor gravedad de la lesión corneal.

Para ver si existe relación entre la severidad de las lesiones corneales pretratamiento y la agudeza visual previa al tratamiento con suero autólogo, se realiza un coeficiente de correlación de Spearman comparando la puntuación total de dichas lesiones con la agudeza visual pretratamiento. Para este caso obtenemos un coeficiente de correlación de -0,333, lo que quiere decir, que a mayor gravedad de la lesión, menor será la agudeza visual pretratamiento que presenta el paciente, y esta relación es estadísticamente significativa (  $p=0.002$  ).

			AV_PRETTO	SCORE PRETTO
Rho de Spearman	AV_PRETTO (logMAR)	Coefficiente de correlación	1,000	-,333(**)
		Sig. (bilateral)	.	,002
		N	81	81
	PUNTUACIÓN PRETTO	Coefficiente de correlación	-,333(**)	1,000
		Sig. (bilateral)	,002	.
		N	81	81

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

**Tabla 37.** Coeficiente de correlación de Spearman entre AV pretratamiento y puntuación pretratamiento.



**Gráfico 23.** En este gráfico observamos que a medida que aumenta el valor de la puntuación, disminuye la AV. Una puntuación  $\geq 9$  es indicativa de mala agudeza visual pretratamiento.

Asimismo, se analiza la relación existente entre el grado de afectación corneal postratamiento en torno a las distintas lesiones (score postratamiento) y la agudeza visual final alcanzada para cada caso clínico. De igual modo, se realiza un coeficiente de correlación de Spearman cuyo valor es de -0,506, es decir, a mayor grado de lesión corneal postratamiento,, menor será la agudeza visual postratamiento con SA ( $p < 0.0001$ ).

			SCORE POSTTO	AV_POST
Rho de Spearman	PUNTUACIÓN POSTTO	Coefficiente de correlación	1,000	-,506(**)
		Sig. (bilateral)	.	,000
		N	81	81
	AV_POST (logMAR)	Coefficiente de correlación	-,506(**)	1,000
		Sig. (bilateral)	,000	.
		N	81	81

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

**Tabla 38.** Coeficiente de correlación de Spearman entre AV postratamiento y puntuación postratamiento.



0.0001. Por lo tanto, hay una relación estadísticamente significativa entre ambas puntuaciones. Así encontramos, que cuanto menor era el grado de la lesión pretratamiento, mayor es la probabilidad de tener una grado menor gravedad de la lesión tras realizar el tratamiento con SA. De igual modo, cuando el grado de la lesión pretratamiento era mayor, existía una mayor probabilidad de tener un grado más alto de lesión tras realizar el tratamiento con SA.

	N	Correlación	Sig.
SCORE PRETTO Y SCORE POSTTO	81	,418	,000

**Tabla 39.** Coeficiente de correlación de Spearman entre Score pretto y Score postto.

También realizamos un test T de student, para comparar las medias de los puntajes pretratamiento y postratamiento, habiendo obtenido valor  $t=9,86$ , con nivel de significación  $p < 0.0001$ . Por tanto, existe una relación estadísticamente significativa entre el grado de lesión pretratamiento y el grado de lesión postratamiento con SA.

Por tanto, en aquellos sujetos, en los que la lesión corneal sea mayor antes de iniciar el tratamiento con SA, tendrán mayor probabilidad de quedar con lesiones residuales, lo cual, a la vista de los resultados de los coeficientes de Spearman en el apartado anterior, nos permite afirmar que va a conllevar una peor agudeza visual postratamiento, Esto se debe a que aunque se consiga obtener la reconstitución anatómica del órgano, existen lesiones cicatriciales que impiden que haya una recuperación funcional completa.

Por todo ello, lo ideal sería iniciar el tratamiento con SA precozmente, una vez que comprobamos que no existe una respuesta idónea al tratamiento convencional, para impedir el avance de la lesión, favoreciendo que la recuperación funcional obtenida sea óptima.

## **MATRIZ DE CORRELACIÓN PARA AV PRETRATAMIENTO Y POSTRATAMIENTO CON SA.**

Se realiza una matriz de correlación, utilizando el coeficiente de correlación de Spearman, para analizar la relación existente entre la AV pretratamiento con SA y las distintas variables que marcan el grado de lesión corneal, así como con la duración de tratamiento con SA.

<b>ANÁLISIS DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN PARA AV PRETTO(logMAR)</b>		
<b>VARIABLES</b>	<b>COEFICIENTE</b>	<b>VALOR P</b>
Duración de tratamiento	0,163	0,146
Superficie	0,151	0,179
Profundidad	0,255	0,022
Queratitis punctata pretto	0,027	0,81
Defecto epitelial pretto	0,282	0,011
Conjuntivalización pretto	0,131	0,243
Queratinización pretto	0,182	0,103
Neovascularización pretto	0,19	0,089
Opacificación pretratamiento	0,186	0,096

**Tabla 40.** Resumen de matriz de correlación de Spearman para AV pretratamiento (logMAR) con distintas variables.

A la vista de los resultados, podemos decir, que todas las variables analizadas se relacionan de modo inverso con la agudeza visual, lo cual es lógico, ya que a mayor grado de lesión peor será la agudeza visual. Sin embargo, dicha relación sólo es

estadísticamente significativa, para la profundidad de la úlcera y para el grado de defecto epitelial.

Hallamos que la menor agudeza visual pretratamiento se correlaciona significativamente con una mayor profundidad de la úlcera corneal y una mayor extensión del defecto epitelial.

La opacificación corneal que se produce cuando una lesión pasa la membrana de Bowman y avanza hasta el estroma corneal, es una variable no significativa ( $p = 0.096$ ).

En relación con el análisis de correlación de Spearman, aplicado a la AV postratamiento (logMAR) (tabla 41), encontramos que a peor agudeza visual pretratamiento, la agudeza visual postratamiento será también significativamente menor.

También, la agudeza visual postratamiento va a ser significativamente peor por la mayor profundidad de la úlcera, la mayor queratinización pretratamiento y postratamiento, la mayor opacificación pretratamiento y postratamiento, la mayor queratitis punctata postratamiento, así como por la neovascularización pretratamiento y postratamiento. En el caso de la neovascularización, nuestros resultados indican que el tratamiento con suero autólogo potencia la neovascularización existente, e incluso el avance de la misma.

<b>ANÁLISIS DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN PARA AV POSTTO(logMAR)</b>		
<b>VARIABLES</b>	<b>COEFICIENTE</b>	<b>VALOR P</b>
AV pretto (logMAR)	0,858	0
Duración de tratamiento	0,101	0.368
Superficie	0,20	0,858
Profundidad	0,222	0,046
Queratitis punctata pretto	0,041	0,719
Defecto epitelial pretto	0,167	0,137
Conjuntivalización pretto	0,056	0,618
Queratinización pretto	0,252	0,023
Neovascularización pretto	0,293	0,008
Opacificación pretto	0,263	0,018
Queratitis punctata postto	0,242	0,029
Defecto epitelial postto	0,143	0,203
Conjuntivalización postto	0,172	0,125
Queratinización postto.	0,360	0,001
Neovascularización postto.	0,454	0,00001
Opacificación postto.	0,396	0,0001

**Tabla 41.** Resumen de matriz de correlación de Spearman para AV postto con distintas variables pretratamiento y postratamiento.

**RELACIÓN ENTRE LA DURACIÓN DEL TRATAMIENTO CON SUERO AUTÓLOGO EN ÚLCERAS TRÓFICAS CORNEALES Y SU GRAVEDAD.**

La mediana de la curación de úlceras corneales severas en nuestra muestra fue de 69 días. Se comparó la curación entre dos grupos aquellas que curan de 0 a 69 días: **úlceras de curación temprana** y de 70 a 1092 días de tratamiento **duración de tratamiento prolongado o crónico**.

Realizamos una t de student comparando las medias entre las diversas variables. Los pacientes en ambos grupos presentan edad similar, y la úlcera es igual de extensa y profunda (Tabla 40).

**SA en úlceras corneales tróficas y su gravedad.**

	<u>0-69 días tto.SA</u>	<u>70-1092 días</u>	<u>Valor p</u>
<b>Edad (años)</b>	57.9 DE 22.56	60.4 DE 14.9	0.39
<b>AV pretto (Snellen)</b>	0.23 DE 0.57	0.11 DE 0.2	<b>0.022</b>
<b>AV postto (Snellen)</b>	0.37 DE 0.37	0.2 DE 0.29	<b>0.024</b>
<b>Superficie úlcera (mm<sup>2</sup>)</b>	11.76	13.06	0.68
<b>Profundidad corneal (%)</b>	32.55	39.08	0.4
<b>Comorbilidad pretto (SP)</b>	5.88	6.26	0.52
<b>Comorbilidad postto (SP)</b>	2.56	3.82	<b>0.023</b>

**Tabla 42. Relación entre duración del tratamiento, AV visual y el grado de las lesiones de superficie ocular**

AV: Agudeza visual. Optotipos Snellen. SP: suma puntuación (queratitis punctata, defecto epitelial, conjuntivalización, neovascularización, queratinización, opacificación).

Sin embargo, aquellos pacientes que precisan un tratamiento más prolongado parten de unas condiciones de agudeza visual preoperatoria peor ( $p = 0.022$ ) y su agudeza visual postoperatoria final también es significativamente peor ( $p = 0.024$ ) que aquellos que curan entre 0-69 días (curación temprana).

Respecto a la comorbilidad preoperatoria, aunque no es significativamente distinta entre ambos grupos, sí lo es respecto a la comorbilidad postoperatoria, siendo significativamente peor ( $p = 0.023$ ) en aquellos que precisan más tiempo de tratamiento con SA.

Cuando estudiamos la correlación existente entre la curación temprana (0 a 69 días) y la superficie y/o la profundidad de la úlcera no encontramos relación estadísticamente significativa.

Si realizamos un análisis multivariante entre el tiempo de tratamiento con SA en pacientes con tratamiento prolongado y diversas variables, sólo encontramos una relación estadísticamente significativa con la mayor agudeza visual postoperatoria ( $p < 0.00001$ ) y el tipo de úlcera ( $p = 0.011$ ) (queratitis sicca menor que neurotrófica, y ésta a su vez menor que en las causticaciones e inmunológicas).

Las úlceras por queratitis sicca se asocian a menudo a patología neurotrófica, conjuntival y de los párpados, por ello en estas úlceras a veces encontramos un doble patrón ya descrito en los resultados. Con el SA curaron pronto las úlceras, pero en el caso de pacientes que presentaban patología asociada, su tendencia a recidivar, lleva a la necesidad de realizar tratamientos crónicos descritos en nuestra muestra.

En el análisis multivariante, la duración prolongada del tratamiento de 70 a 1092 días tiene alta correlación  $R^2 = 59\%$  con el **tipo de úlcera**.

**DPSA (días) = -85 + 622 (AV postoperatoria Snellen) + 103 (tipo de úlcera)**

El modelo realizado con la AV logMAR es un modelo muy complejo por lo que se decidió en este apartado aceptar como modelo más sencillo la AV expresada en equivalente Snellen que es un valor no paramétrico.

Aunque la aproximación logMAR permite convertir la AV en una variable normal, sin embargo, tiene el inconveniente de no tener una aproximación clínica, fácilmente inteligible. Además los resultados estadísticos son iguales a los obtenidos con la AV expresada en equivalentes Snellen. Por ello, los distintos autores revisados en las revistas de impacto utilizan indistintamente uno u otro valor.

De nuestros datos se deduce que mantenemos mayor tiempo el tratamiento en aquellas úlceras en las que obtenemos una buena recuperación funcional (agudeza visual), y se produce un abandono más precoz en aquellos pacientes con mala agudeza visual postratamiento optando por otras opciones médicas y quirúrgicas.

### **NNT ENUCLEACIÓN Y/O EVISCERACIÓN**

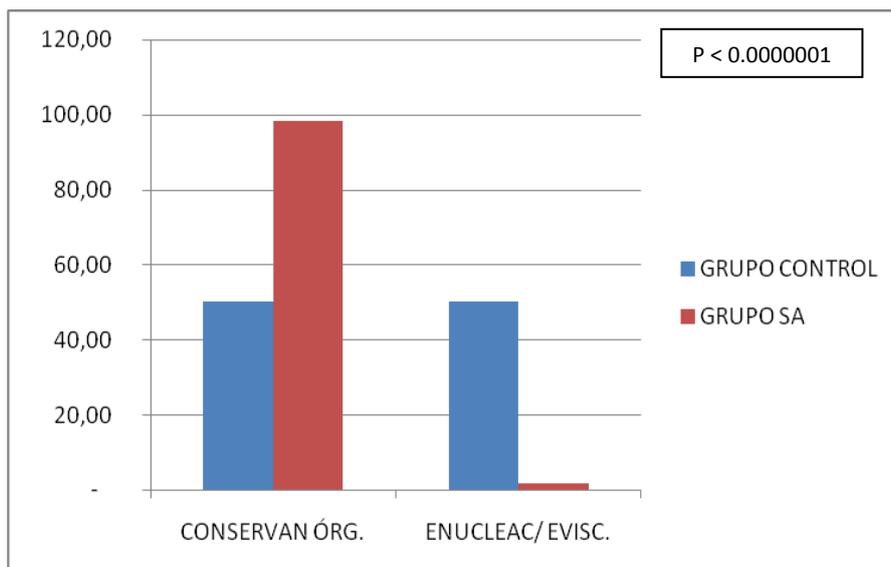
En este apartado analizamos el riesgo de enucleación en los dos periodos de seguimiento, comparando el riesgo previo al empleo de suero autólogo (1999-2004) frente al riesgo posterior a la introducción del suero autólogo (2005- 2010). De igual modo, calculamos el número de pacientes necesario tratar para evitar una enucleación o evisceración (NNT).

Dado que en el grupo control, no existen pacientes con patología por queratitis sicca grave, compararemos los pacientes afectados por úlcera neurotrófica y causticación/inmunológicas de ambos grupos (tabla 35)

- En los años 1999-2004 se trataron 42 ojos con patología severa de córnea: úlceras neurotróficas e inmunológicas. El resultado obtenido con el tratamiento estándar fue: 21 pacientes tuvieron que ser sometidos a enucleación o evisceración y 21 pacientes conservaron el órgano
- En los años 2005-2010 se trataron 64 ojos con patología severa de córnea debida a úlceras neurotróficas y causticación/inmunológicas. El resultado fue 64 ojos tratados con 1 enucleación y 63 casos que preservaron el globo ocular.

	CONSERVAC. ÓRGANO	ENUCLEAC./EVISCER AC.	TOTAL
GRUPO CONTROL	21 (50%)	21 (50%)	42
GRUPO TRATAMIENTO	63 (98,4%)	1 (1,6%)	64

**Tabla 43.** Se recogen en esta tabla el número y porcentaje de pacientes que conservan y pierden el órgano tanto en grupo control como en grupo de pacientes tratados con SA.



**Gráfico 25.** Como podemos apreciar en este gráfico, el tratamiento con SA disminuye el porcentaje de enucleaciones/evisceraciones en pacientes con úlceras neurotróficas, úlceras por causticaciones e inmunológicas.

Realizamos un test estadístico Chi-cuadrado para ver si las diferencias observadas son estadísticamente significativas, obteniendo:  $\chi^2 = 33.29$ , grados de libertad =1,  $p < 0,0000001$ , OR: 63 (IC: 8.06 a 257).

Por tanto, en el periodo en que aún no se empleaba el tratamiento con SA (1999-2004) el riesgo relativo de enucleación era 63 veces superior al periodo en que se inicia dicho tratamiento (2005-2010).

Índice evento enucleación grupo control:  $21/42 = 50\%$  (IEC)

Índice evento enucleación grupo tratamiento SA:  $1/64 = 1.56\%$  (IEE)

RRR: Diferencia evento grupo control – grupo experimental/ evento grupo control

$$RRR = IEC - IEE / IEC = 50\% - 1.56\% / 50\% = 96.88\%$$

La introducción del SA en las lesiones corneales de evolución tórpida o grave ha representado una reducción del riesgo de enucleación del 97%.

RAR (reducción absoluta del riesgo): IEC- IEE = 50-1'56=48'44%

**NNT= 1/RAR= 1/0'4844= 2'06 Sería necesario tratar solamente 2 pacientes con patología corneal grave con SA para evitar la enucleación a uno de ellos.**

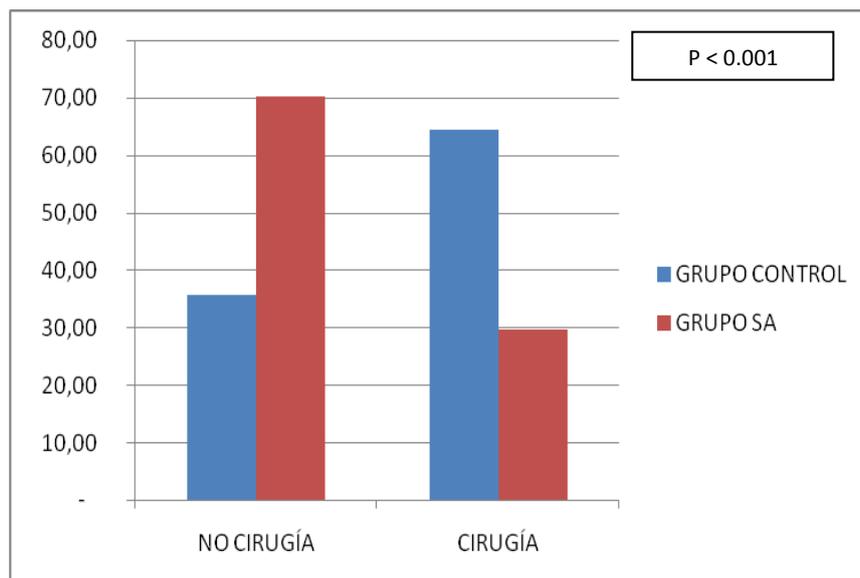
### **NNT CIRUGÍA VERSUS NO CIRUGÍA.**

En este apartado, analizamos la necesidad de cirugía en los dos periodos de seguimiento, comparando el periodo previo al empleo de SA (1999-2004) con el posterior a la introducción del mismo (2005- 2010).

- En los años 1999-2004 se trataron 42 ojos con patología severa de córnea (úlceras neurotróficas e inmunológicas) y el resultado fue: 27 ojos tratados con cirugía y 15 pacientes que no precisaron cirugía.
- En los años 2005-2010 se trataron 64 ojos con patología severa de córnea por úlceras neurotróficas y causticación/inmunológicas. El resultado obtenido fue: de los 64 ojos tratados con SA 18 ojos precisaron cirugía y 45 ojos no la precisaron.

	NO CIRUGÍA	CIRUGÍA	TOTAL
GRUPO CONTROL	15 (35,7%)	27 (64,3%)	42
GRUPO TRATAMIENTO	46 (72%)	18 (28,1%)	64

**Tabla 44.** Se recogen en esta tabla el número y porcentaje de pacientes que precisan o no cirugía, tanto en el grupo control como en el grupo de pacientes tratados con SA.



**Gráfico 26.** La necesidad de cirugía es mayor en los casos del grupo control que en los del grupo de tratamiento.

Realizamos un análisis estadístico Chi-cuadrado para comprobar si las diferencias entre ambos grupos son estadísticamente significativas, obteniendo  $\chi^2 = 10.99$ , grados de libertad = 1,  $p < 0.001$ , OR: 4.26 (IC: 1.73 a 10.68). Por lo tanto, las diferencias son estadísticamente significativas.

En el periodo previo al uso del tratamiento con SA (1999-2004), el riesgo relativo de cirugía por úlcera severa (inmunológica o neurotrófica) era 4 veces superior al periodo en el que ya utilizábamos dicho tratamiento (2005-2010).

Índice evento cirugía grupo control:  $27/42 = 64.29\%$  (IEC)

Índice evento cirugía grupo tratamiento SA:  $18/64 = 28.13\%$  (IEE)

RRR (reducción relativa del riesgo):  $\text{Diferencia evento grupo control} - \text{grupo experimental} / \text{evento grupo control}$

$$\text{IEC} - \text{IEE} / \text{IEC} = \frac{64.29 - 28.13}{64.29} = 56.25\%$$

La introducción del SA en las lesiones corneales de evolución tórpida o grave ha representado una reducción del riesgo de cirugía del 56%.

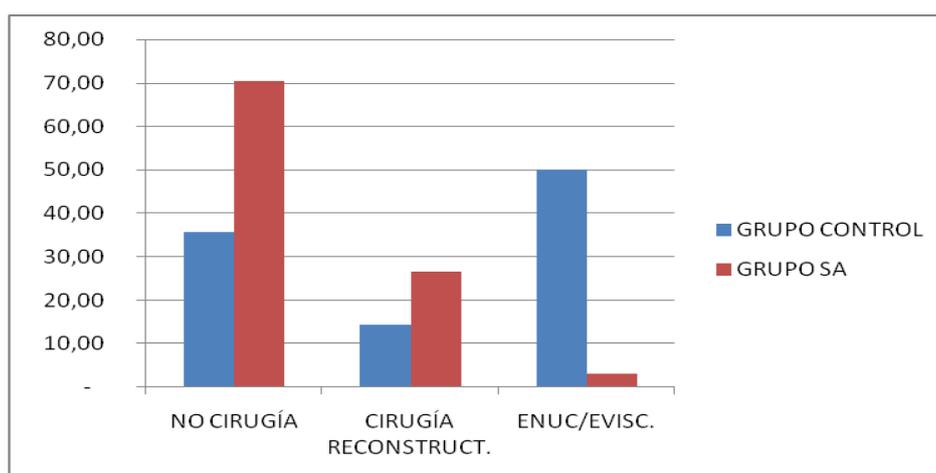
RAR (reducción absoluta del riesgo): IEC- IEE 64´29- 29´69=34´6%

**NNT= 1/RAR= 1/0´362= 2´76. Sería necesario tratar solamente 3 pacientes con patología corneal grave con SA para evitar la cirugía a uno de ellos.**

El SA se comporta como un tratamiento regenerativo que determina una importante reducción de pérdida del órgano visual, secundaria a úlcera corneal grave (neurotrófica, postcausticación o inmunológica).

	No Cirugía	Cirugía reconstructiva	Enucleación y/o evisceración
CONTROL	15	6	21
TRATAMIENTO SA	45	17	1

**Tabla 45.** Resumen del tipo del tipo de cirugía realizada en el grupo Control (1999-2004) y en el grupo de tratamiento con SA (2005-2010). En el grupo tratado con SA existe menor necesidad de cirugía, y en aquellos sujetos que requieren cirugía, predomina la de tipo reparador.



**Gráfico 27:** Comparación grupo control y grupo de tratamiento con SA en función de la necesidad o no de cirugía y el tipo de cirugía. En el grupo de tratamiento con SA existe menor necesidad de cirugía, predominando la cirugía reconstructiva.

## **ANÁLISIS DE CURACIÓN EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE TRATAMIENTO CON SA.**

Este análisis representa el tiempo de tratamiento con SA (expresado en días) que han necesitado los 81 ojos evaluados, hasta curar la úlcera o alcanzar estabilidad en la integridad de la superficie corneal. Cuando los pacientes alcanzaban este objetivo, se les pautaba tratamiento con lubricantes de la superficie ocular y eran dados de alta del tratamiento con SA.

En nuestro análisis de curación empleamos una curva basada en el algoritmo de Kaplan Meier, cuyo **evento final será la curación.**

Definimos como **curación: la restitución completa del epitelio corneal** sin precisar tratamiento crónico con suero autólogo para mantener la integridad corneal.

El **tiempo de seguimiento o tiempo de participación** viene especificado por la duración total del tratamiento con SA en días hasta el 1 de Marzo de 2010. El SA se ha mantenido de manera ininterrumpida hasta que se ha producido la curación o estabilización sin SA.

Los **elementos o datos censurados** corresponden a las úlceras con un tiempo de observación insuficiente para apreciar la curación con SA, pérdidas del seguimiento y abandonos del tratamiento por otras causas

**Fecha de cierre del estudio:** 1 de Marzo de 2010.

**Fecha de entrada:** 1 de Marzo de 2005 (fecha de inclusión del primer paciente).

**En este análisis en el que utilizamos una gráfica basada en el algoritmo de Kaplan-Meier** podemos describir la evolución de un grupo de sujetos desde un estado inicial (úlceras corneales) hasta un estado final (curación de úlceras) mediante la

representación gráfica de las proporciones de enfermos para diferentes intervalos de tiempo (expresada en días).

La duración media del tratamiento para la curación es de 175 DE 32 días (IC de 113 a 238 días), siendo la mediana de 69 días (IC de 46 a 92 días)

### Medias y medianas del tiempo hasta la curación

Media(a)				Mediana			
Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%		Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
175,336	31,717	113,172	237,501	69,000	11,585	46,293	91,707

a La estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si se ha censurado.

**Tabla 46.** Tiempo necesario con tratamiento con SA para la curación de las úlceras corneales severas. Estimación de la media, la mediana y sus intervalos de confianza.

25,0%		50,0%		75,0%	
Estimación	Error típico	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico
33,000	5,515	69,000	11,585	207,000	22,487

**Tabla 47.** Cuartiles correspondientes al tiempo de curación de la úlceras corneales severas en tratamiento con SA.



	B	ET	Wald	Grados de libertad	Valor P	HR
Tipo ulcera			1,328	2	,515	
Nombre de variable tipo ulcera(1)	,442	,384	1,328	1	,249	1,556
Nombre de variable tipo ulcera(2)	,328	,435	,568	1	,451	1,388
Queratppretto	,357	,406	,774	1	,379	1,429
Conjuntivapretto	,728	,520	1,956	1	,162	2,071
Opacifpreto	,309	,350	,777	1	,378	1,362
Neovascpreto	,229	,293	,614	1	,433	1,258
Defectopretto	-,933	,515	3,278	1	,070	,393
Queratinizpreto	-1,361	,519	6,890	1	,009	,256

**Tabla 48.** Modelo de regresión de Cox para la duración del tratamiento con SA y las complicaciones corneales pretratamiento. HR: Hazard ratio.

Queratpreto: queratitis punctata pretratamiento (0=ausencia, I,II y III=presencia)

Conjuntivapretto: conjuntivalización pretratamiento (0=ausencia, I,II y III=presencia)

Opacifpreto: opacificación pretratamiento (0=ausencia, I,II y III=presencia)

Neovascpreto: neovascularización pretratamiento (0=ausencia, I,II y III=presencia)

Defectopretto: defecto epitelial pretratamiento (0=ausencia, I,II y III=presencia)

Queratinizpreto: queratinización pretratamiento (0=ausencia, I,II y III=presencia)

Del análisis del modelo de regresión de Cox (tabla 48) se obtiene que de las complicaciones iniciales que presentaban los pacientes al iniciar el tratamiento, únicamente el mayor grado de queratinización determinaba una mayor duración del tratamiento con SA, con coeficiente=0.256, es decir, es un factor protector. Como se verá más adelante en el análisis de supervivencia, el hecho de que exista queratinización, podría dificultar la epitelización del lecho de la úlcera, pero en contraposición, otorga una mayor resistencia al tejido.

### **ANÁLISIS DEL TIEMPO DE TRATAMIENTO EN FUNCIÓN DEL GRADO DE QUERATINIZACIÓN PRETRATAMIENTO.**

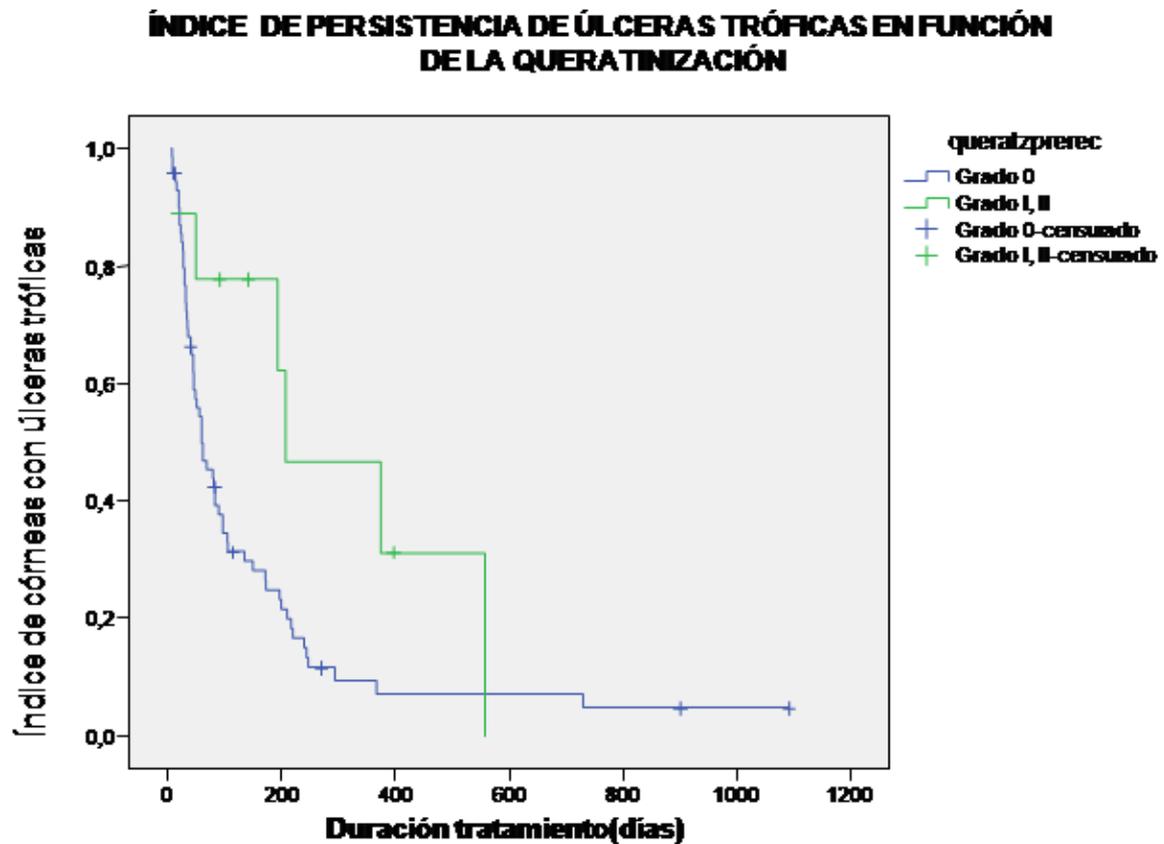
A la vista de los resultados obtenidos en el apartado anterior, en el análisis de correlación entre las complicaciones pretratamiento y el tiempo necesario de tratamiento, donde la única variable que influye de modo significativo sobre el tiempo hasta la curación es la queratinización, desarrollamos el siguiente análisis para determinar el tiempo de tratamiento necesario en función de esta complicación.

Queratiniz . Preto	25,0%		50,0%		75,0%	
	Estimación	Error típico	Estimació n	Error típico	Estimación	Error típico
Grado 0	173,000	48,533	60,000	14,659	32,000	3,211
Grado I, II	557,000	.	207,000	110,310	193,000	124,086
Global	207,000	22,487	69,000	11,585	33,000	5,515

**Tabla 49.** Duración del tratamiento con SA en función del grado de queratinización. Aquellos que tienen algún grado de queratinización triplican el tiempo de tratamiento en días frente a aquellos que no presentan queratinización.

La presencia de queratinización corneal triplica el tiempo de tratamiento con SA frente a aquellos que no presentaban queratinización.

En la siguiente gráfica (gráfico 29), donde se representa el análisis de curación en función del tiempo, basado en el algoritmo de Kaplan- Meier, observamos como aquellos pacientes en los que existe una queratinización pretratamiento, tienen un tiempo de curación más prolongado (línea verde). Esto es debido a que la queratinización (al igual que la conjuntivalización) se producen cuando hay un fracaso epitelial por destrucción de las “células madre” o células básicas de la regeneración epitelial que están situadas en el limbo (Thoft 1989, Aitken 1988). Por ello, para tapizar el defecto epitelial, aparece este tejido anómalo.



**Gráfico 29.** Resultado de la estimación de Kaplan-Meier para el tiempo de curación de la úlcera severa en función del grado de queratinización.

Por otro lado, en la misma gráfica, observamos que a pesar de que los pacientes con queratinización tardan más en curar, existen algunos casos de pacientes que a pesar de no presentar queratinización (grado 0), requieren de un mayor tiempo de tratamiento (línea azul). Este hallazgo, se desarrolla en el apartado siguiente.

### **ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE LA DURACIÓN DEL TRATAMIENTO Y EL TIPO DE ÚLCERA.**

En el análisis bivalente comprobamos que no existía correlación entre el tipo de úlcera y la duración del tratamiento. Si bien, en este análisis de correlación entre duración del tratamiento y tipo de úlcera (gráfico 28) existen pacientes con síndrome de ojo seco severo(30%), y con úlceras inmunológicas y causticaciones (10%), que van a requerir de tratamiento crónico. Así, aunque en este análisis basado en el algoritmo de Kaplan-Meier, estos sujetos son pacientes en los que no se alcanza la estabilidad de la superficie corneal sin el tratamiento con SA, a efectos prácticos se consideran enfermos curados en el resultado global de nuestro estudio, dado que se consigue una regeneración completa del tejido corneal y cierre de la úlcera.

En lo que a úlceras neurotróficas se refiere, en nuestra serie, no existen pacientes que hayan requerido tratamiento crónico, como podemos observar en el siguiente gráfico.

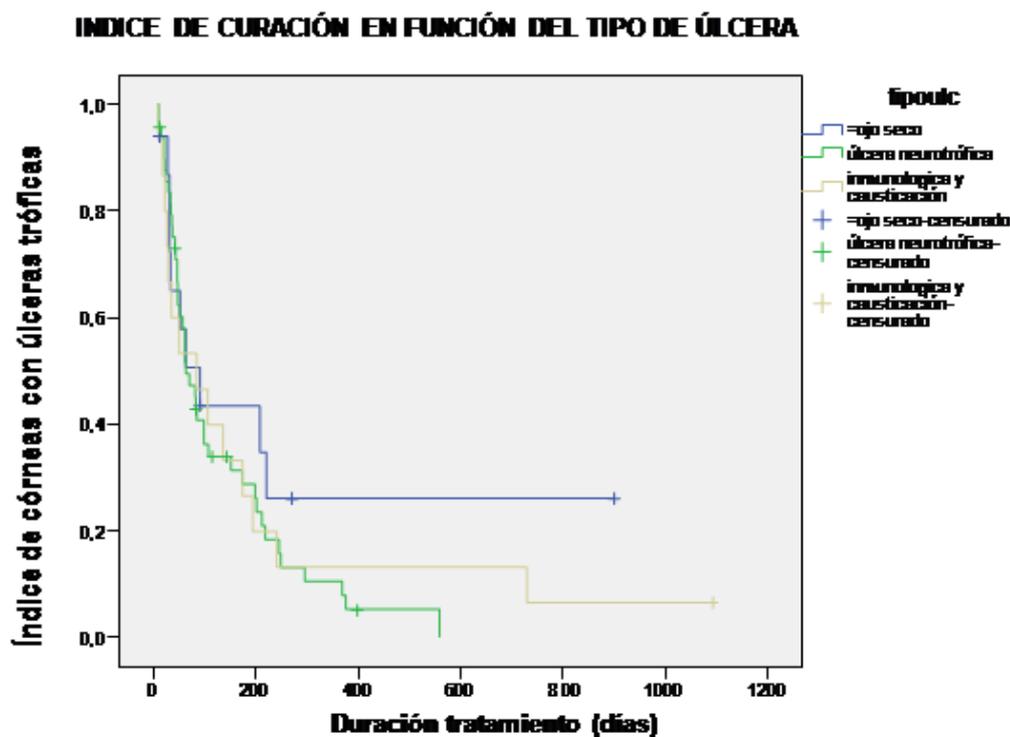


Gráfico 30. Análisis de correlación entre duración del tratamiento y tipo de úlcera.

## **ANÁLISIS MULTIVARIANTE**

En este apartado, analizamos los resultados de nuestro trabajo desde dos puntos de vista, por un lado, analizamos la variable curación, entendiendo por tal la restitución anatómica de la superficie ocular, lo que implica, la preservación del órgano. Y por otro lado, vamos a analizar los resultados desde el punto de vista funcional, siendo la variable que marca la funcionalidad del globo ocular, la agudeza visual postratamiento.

- **CURACIÓN:** Se analizan las variables en relación al resultado anatómico, siendo la variable dependiente curación si/no, entendiendo como curación, la regeneración del epitelio, desapareciendo la lesión de la superficie ocular que va a permitir preservar el órgano sin necesidad de tratamiento crónico. Para ello se realiza análisis de regresión logística binaria (tabla 50).

	B	ET	Wald	GI	Sig.	OR
Tipo úlcera			1,328	2	,515	
Nombre de variable tipo úlcera(1)	,442	,384	1,328	1	,249	1,556
Nombre de variable tipo úlcera(2)	,328	,435	,568	1	,451	1,388
Querapretto	,357	,406	,774	1	,379	1,429
Conjuntivapretto	,728	,520	1,956	1	,162	2,071
Opacifretto	,309	,350	,777	1	,378	1,362
Neovascpreto	,229	,293	,614	1	,433	1,258
Defectopretto	-,933	,515	3,278	1	,070	,393
Queratzpreto	-1,361	,519	6,890	1	,009	,256

**Tabla 50.** Resultados análisis multivariante (regresión logística binaria). OR: odds ratio.

Queratpreto: queratitis punctata pretratamiento (0=ausencia, I, II y III=presencia)

Conjuntivapretto: conjuntivalización pretratamiento (0=ausencia, I, II y III=presencia)

Opacifretto: opacificación pretratamiento (0=ausencia, I, II y III=presencia)

Neovascpreto: neovascularización pretratamiento (0=ausencia, I, II y III=presencia)

Defectopretto: defecto epitelial pretratamiento (0=ausencia, I, II y III=presencia).  
Queratinizpretto: queratinización pretratamiento (0=ausencia, I, II y III=presencia)

Es este caso, obtenemos que sólo el defecto epitelial y la queratinización son variables predictoras para el resultado final curación, por tanto, sólo en estos casos va a existir una relación estadísticamente significativa con el evento curación.

Hay que decir que el modelo es poco potente, porque existen pocos pacientes que no curan (14 pacientes), los cuales se comparan frente al grupo de curados (67 pacientes), lo que unido a que muchas de las variables analizadas están interrelacionadas entre sí, explica que sólo en las variables mencionadas encontremos la existencia de una relación significativa. De cualquier modo, esta información se desglosa de forma detallada en el apartado de análisis bivariante.

- **FUNCIONAL**: En este caso analizamos la capacidad funcional del órgano visual tras el tratamiento con suero autólogo, siendo la variable dependiente la agudeza visual postratamiento. Se realiza un análisis de regresión lineal obteniendo que la agudeza visual pretratamiento y la opacificación pretratamiento, así como la queratitis punctata, neovascularización y opacificación postratamiento son las variables predictoras de la variable dependiente agudeza visual final (tabla 51), es decir, la relación de estas variables con la agudeza visual postratamiento es estadísticamente significativa.

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	T	Sig.
		B	Error típ.	Beta	B	Error típ.
1	(Constante)	,322	,130		2,478	,015
	AguPretto (logMAR)	,986	,108	,714	9,168	,000
	Profundidad	-,001	,001	-,088	-1,124	,265
	Defectopretto	-,053	,086	-,047	-,618	,539
	Querapretto	,014	,090	,012	,157	,876
	Neovascpreto	-,059	,056	-,085	-1,048	,298
	Opacifpreto	-,136	,059	-,181	-2,295	,025

**Tabla 51.** Resultados análisis multivariante (regresión lineal).

Agupretto (logMAR)= logaritmo decimal de agudeza visual pretratamiento . Profundidad= profundidad de la ulcera (%). Defectopretto= defecto epitelial pretratamiento (0=ausencia; I, II y III= presencia). Queratpreto: queratitis punctata pretratamiento (0=ausencia; I, II y III=presencia).Neovascpreto: neovascularización pretratamiento (0=ausencia; I, II y III=presencia). Opacifpreto: opacificación pretratamiento (0=ausencia; I, II y III=presencia).

Cuando realizamos el ajuste final del modelo, obtenemos que hay una relación estadísticamente significativa con opacificación pretratamiento, neovascularización pretratamiento y agudeza visual pretratamiento. En el caso de esta última variable, es lógico pensar, que la agudeza visual final estará en relación con la agudeza visual de la que se parte antes del tratamiento, así aquellos ojos con muy mala agudeza visual, generalmente permanecerán con una agudeza visual postratamiento baja. Por ello, repetimos este análisis eliminando del modelo la agudeza visual pretratamiento, de modo que sólo se tengan en cuenta las lesiones anatómicas que influyen sobre la agudeza visual final. En este caso, como se aprecia en la tabla 51, obtenemos como variables predictoras de la AV postratamiento, la neovascularización pretratamiento y la opacificación postratamiento. Sin embargo, hay que decir, que el modelo ajusta mejor

cuando tenemos en cuenta la variable AV pretratamiento, ya que para este caso el coeficiente de correlación obtenido es de  $R^2= 0'663$ , y cuando eliminamos dicha variable del modelo, el valor de este coeficiente baja a  $R^2=0'291$ . Esto podría explicarse a partir de los resultados obtenidos en el análisis descriptivo, donde se comprobó que aquellos pacientes con mala agudeza visual inicial apenas mejoraban funcionalmente, y sí ganaban agudeza visual aquellos sujetos que tenían mediana o buena agudeza visual inicialmente. Por todo ello, quizás esta variable aporta un valor predictivo funcional importante.

Modelo Ajustado	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t		Valor p
	B	Error típ.	Beta	B	Error típ.	
(Constante)	,642	,081		7,899		,000
neovascpostto	-,184	,088	-,244	-2,088		,040
Opacipostto	-,244	,093	-,320	-2,627		,010
Opacifpretto	-,024	,077	-,032	-,308		,759
queratitispstto	-,154	,093	-,162	-1,660		,101

**Tabla 52.** Resultados análisis multivariante (regresión lineal).

Neovascpretto: neovascularización pretratamiento (0=ausencia; I, II y III=presencia)

Queratitispstto: queratitis punctata postratamiento (0=ausencia; I, II y III=presencia)

Opacifpretto: opacificación pretratamiento (0=ausencia; I, II y III=presencia).

Opacipostto: opacificación postratamiento (0=ausencia; I, II y III=presencia)

En resumen, podemos decir, que tras realizar el análisis de regresión logística binaria obtenemos que, tanto el tamaño del defecto epitelial como el grado de queratinización, son las dos variables predictoras que van a influir de modo estadísticamente significativo sobre la existencia o no de curación tras el tratamiento con SA de las lesiones en superficie ocular valoradas en este trabajo. Por otro lado, cuando lo que

analizamos es el resultado funcional tras el tratamiento con SA, observamos que son la existencia de neovascularización pretratamiento y el grado de opacificación postratamiento los que van a relacionarse con la AV final. Esto podría ser debido a que, aquellas lesiones de mayor tamaño, son las que van a necesitar un mayor aporte de factores de crecimiento para la restitución completa de la superficie ocular, lo que va a requerir una mayor vascularización para llevar a cabo dicho aporte. Por otro lado, cuanto mayor es una lesión, y sobre todo cuanto mayor es su profundidad, afectando estroma, mayor es el grado de opacificación postratamiento.



## **VI. DISCUSIÓN**



## **DISCUSIÓN:**

### **1.- PRINCIPALES OBSTÁCULOS EN LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO.**

La medicina basada en la evidencia, es a día de hoy, el criterio seguido por muchos especialistas en materia de salud cuando no existen ensayos clínicos para mostrar la utilidad de un tratamiento. Así ocurre con el suero autólogo, que no existe ningún ensayo clínico realizado para demostrar la eficacia del mismo como tratamiento en oftalmología, sino que se trata de un tratamiento que se ha empleado de forma empírica, existiendo algunos trabajos publicados acerca de los posibles efectos beneficiosos del mismo, pero sin existir en la bibliografía ningún trabajo con un potente estudio estadístico que así lo demuestre.

En el año 2004, aparecieron simultáneamente un trabajo en los Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología del Dr. Alió, y otro en Ophthalmology (Yukihiro 2004) acerca del SA. Por la misma fecha, se presenta este tratamiento en el Congreso internacional sobre inflamación ocular celebrado en Granada en el año 2005. Se habla entonces de su empleo en úlceras neurotróficas y en queratitis sicca (Arellanes-García 2005, Abad 2005). Nosotros, iniciamos meses después el empleo del SA en nuestro hospital como uso compasivo, es decir, sólo se empleaba en los casos de pacientes desahuciados, cuando los tratamientos preexistentes no conseguían solucionar el problema. Anteriormente, muchos de los pacientes afectos por esta patología se complicaban con una perforación ocular, debido a la falta de trofismo de los tejidos reparadores del segmento anterior, lo que solía conllevar una infección y posterior enucleación del globo ocular. Esto representaba en algunos casos una pérdida de la función visual residual y en otros casos la pérdida anatómica del órgano.

Comprobamos entonces que este tratamiento mantenía la integridad corneal y determinaba una respuesta reparadora que permitía cerrar la úlcera corneal.

A día de hoy, el SA se emplea para el tratamiento de diversas patologías sin que haya un protocolo que establezca las indicaciones de uso, sino que se emplea según criterio del oftalmólogo. Aunque los mejores resultados del SA se han encontrado en patologías donde existe una ausencia de factores epiteliotróficos (queratitis sicca), defectos epiteliales persistentes o úlceras corneales (Alvarado Valero, 2004, Geerling 2004, Díaz-Valle 2003). Según Akpek (2011), no existe evidencia de la eficacia del suero autólogo al 20% en el síndrome de Sjögren. Además los trabajos son escasos, con poco número de pacientes, y generalmente, sin usar grupo control frente al que comparar los resultados, por lo que carecen de significación estadística. Tananuvat (2001) no encuentra diferencias estadísticamente significativas de los pacientes tratados con suero autólogo frente a los tratados con lágrimas artificiales, sin embargo afirma que el grupo tratado con SA presenta una mayor tendencia a la mejoría de signos y síntomas, incluyendo cambios en la citología de impresión. Noble (2004) tratando 11 pacientes encuentra mejoría significativa en la citología de impresión, pero no en el test de Schirmer, Rosa de Bengala o test de aclaramiento. Kojima (2005) y Lee (2008) con suero autólogo comparado frente a las lagrimas libres de conservante aprecian una mejoría clínica subjetiva superior y un mejor resultado en las exploraciones con rosa de bengala y fluoresceína.

En los últimos años hemos observado un incremento de los trabajos sobre tratamiento con SA en las revistas oftalmológicas de mayor impacto científico. Poco a poco, se han ido aumentando las indicaciones del mismo a otras patologías como insuficiencia límbica o causticaciones oculares. Sin embargo, como se publica en la bibliografía, la mayoría de los especialistas han iniciado su uso de forma empírica y como tratamiento de rescate cuando los tratamientos estandarizados no eran suficientes. En

estos trabajos se habla sobre la eficacia de SA en el uso de distintas patologías en oftalmología, destacando con diferencia los defectos epiteliales persistentes y el síndrome de ojo seco.

No existe, sin embargo, artículos en los que se trate sobre la dosis y concentración más adecuada de SA para las distintas patologías. Si bien, existen trabajos de investigación en los que se ha demostrado que el SA empleado a una mayor concentración puede ser más eficaz en la resolución de la clínica (Poom 2001). En contraposición, también hay algunos autores que afirma que el SA al 50% no ha demostrado su superioridad sobre el suero al 20% (Bennie H Jeng 2009). Un inconveniente del elaborar el SA a mayor concentración, es que con la misma cantidad de suero se puedan elaborar menos colirios, lo que obliga a extracciones más frecuentes. Por otro lado, cuanto mayor es la concentración a la que se emplea el SA, mayor es el riesgo de que aparezcan depósitos de inmunocomplejos. Por esta razón, aunque la respuesta se considere dosis-dependiente, estaría contraindicado el emplear el SA a altas concentraciones en pacientes sometidos a trasplante corneal por el riesgo de desencadenar un rechazo (Geerling 2004).

En nuestros casos el SA se emplea al 20%, realizando una extracción sanguínea para su preparación cada tres meses, con un recambio de colirio cada 2 semanas. El suero autólogo a concentraciones del 50% es más denso y cierra mejor las úlceras, sin embargo en este caso, algunos autores aconsejan su renovación semanal porque a partir de este momento es tóxico para el epitelio corneal. En cuanto al plasma enriquecido con plaquetas, Alió (2007) afirma que renueva este colirio semanalmente para que no pierda sus propiedades.

Otro inconveniente, en relación al empleo del SA está en su preparación. De manera que si los fármacos oculares tópicos normalmente se presentan en colirio con

envasado estéril con conservantes, o bien en monodosis cuando están libres de los mismos, el SA se presenta en colirios con dosis aproximada para un mes y libre de conservantes. Esto que por un lado supone una importante ventaja, como se ha demostrado en nuestro trabajo, al disminuir la toxicidad para el epitelio corneal, favoreciendo su regeneración, presenta en contraposición un mayor riesgo de contaminación del colirio. Ello ha llevado a elaborar un protocolo detallado para evitar la contaminación de colirios en la elaboración, así como los errores en la identificación.

Inicialmente, el suero se preparaba en farmacia tras extracción sanguínea en laboratorio, sin embargo, pronto se llegó a la conclusión de que debía ser tratado como un preparado sanguíneo más y por tanto, su extracción y control microbiológico debía correr a cargo del banco de tejidos (Geerling, 2004). Así, la indicación de tratamiento con SA es rechazada por el banco de tejidos en aquellos casos en los que los pacientes presentan serologías positivas. Además, en nuestro caso, en aquellos pacientes con enfermedad oncológica, también se evita el empleo de SA para evitar una posible diseminación, aunque este es un efecto secundario aún no descrito en la literatura hasta el día de hoy.

Fuimos modificando y mejorando nuestro protocolo de actuación con el suero autólogo, de modo que ha llegado a ser adoptado como referencia inicial por otros servicios como: Hospital Virgen de las Nieves, Hospital del Ejido, Hospital Santa Ana de Motril y Hospital General de Lérida. Así, actualmente se ha pasado de transportar manualmente la sangre a Hematología para centrifugarla y llevarla después al servicio de farmacia para preparación en condiciones de asepsia, a que sea el propio banco de tejidos el que se encargue de realizar la extracción de sangre, la realización de serologías, y posterior centrifugación, enviando posteriormente el suero obtenido a farmacia hospitalaria donde se prepara el colirio bajo condiciones de asepsia. Afortunadamente, gracias en la mejora realizada en el procesamiento y obtención del

colirio de SA, se ha conseguido que este tratamiento sea reconocido a nivel legislativo (Real Decreto 175/2001 de 23 de febrero). Sin embargo, no ocurre así en otros países de Europa y la variabilidad es muy grande dentro de Estados Unidos. Por ejemplo, Geerling G (2011) refiere que solo 4 universidades en Alemania tienen la licencia para preparar suero autólogo lo que limita mucho su utilización.

Lo ideal sería preparar monodosis de SA para uso diario que se mantuvieran congeladas entre -15°C y -20°C, temperatura que alcanzan los congeladores que tenemos normalmente en nuestro hogar. Esas monodosis se irían descongelando cuando se fueran a emplear, manteniéndolas en el frigorífico a menos de 5°C durante el día que se emplearan. De este modo, aunque persiste la hidrólisis de las proteínas, la velocidad de desnaturalización de las mismas sería menor que las existentes con el procedimiento que se emplea habitualmente (Bradley J, 2008). Ya en la reunión anual del grupo español de superficie ocular córnea (GESOC) celebrado en Madrid en el año 2009, aparecieron algunos expertos hablando de esta posibilidad, sin embargo, dado que el incremento de coste sería considerable, a día de hoy no se ha iniciado el proceso.

Este trabajo lo hemos realizado con la finalidad de comprobar la utilidad del SA y el efecto del mismo en superficie ocular, en el tratamiento de lesiones debidas a úlceras neurotróficas, lesiones por síndrome de ojo seco severo, causticaciones y lesiones inmunes. Si bien, nosotros nos hemos centrado únicamente en las lesiones que afectan a la córnea, no teniendo en cuenta la conjuntiva, a pesar de que la clasificación que hemos empleado en nuestro trabajo (Sotozono 2007), hace referencia a lesiones en conjuntiva, córnea y párpados. Esto se debe, por un lado, al hecho de que las lesiones corneales estudiadas son mucho más frecuentes, y por otro lado, a que consideramos mejor centrarnos únicamente en el estudio de los cambios acontecidos en este tipo de lesiones a nivel corneal por el empleo de SA.

Para realizar nuestro trabajo, hemos recogido como ya se comentó en el apartado de material y métodos, un grupo de pacientes que presentaban lesiones tróficas corneales (úlceras neurotróficas, úlceras inmunológicas, queratitis sicca o úlceras tróficas secundarias a causticaciones) y al que se le indicó tratamiento con SA.

Para poder demostrar la utilidad de este tratamiento, es necesario comparar su efecto frente a un grupo control al que no se aplicara dicho tratamiento. Este punto, es otro de los inconvenientes que hemos encontrado en nuestro trabajo, ya que para para realizar dicho estudio hubiera sido deseable emplear un diseño experimental. Sin embargo, debido a que el SA en nuestra experiencia previa al diseño de la tesis parecía mejor que los tratamientos existentes para estos casos límite, no consideramos ético teniendo en cuenta la seguridad de los pacientes, y el potencial beneficio de la aplicación del SA, privar a un grupo de pacientes de este tratamiento. Por este motivo, no empleamos un grupo control de pacientes tratados con placebo o terapia convencional frente al grupo de tratamiento con SA al 20% sino que consideramos más adecuado un estudio controlado, no aleatorizado, con control histórico. Se trata por lo tanto de un estudio cuasiexperimental, con las limitaciones metodológicas que ya se han mencionado.

El grupo control, ha sido recogido de los cinco años previos a la introducción del tratamiento con SA, y son pacientes con patologías similares a las del grupo de tratamiento. Ambos grupos presentan características epidemiológicas muy similares en cuanto a la edad, sexo y tipo de úlcera. Únicamente hay diferencias significativas en cuanto al porcentaje de pacientes con lesión uni/bilateral, existiendo mayor número de casos bilaterales en los controles. Esto que en un principio, podría sugerir que la patología al ser bilateral puede ser más grave, queda descartado tras la realización de análisis bivalente curación/no curación en función de la lateralidad, al no existir

diferencias significativas en cuanto a curación en función de que la lesión sea uni o bilateral.

Además, los tratamientos empleados como estándar para las distintas patologías estudiadas, son los mismos que los que se emplean a día de hoy.

Un problema que encontramos a la hora de constituir el grupo de controles históricos, es el hecho de no encontrar registradas entre las historias de nuestros pacientes en documentación clínica un grupo de pacientes afectos por queratitis sicca. Por lo tanto, no tenemos registrados casos de queratitis sicca severa en el grupo control, bien porque no se diagnosticaban adecuadamente o bien porque estos pacientes no seguían controles, ya que muchos de ellos eran derivados de forma puntual por otros servicios, entre ellos reumatología para valoración que apoyara el diagnóstico de Síndrome de Sjögren, etc . También tiene bastante relevancia en este sesgo, el hecho de que en los años previos al empleo del SA, las historias clínicas no eran informatizadas, lo que puede haber derivado en pérdida de documentación, una menor recogida de datos, ausencia de registro iconográfico, etc.

Por tanto, son los casos de úlceras neurotróficas, causticaciones e inmunológicas las que hemos comparado entre ambos grupos.

Además, por otro lado, decidimos recoger casos de queratitis sicca en el grupo de tratamiento con SA para valorar los resultados de dicho tratamiento en este grupo de patología. Para ello, medimos una serie de variables consideradas complicaciones o lesiones asociadas (queratitis punctata, defecto epitelial, conjuntivalización, etc) a las lesiones tróficas en el grupo de tratamiento con SA antes y después de aplicar el mismo .En diseño cuasiexperimental empleamos muestras pareadas, en el medimos las complicaciones corneales antes y después de la aplicación del SA. En esta parte del estudio cada sujeto era su propio control.

En cuanto al tamaño de muestra empleada en el estudio, es importante señalar que aunque no es muy grande, supera al de la mayoría de trabajos existentes en la literatura científica, en los que no suele haber muestras superiores a los 20 pacientes, y al igual que la mayoría de estos trabajos se trata de un ensayo clínico no aleatorizado de pacientes tratados consecutivamente con SA en los últimos 5 años.

Por otro lado, en nuestro estudio se lleva a cabo un seguimiento clínico de una serie de casos hasta su curación o estabilización. Sin embargo, a diferencia de la mayoría de los estudios publicados hasta el momento, hemos empleado un grupo control. Ello nos ha permitido poder realizar un estudio estadístico consistente, con resultados que avalan la utilidad del SA en las patologías valoradas a nivel corneal.

Además, con el tratamiento con SA en muchas ocasiones se consigue evitar una cirugía de superficie ocular cuyos resultados pueden ser inciertos en la mayoría de los casos, y con el coste económico que los tratamientos quirúrgicos conllevan (ingreso, quirófano). Es un tratamiento que se aplica cuando no tenemos otra terapia médica a la que estas patologías respondan adecuadamente y antes del tratamiento quirúrgico paliativo.

Como complicaciones del empleo de SA desde que se iniciara el uso de este tratamiento, hay que decir que apenas han existido efectos adversos, y aquellos que se han presentado, han sido fáciles de solventar. En nuestro estudio nos hemos encontrado con dos casos de conjuntivitis y un caso de absceso corneal. Atribuimos estos efectos adversos a la contaminación del colirio por una inadecuada manipulación o conservación del mismo, ya que el SA es un producto que carece de conservantes, por lo que es más fácil que se produzca una contaminación del mismo. Además todos

ellos son pacientes, o bien con trabajos relacionados con el campo o la construcción, o bien ancianos sin un soporte social que facilitara el adecuado manejo del colirio.

Ante la presencia de estas infecciones, hemos suspendido inmediatamente el tratamiento con SA, pues sabemos que puede facilitar un sobrecrecimiento bacteriano (el suero bovino se utiliza para enriquecimiento de cultivos celulares desde hace muchos años), aunque en contraposición también hay que decir que el SA tiene factores bacteriostáticos que limitan o inhiben el crecimiento de bacterias. Algunos autores potencian además esta característica del SA utilizando como diluyente del mismo, soluciones antimicrobianas. Sin embargo, esta tendencia está disminuyendo desde que los datos de laboratorio sugieren que los antibióticos podrían reducir la capacidad epiteliotrófica de las gotas de SA. Nosotros en ningún momento hemos empleado el colirio diluido con solución antimicrobiana.

Para evitar la contaminación de los colirios es necesario instruir a los pacientes de manera eficiente acerca de la conservación y utilización correcta del colirio para disminuir el riesgo de infección. Además, para prevenir complicaciones no indicamos, o retiramos el tratamiento en aquellos pacientes en los que sospechamos que no se van a seguir las normas de higiene y conservación. Si bien, según hemos observado el número esperado de infecciones no parece muy diferente al encontrando en este grupo de población al que tratamos, caracterizado por pobres mecanismos de reparación celular, déficit lagrimal y pobre respuesta reparadora. Otros autores como Satake (2011) encuentran un 5% de infecciones corneales en este grupo de pacientes con patologías complejas de superficie ocular, porcentaje que es muy similar al encontrado en nuestro estudio.

Por otro lado, no hemos detectado ningún efecto tóxico del colirio del SA en nuestros pacientes mientras estuvieron en tratamiento. Sólo hay en la literatura un caso

recogido de efectos tóxicos por depósitos de inmunoglobulinas a nivel corneal en un paciente con defecto epitelial persistente (tras la aplicación horaria de SA al 100% se detectó la aparición de infiltrados corneales periféricos ulcerados a las 24 horas de iniciar el tratamiento) (Fox 1984). En pacientes con artritis reumatoide, se describe en la literatura que parece existir alguna relación entre el factor reumatoide y otros antígenos, los cuales en presencia de los anticuerpos existentes en el SA, podrían teóricamente causar depósitos por inmunocomplejos y éstos generar una reacción inflamatoria secundaria (Fernández García 2006). Sin embargo, en nuestra serie tenemos un paciente con artritis reumatoide que presentó un defecto epitelial persistente. Tras realizar el tratamiento con SA al 20% existió una evolución favorable de la lesión sin presentar ningún efecto adverso. Existe también en la literatura un trabajo en el que se compara el efecto del colirio del SA al 25% sobre la superficie corneal entre pacientes con artritis reumatoide y pacientes sanos, observando que los pacientes sanos mostraban una estimulación de la migración celular significativamente mayor que en el caso de pacientes con artritis reumatoide. Si bien, es cierto que dichos pacientes estaban sometidos a tratamiento inmunosupresor por la enfermedad, y el suero de estos pacientes presentaba menor concentración de fibronectina y TGF-beta (Harloff 2008). También existen trabajos donde se comparan los factores epiteliotróficos del SA en síndrome de ojo seco autoinmune frente al síndrome de ojo seco no autoinmune, y no existen diferencias significativas (Phasukkijwatama 2011). Como quiera que no se evidencia ningún efecto adverso del uso del tratamiento de SA en pacientes afectados de lesiones corneales en el contexto de enfermedades sistémicas como la artritis reumatoide, estaría indicado tratar a estos pacientes con SA, y en los casos en los que la concentración del 20% no sea suficiente, habría que incrementar la concentración a la que se prepara el colirio, ya que los efectos sobre la migración celular del SA parecen estar directamente relacionados con la dosis (Harloff 2008).

## 2.- RESULTADOS:

En relación con los resultados obtenidos en nuestro estudio, encontramos que en general son coincidentes con los de autores de los artículos revisados en cuanto a mejoría clínica y eficacia del suero autólogo como tratamiento para la patología trófica de la superficie ocular. De igual modo, coincidimos con ellos en que el SA, es una terapia que supera ampliamente al tratamiento con lágrimas artificiales (Fox. 1984). No son, sin embargo, terapias excluyentes, sino que se pueden asociar ambas.

En toda la literatura consultada, no existe ninguna serie que compare los resultados del suero autólogo con el tratamiento estándar para estas patologías en casos avanzados de queratitis sicca, úlcera neurotrófica, úlceras inmunológicas y causticaciones graves. Por ello, nos planteamos la pregunta: **¿es mejor el suero autólogo al 20% que los lubricantes oculares, pomadas antibióticas y la oclusión?**

Para responder a esta pregunta, haremos referencia al NNT (número de enfermos que es necesario tratar para evitar efecto adverso). En nuestro ensayo, por cada 2 pacientes con patología corneal grave (úlceras neurotróficas, causticación o úlcera inmunológica) tratados con SA, conseguimos evitar la enucleación en 1 de los casos (NNT= 2). Al comparar estos resultados con el grupo de control, encontramos que la reducción relativa del riesgo de enucleación (RRR) en el grupo tratado frente al grupo control fue del 97%. Así mismo, la reducción absoluta del riesgo de enucleación (RAR) fue del 48.5%. Por lo tanto, podemos decir, que el tratamiento con SA, frente al tratamiento estándar empleado en nuestros controles históricos, reduce el riesgo de que la patología corneal severa acabe en enucleación en casi un 50%.

Por otro lado, encontramos en nuestro trabajo, que por cada 3 ojos tratados con suero autólogo evitamos una cirugía, aunque esta sea reconstructiva (trasplante de membrana amniótica, trasplante corneal, tarsorrafia o recubrimiento conjuntival) (NNT =3 en un plazo de 5 años). Así, la reducción relativa del riesgo de cirugía (RRR) en el grupo tratado con suero autólogo frente al grupo control fue del 56% y la reducción absoluta de riesgo (RAR) fue del 36%. Esto, deriva en un menor coste sanitario, dado que se reduce la necesidad de ingresos y de uso de quirófano.

Otro hallazgo importante, es que los ojos tratados con SA, a los que además se les somete a cirugía reconstructiva (membrana amniótica, Tissucol o queratoplastia) no presentan una agudeza visual postratamiento significativamente distinta respecto de aquellos a los que no se realiza dicha cirugía. Estos datos sugieren que la cirugía reparadora, en el tratamiento de las úlceras corneales severas, tratadas con SA, ayudan a reconstruir la superficie ocular (reparación anatómica) sin suponer una pérdida o una mejoría sobreañadida de la capacidad funcional final, con respecto a los pacientes que sólo fueron tratados con SA. No existe en la bibliografía ninguna publicación sobre SA en el que se haga alusión a la reducción en el riesgo de enucleación o en la necesidad de cirugía frente al que comparar nuestros resultados.

Por lo tanto, se puede deducir de este análisis que el hecho de que un paciente sea sometido a cirugía no va a influir ni en el tiempo que precisa el paciente someterse a tratamiento con SA, ni en el resultado funcional obtenido. Si bien, va a resultar algo más costoso, ya que aparte de la cirugía se incrementa el tiempo de ingreso y el número de revisiones.

Por primera vez, y con importante significación estadística, nuestros resultados avalan que el SA no debe ser un tratamiento basado en la beneficencia sino que pasa a convertirse en el estándar en nuestro servicio para el tratamiento de úlceras corneales

severas (neurotróficas, inmunológicas y causticaciones), al presentar mejores resultados anatómicos.

El SA se comporta como un tratamiento regenerativo que determina una importante reducción de pérdida del órgano visual secundaria a úlcera corneal grave (neurotrófica, postcausticación, por queratitis sicca o inmunológica).

Actualmente, un ojo ciego y doloroso es la principal indicación de la evisceración y/o enucleación. El hecho de que el SA, reduzca de modo importante la necesidad de emplear dicha técnica, se explica por su capacidad para aportar al ojo los factores regenerativos necesarios para que se inicie el cierre de la úlcera, por lo que así se reduce el riesgo de perforación y/o endoftalmitis, y por tanto de pérdida del órgano. Además, la cirugía reparadora se hace menos necesaria y cuando se realiza, la llegada de factores tróficos aportados por el SA favorecen el cierre definitivo de la úlcera (Alió 2011).

Para hacer extrapolables nuestros resultados a otras poblaciones, necesitaríamos conocer qué porcentaje de enucleación presentan estas patologías y qué porcentaje de cirugías de enucleación y evisceración se realizan por causa corneal. En los trabajos revisados, hayamos que Batten (1971) y Tiaman (2011) encuentran que el 25% de las enucleaciones son por causa corneal.

La frecuencia de enucleaciones y evisceraciones no está bien recogida en la literatura, pero Sirgudsson (1998) y Rasmussen (2010) hablan de una incidencia anual de 1.4 a 2.6 por 100.000. Aceptando que nuestra población de referencia, para estos casos complejos, es la del Hospital Clínico San Cecilio de Granada y el Hospital Santa Ana de Motril (400.000 habitantes), y aplicando la incidencia de la que hablan estos autores sobre nuestra población, el número de enucleaciones en 5 años debería de haber oscilado entre 28 y 62. Si además, tenemos en cuenta que la cuarta parte son de

origen corneal, el número de enucleaciones por patología corneal estaría entre 7 y 13 durante el periodo de tiempo que dura nuestro ensayo (5 años). Nuestro número de enucleaciones de origen corneal en el grupo control, es algo superior al de esta series (de 1.5 a 3 veces mayor).

Si aceptamos la hipótesis de que ellos han manejado patología corneal con igual gravedad que la nuestra, y lo han resuelto mejor al necesitar menor número de enucleaciones, sus NNT serían de 3 para el Rigs Hospitalet de Dinamarca y 6 para Iceland Hospital. En cualquier caso, tratar entre 3 y 6 pacientes para evitar una evisceración/enucleación, con un tratamiento incruento como es el SA, parece un resultado lo suficientemente válido e importante como para extrapolarlo y generalizarlo a otras poblaciones. No obstante, en el caso de nuestro estudio el NNT es de 2, es decir, al comparar los resultados obtenidos en nuestro grupo de tratamiento con SA frente al grupo control, obtenemos que por cada 2 pacientes que tratamos se evita una enucleación/evisceración. Por lo tanto, el rendimiento de SA en nuestro estudio es aún mayor.

En cualquier ensayo clínico, se considera aceptable hasta un 5% de abandonos del tratamiento, para que los resultados tengan validez (Argimón 2009). En nuestra serie, los abandonos fueron del 3.7%, lo que supone un total de 3 pacientes (un éxitus secundario a patología sistémica, un absceso corneal que obligó a retirar el tratamiento y un caso por aparición de queratopatía en banda secundaria al tratamiento con SA).

Si consideramos curación la regeneración tisular, de modo que la superficie corneal sea estable, podemos decir que en nuestro estudio curan el 95% de los pacientes tratados con SA. En el 83% pudimos retirar el suero autólogo una vez estabilizada la lesión, y en el 12% restante se mantiene este tratamiento de forma sostenida o

crónica. Al igual que otros autores, encontramos que en el caso de síndrome de ojo seco la retirada del tratamiento supone en muchos casos una recurrencia de la lesión. Así, Tsubota en 1999, describe como a las 4 semanas de retirar el tratamiento en este tipo de pacientes las lesiones recurren.

Cuando nos referimos a los resultados funcionales de nuestra serie, encontramos que: mantienen la agudeza visual 26 ojos (32.1%), mejoran su agudeza visual 49 ojos (60.4%) y empeoran con respecto a la AV previa al tratamiento 6 ojos (7,4%).

Si comparamos nuestros resultados con otros autores, por ejemplo, Satake Y (2011) quien trata pacientes con deficiencia de células madre límbicas totales con trasplante de mucosa oral cultivada, encuentra un 5% de infecciones, un 57% de ojos con superficie ocular estable y un 59% de ojos con ganancia de agudeza visual. La lesión morfológica que presentaban muchos de los ojos tratados en nuestra serie, son muy similares a los casos descritos por este autor en su trabajo. Nosotros, obtenemos un mayor número de estabilizaciones de la superficie corneal que este autor. La buena epitelización corneal es importante no solo para obtener un resultado visual satisfactorio, sino para obtener baja incidencia de complicaciones. Según Satake, la pobre agudeza visual postratamiento, parece estar relacionada con la opacificación corneal (Satake 2011). En este trabajo, Satake define que su tratamiento es efectivo cuando se estabiliza la superficie corneal y se gana agudeza visual tras el tratamiento.

Por otro lado, Alió (2007) obtuvo la curación en úlceras corneales persistentes con plasma enriquecido en plaquetas en un 50% de los casos. Este porcentaje ascendía al 71% al tratarlas con plasma enriquecido con plaquetas + Membrana amniótica. En cuanto a los resultados funcionales, el 58% de sus pacientes ganaban agudeza visual tras el tratamiento. Nosotros consideramos que nuestro tratamiento es más eficaz,

porque con él hemos estabilizado la superficie corneal del 95% de los pacientes, encontrando que mejora la agudeza visual en el 60% de los mismos.

En la práctica clínica el SA, ocupa un segundo escalón cuando la lágrima no consigue restaurar la integridad de la córnea, ya que se considera que la superficie ocular está compuesta por la película lagrimal y la superficie del epitelio de la córnea y la conjuntiva (*Creuzot-Garcher, 2007*). La mayor concentración de citoquinas de crecimiento epitelial presentes en el SA favorece el crecimiento de los tejidos y la reparación corneal (*López García 2007*).

Los tiempos necesarios para curación de las lesiones corneales referidos por diversos autores son menores que los encontrados por nosotros. Así, Alvarado Valero en su trabajo del año 2004 publica que la mayoría de los pacientes se curaron entre las 2 y 4 semanas y solo un 17% de pacientes de su muestra necesitaron tratamiento más allá de la cuarta semana. Jeng (2009) obtiene un 90% de curaciones a los 22 días al tratar defectos epiteliales persistentes (por neuropatía corneal postterapéutica y postqueratoplastia) con suero autólogo al 50%.

En los resultados obtenidos en nuestro estudio, el 78% de pacientes ha requerido al menos 4 semanas de tratamiento para alcanzar la curación, y como ya hemos comentado en un apartado anterior, el 12% de los pacientes requieren tratamiento crónico para evitar la reactivación de las lesiones (*Zlakas 2010*).

Sólo en algunos casos de queratitis sicca, los pacientes refieren mejoría en sus síntomas tras 48h de iniciar la aplicación con SA. La mayoría refieren una disminución en la sensación de cuerpo extraño intraocular, y una visión más nítida pasado este tiempo, coincidiendo estos hallazgos con los publicados por los doctores López García y Murube del Castillo, 2011.

Cuando tras la instilación de una lagrima artificial se producen ganancias de agudeza visual de una a dos líneas, este dato nos permite confirmar el diagnóstico de ojo seco; con sensibilidades del 95% al 82.5% y especificidades del 70 al 100% (Latkany 2006). La mejoría de visión pasajera dura con las lagrimas artificiales unos 4 minutos y con el suero autólogo aún es desconocido. Este hecho puede ser explicado por los hallazgos descritos en algunos estudios en los que se ha demostrado que los pacientes afectados por síndrome de ojo seco, aunque en la exploración con lámpara de hendidura no presenten causa que explique la visión borrosa, al realizar microscopía confocal, se aprecian cambios morfológicos en la superficie del epitelio corneal que explicaría dichos trastornos visuales (Chen 2009, Wakamatsu 2010). También se pueden poner de manifiesto estas alteraciones por medio del estudio histológico del epitelio corneal.

A medio plazo, al aplicar el SA, se restaura parcial o totalmente la morfología y funcionalidad de este epitelio lesionado. El epitelio corneal que había aumentado su espesor secundario a la hiperplasia epitelial se reduce, por lo que desaparece o se mitiga la sensación de visión borrosa al mejorar la regularidad de la superficie corneal y facilitar una película lagrimal más estable (Salman 2010).

El hecho de necesitar el tratamiento con SA de forma crónica, situación más frecuente en el grupo de pacientes con queratitis sicca, puede conllevar una molestia para algunos pacientes, sobre todo, para aquellos con un mayor desgaste físico, en los que la extracción sanguínea de forma periódica supone un mayor debilitamiento de su estado general. Son pacientes en general ancianos y con una inmunidad débil. Por ejemplo, en uno de nuestros pacientes, con anemia crónica se consideró la extracción o no de sangre. Finalmente, dado la pequeña necesidad de sangre 40 cm<sup>3</sup> necesaria para preparar el colirio, y la demanda por parte de la paciente de un tratamiento que le evitara la recidiva de sus úlceras corneales nos decidimos por

su aplicación. En estos pacientes muy inmunodeprimidos existe un mayor riesgo de infecciones corneales graves si no se usa y almacena adecuadamente el suero autólogo (Sanz-Marco 2011).

Para reducir el número de extracciones, se proponen ya algunas soluciones como el uso de nuevas moléculas para vehiculizar el SA de modo que haya un mayor aprovechamiento del mismo. Además, se habla de la elaboración de una lágrima artificial universal, enriquecida con los distintos factores de crecimiento contenidos en el SA (López García, 2007).

Otros autores proponen la aplicación directa y de forma aislada, de algunos de los factores que componen el SA y que favorecen la regeneración tisular, como es el caso del factor neurotrófico para tratamiento de las úlceras tróficas (Tsubota, 1999), o del empleo de gotas oculares con albúmina (Unterlauff JD, 2009).

Existen también trabajos sobre el uso de suero procedente de otra persona, o tratamientos con suero procedente del cordón umbilical, sin embargo coincidimos con otros autores en lo inadecuado de éstos tratamientos, no sólo porque a través de la sangre se pueden transmitir numerosas enfermedades ya conocidas, y que se descartan en el banco de tejidos, sino que posiblemente existan otro tipo de contagios aún no conocidos que se pueden propiciar, tales como la posibilidad de transmisión de células cancerígenas, priones, etc. (Chiang 2007, Chiang 2008). Hoy por hoy, aunque esta posibilidad terapéutica ha sido expuesta en algunos congresos como posibilidad teórica, sin embargo, no es realizada en la práctica clínica y queda fuera de nuestros protocolos (Sharma 2011).

La primera finalidad del SA ha sido la de reparar, consiguiendo no sólo preservar el órgano, sino que además en muchos de los pacientes valorados se ha conseguido una mejor función visual. Este efecto ha sido mucho más claro en

pacientes con problemas de síndrome de ojo seco, en los que la inestabilidad de la película lagrimal estaba alterada, consiguiendo el SA estabilizar la misma. Así, por ejemplo, en nuestro trabajo recogemos el caso de un paciente con queratitis sicca severa en el que la visión oscilaba desde cuenta dedos, a la visión de la unidad a los pocos días de iniciar la aplicación del SA.

El SA no presenta problemas de autoinmunidad, no habiendo encontrado reacciones inmunológicas secundarias al mismo. Además, es bien tolerado y asequible, existiendo la posibilidad de prepararlo en el mismo hospital. Aún así en muchos hospitales el paciente no tiene una adecuada accesibilidad al proceso para la obtención de SA, siendo su obtención limitada para algunos Hospitales de América y Europa, y su coste excesivo. Por ello Partal (2011) sugiere aprovechar la experiencia de los centros de transfusión sanguínea elaborando un protocolo asequible y un protocolo de bajo coste para la elaboración del suero autólogo. En nuestro Hospital contamos con la colaboración del servicio regional de transfusión sanguínea para la extracción, análisis, y centrifugación de la sangre. Y el servicio de Farmacia Hospitalaria del Hospital San Cecilio encargados de su preparación estéril, conservación, etiquetado y dispensación). Sin la experiencia y el trabajo ejemplar de ambos servicios no se podrían haberse beneficiado tantos enfermos. Además los protocolos de ambos servicios han sido aceptados como referencia en gran número de hospitales. Conocemos que el SA es una terapia eficaz en defectos epiteliales persistentes, sin embargo hacen falta estudios estadísticos comparando el suero con otras terapias, que confirmen si supera a otros tratamientos, cuáles son sus efectos clínicos y cómo cuantificarlos .

Para ello en nuestra tesis nos planteábamos dos objetivos específicos para cuantificar nuestros resultados:

1.- Analizar los cambios a nivel de superficie ocular tras el tratamiento con suero autólogo.

2. Desarrollo de la citología de impresión como técnica diagnóstica, y de ayuda al seguimiento de lesiones en superficie ocular (con ayuda del departamento de Anatomía Patológica).

#### Análisis de los cambios de la superficie ocular tras tratamiento con SA:

A nivel clínico, el empleo de la clasificación de *Sotozono, 2007* recogida en el apartado de material y métodos, nos ha permitido hacer una valoración más objetiva de las lesiones. Hasta la publicación de dicho trabajo, no existía en la literatura ninguna clasificación para la valoración de lesiones inespecíficas a nivel corneal. Aunque este trabajo está realizado acerca de la enfermedad de Steven Johnson, permite aplicar esta clasificación a cualquier tipo de lesión que afecte a la superficie ocular. Existe para la clasificación específica de úlceras neurotróficas, la clasificación elaborada por Mackie (Krachmer 2008) en la que clasifica a éstas lesiones en 3 estadios:

---

#### Estadio 1

- Tinción (+) Rosa de Bengala de conjuntiva palpebral
- Tiempo de ruptura lagrimal disminuido
- Aumento de la viscosidad lagrimal
- Queratitis punteada al examen con fluoresceína
- Lesiones epiteliales deshidratadas (manchas de Gaule)

*Estadio 2*

- Pérdida de epitelio corneal
- Bordes de las úlceras enrolladas
- Edema estromal

*Estadio 3*

- Lisis estromal
- Perforación potencial

Si bien, la clasificación empleada por Sotozono, además de ser más completa, hace referencia a los distintos tipos de alteraciones que aparecen a nivel de la lesión. Además asigna distintos grados a cada una en función del nivel de afectación (queratitis punctata, defecto epitelial, conjuntivalización, queratinización, conjuntivalización y opacificación). Esta clasificación puede ser aplicada no sólo a úlceras neurotróficas como comentaba anteriormente sino también a otro tipo de patologías que cursan con las lesiones valoradas como queratitis sicca, úlceras inmunes, etc. Además, el modelo de Sotozono se ajusta muy bien en cuanto a la comorbilidad con nuestros casos clínicos, es decir, al igual que este autor, encontramos que a mayor grado de afectación de la superficie ocular, mayor será la pérdida de agudeza visual.

Con diferencia a los trabajos existentes publicados en la literatura hasta el día de hoy, donde los autores hablan del tratamiento de distintos tipos de patologías y la existencia o no de curación tras el empleo del SA, nosotros en nuestro trabajo, introducimos un estudio estadístico en el que no sólo se va a valorar si las patologías mejoran o no, sino que tenemos en cuenta la evolución de los distintos tipos de

lesiones colaterales analizadas en el contexto de las patologías seleccionadas para nuestro trabajo.

En la clasificación, realizada previa al tratamiento, la mayoría de los ojos eran ojos con gran afectación, con defecto epiteliales persistentes que afectaban a una gran área corneal, asociando además una alteración en la estructura corneal que hacía disminuir la agudeza visual de nuestros pacientes. Tras el tratamiento con SA, en la mayoría de ellos han desaparecido los defectos epiteliales y la opacificación se estabiliza. Sin embargo, en lo referente a la neovascularización, se ha mantenido en muchos casos, y en algunos de ellos incluso ha aumentado. Ello nos lleva a postular que puede ser muy útil en procesos reparadores, al aportar vasos que faciliten la nutrición, y por esta misma razón, podríamos pensar que estaría contraindicado en trasplantes corneales, ya que si incrementa el número de vasos a nivel de injerto potenciaría el rechazo, sin embargo, en los casos de pacientes con trasplante corneal en los que nosotros lo hemos empleado, no se ha observado esta complicación.

Para analizar los cambios a nivel de superficie ocular tras el tratamiento con suero autólogo, nos centraremos en los cambios observados en las distintas variables estudiadas.

### 2.1.- Defecto epitelial:

En la bibliografía, las series que evalúan el defecto epitelial corneal presentan algunas características comunes: son series cortas (6 a 17 pacientes), sin significación estadística, y solo se dan porcentajes de curación que oscilan del 60% (Tsubota 1999)

al 83% (Alvarado Valero 2004). La curación en estos trabajos se produce en días o semanas, raramente después de 1 mes (Shrader 2006, Young AL 2004).

Hemos podido observar como en nuestro estudio, el SA cura las úlceras corneales severas, independientemente de su profundidad y extensión, a diferencia de lo que encuentra Ferreira de Souza (2001), quién afirma que la profundidad del defecto se correlaciona con el éxito o fracaso del tratamiento. La extensión media de nuestras úlceras es de 12 mm<sup>2</sup> y el espesor medio de las úlceras es de un 43% de la profundidad corneal. En nuestra serie, comprobamos que curan el 95% de las úlceras, y lo hace con un tratamiento que en algunos casos dura meses para evitar las recidivas. El SA necesita un lecho o base estructural tisular sobre la que pueda proliferar el tejido para propiciar la curación, gracias a los factores tróficos que aporta. Por ejemplo, hemos podido observar como ayuda a curar lentamente en un paciente con necrosis escleral postexplanete de retina. Por otro lado, también hemos tenido la posibilidad de observar, fuera de los casos objeto de nuestro estudio para esta tesis, como regenera los tejidos por necrosis escleral secundaria a tratamiento con mitomicina en cirugía de pterigium y glaucoma (García-Serrano JL 2011), y como es ineficaz en rechazo de prótesis orbitaria al no existir soporte anatómico sobre el que pudiera proliferar el tejido para recubrir la prótesis de hidroxiapatita. Kim (2011) también afirma que el suero autólogo al 20% no parece facilitar la curación de pequeños defectos conjuntivales sobre el implante orbitario poroso expuesto. Estos mismos son los hallazgos de Matsuo (2005) en su trabajo, quien afirma que en pequeños rezumes de ampolla filtrantes tras cirugía de glaucoma se puede producir la curación hasta en un 60% de los casos, sin embargo cuando existe punto de fuga no existía curación.

Así, en nuestro trabajo encontramos que siempre que el lecho de curación este protegido, por una membrana amniótica o una lente de contacto el defecto epitelial va

a cerrar. También hallamos que aquellos pacientes que tienen una agudeza visual pretratamiento mejor, curan antes; por lo que quizás deberíamos plantearnos un tratamiento más precoz. Este tratamiento precoz podría reducir o inhibir el proceso lesivo, y por tanto, la progresión de la patología (aumento de la comorbilidad), lo que conllevaría una menor repercusión sobre la agudeza visual.

De nuestros datos se desprende que un tratamiento precoz con SA supondría una menor úlcera corneal que curaría en menor tiempo y con unos resultados funcionales postratamiento mejores, en lo que a la agudeza visual se refiere. De este modo, quizá la pirámide terapéutica en la que el SA ocupa el lugar final cuando fracasan las terapias establecidas como estándar (lubricantes artificiales, pomadas antibióticas y oclusión), deba modificarse, adelantando al SA en esta escala frente a este tipo de patologías (úlceras neurotróficas, causticaciones, lesiones inmunes y queratitis siccas severas), antes de que el daño estructural y nervioso tienda a cronificar la lesión.

Podemos afirmar a la vista de nuestros resultados que a mayor superficie y a mayor profundidad de la úlcera, el tiempo será mayor para alcanzar la curación. Si bien, no conocemos en que consiste el proceso intrínseco de la regeneración tisular que acontece en este proceso. Sólo podemos afirmar que el SA aporta los elementos necesarios para la regeneración de tejido corneal, pero no podemos predecir la velocidad de la respuesta reparadora en base a la morfología de la úlcera corneal.

Incluimos también en este apartado, las queratitis punctatas, por tratarse de defectos epiteliales aunque estos sean puntiformes. En el caso de esta lesión, nosotros encontramos que pretratamiento con SA el 70.4% % presentan queratitis punctata grado II (<1/3 de superficie pero con alta densidad o > 2/3 con menor densidad) o grado III (> 2/3 de superficie y alta densidad). Tras el tratamiento, no encontramos ningún caso con queratitis punctata mayor de grado I (<1/3 a 2/3 de la superficie y

densidad moderada), presentado queratitis punctata grado I el 14.8%. Existe una mejoría estadísticamente significativa de los pacientes que tras realizar este tratamiento no presentan queratitis punctata objetivable en la lámpara hendidura o su cuantía es de menor gravedad. Este hecho, aunque ya ha sido comentado por otros autores en la literatura publicada, no hemos encontrado ningún trabajo en el que se clasifique la gravedad de esta lesión, ni en el que los resultados sean analizados desde el punto de vista estadístico.

## 2.2.- Neovascularización:

En nuestra muestra, 49 pacientes presentaban neovascularización pretratamiento (49/77= 63.6%). Al tratar con SA, encontramos un aumento significativo de la neovascularización corneal, existiendo al final del estudio 9 ojos más que desarrollaron neovascularización, lo que supone un total de 58 pacientes, el 75.3% de la muestra. Por lo tanto, observamos que tras utilizar SA se incrementa la neovascularización corneal de modo significativo, siendo además ésta ligeramente de mayor grado.

La neovascularización presente en la patología tratada con SA es un dato no recogido habitualmente en la literatura. En el trabajo de Satake (2011), en los pacientes con deficiencia limbal total, describe un porcentaje de neovascularización pretratamiento del 72.5% de los ojos. Tras el tratamiento con trasplante de mucosa bucal describe un proceso parecido al de la invasión vascular corneal como es el porcentaje de invasión de tejido fibrovascular que en su muestra supone el 20%, y que en su caso implica el fracaso del injerto de mucosa oral. Por otro lado, López García y Murube del Castillo (2011) refieren que en general el SA tiene pocos efectos sobre la neovascularización, aunque observan en pacientes con queratopatía por aniridia una cierta mejoría de la

neovascularización. En cualquier caso, son muy escasos los estudios existentes publicados en los que se hace referencia al respecto.

Creemos que la neovascularización se asocia a la cascada inflamatoria que acontece en estas lesiones cronicadas. Además la extensión de la neovascularización guarda relación con la naturaleza y la profundidad de la patología corneal, así puede ser superficial, profunda o mixta. Esta clasificación viene dada por la longitud y profundidad del vaso principal. Cuando existen pequeños vasos superficiales que se asocian con infiltrados de células inflamatorias, estamos ante lo que se conoce como pannus, que suele afectar sobre todo a la córnea en su región más periférica. Cuando existe una invasión vascular central y extensa, que suele ir asociada con cicatrización y opacificación corneal, se produce una importante pérdida de agudeza visual (Benezra D, 2004).

La neovascularización puede conllevar un proceso devastador para la córnea que puede conducir a una disminución de agudeza visual y a su eventual pérdida. De hecho, está asociado a las causas principales de ceguera corneal en el mundo (tracoma y queratitis herpética) (Suryawanshi 2011).

La invasión de los vasos sanguíneos en la córnea altera la estructura anatómica de la misma, produciendo una esclerización de la capa transparente, opacificando el eje visual. Este fenómeno puede ser incompatible con una agudeza visual aceptable, ya que induce cicatrización de tejidos, depósitos lipídicos, hemorragias estromales y edema corneal (Maddula 2011).

Sabemos que los vasos que penetran en córnea, proceden de la conjuntiva (kaufman 2004). Estos vasos, son capilares fenestrados, lo que explica su comportamiento a nivel corneal. En caso de inflamación a nivel de la superficie ocular (como es el caso de la mayoría de las lesiones), dan lugar a una mayor exudación de líquido, lo que

conllevará un edema corneal, que va a propiciar por un lado una pérdida de transparencia de la córnea y por otro lado, un aumento en el grosor de la misma, con los cambios refractivos que ello conlleva. Gueudry (2010) realiza un trabajo donde inyecta Bevacizumab subconjuntival para reducir la neovascularización corneal, y encuentra una reducción significativa de la vascularización, sin embargo no se incrementa la agudeza visual en estos pacientes. Quinto (2008) afirma que una reducción en los factores epiteliotróficos lleva a defectos epiteliales que tienden a persistir y progresar como resultado de un compromiso en el proceso de curación de la herida. En nuestro trabajo encontramos que aquellos que presentan neovascularización corneal presenta una agudeza visual postoperatoria inferior frente a aquellos que no presentan neovasos (equivalente a 0.2 en optotipos Snellen). Sin embargo, el camino recorrido no es reversible y así la desaparición de los neovasos corneales no permite recuperar la agudeza visual perdida. Gueudry 2010 refiere que en estos pacientes la baja agudeza visual no es debida únicamente a la neovascularización, si no a las cicatrices corneales, al astigmatismo irregular, o a un síndrome seco entrañando una queratitis sicca o una inestabilidad epitelial.

En muchos de nuestros ojos tratados con SA buscamos un aumento de la vascularización corneal que nos ayude al cierre del defecto epitelial persistente y la úlcera corneal, pero a costa de cierta pérdida de transparencia corneal, lo que va a conllevar una peor agudeza visual.

### 2.3. Conjuntivalización:

La conjuntivalización pone de manifiesto la deficiencia de células madre límbicas. Ésta, a menudo, aparece asociada con un defecto epitelial persistente y un pannus fibrovascular (Dua 2011). Muchos de los procesos crónicos enumerados en esta tesis

como la queratitis sicca crónica o úlceras de distintos tipos (neurotróficas, causticaciones e inmunológicas), determinan reacciones inflamatorias y destrucción gradual de las glándulas lagrimales y el epitelio corneal, así como de células madre limbares. La deficiencia límbica de células madre causa conjuntivalización de la córnea, aparición de células calciformes en la córnea, un epitelio regular e inestable, y una metaplasia escamosa con descenso de visión (Sangwan 2001). Los cuadros que genera este déficit son progresivos con acciones continuas de reparación y destrucción corneal que impiden el cierre de las úlceras y facilitan la migración del epitelio conjuntival. Algunos de estos cuadros en su fase final llevan a la insuficiencia limbal total, a la cicatrización estromal corneal severa y a la completa conjuntivalización de la superficie ocular (Skeens 2011).

Al limbo se le atribuye una función de barrera que previene el crecimiento del epitelio conjuntival a la córnea durante la homeostasis normal. Cuando se lesiona esta función el epitelio conjuntival con los vasos sanguíneos y el tejido fibroso crecen hacia la córnea. Cuando el epitelio corneal es ocupado parcialmente por el crecimiento del epitelio conjuntival existe una deficiencia limbal parcial, observando que parte de la córnea y el limbo están cubiertos por el epitelio corneal y parte cubiertos por epitelio conjuntival, con ambos fenotipos coexistiendo durante periodos prolongados (Harminder 2009).

En cuanto a la conjuntivalización, nosotros encontramos que el SA produce un incremento estadísticamente significativo de la misma. En los pacientes con queratitis sicca grave de nuestra muestra solo lo presentan el 13%. En el resto de las úlceras, la conjuntivalización postratamiento está presente en el 24% de los casos. Esto aparece sobre todo en lesiones que afectan a un mayor espesor corneal. Así, con la finalidad de cubrir el lecho de la úlcera, se produce un incremento de la ya citada neovascularización que va a hacer que la conjuntiva también se extienda hacia el área

de la lesión para evitar la perforación, en aquellos casos en los que existe una insuficiencia limbal. De hecho en muchas de estas patologías, la membrana basal es destruida ocasionando un cambio del epitelio corneal por conjuntival (Peris, 2004), lo que sugiere que estas alteraciones de la membrana basal sean una de las causas principales de la conjuntivalización.

En nuestra serie, desde el inicio del tratamiento hasta la evolución final postratamiento, el número de pacientes con deficiencia limbal (conjuntivalización y vascularización) se incrementa. Estos mismos resultados los encuentran otros autores. Así, Sangwan (2001) en su trabajo encuentra que su incremento es de un 13.6%.

Otro fenómeno descrito, en el que participa la conjuntiva recubriendo las lesiones corneales, es la llamada transdiferenciación conjuntival. Nosotros en nuestro trabajo, no hemos observado dicho fenómeno. Dicho fenómeno consiste en que el epitelio conjuntival que cubre la lesión en la superficie corneal, adquiere las características propias del epitelio corneal. Sin embargo, este proceso, no ha sido demostrado aún de forma concluyente, ni in vivo, ni in vitro (Chen 1994, Dua 1998, Kruse 1990).

En la película lagrimal se han detectado hasta 168 proteínas que intervienen en procesos biológicos relevantes, de ellas: 35 intervienen en la proteólisis, 31 en la respuesta de curación de heridas y 15 en la respuesta inflamatoria (Rantamäki 2011). El suero autólogo presenta concentraciones de anticlagenasas (antiproteinasas) tales como  $\alpha$ 1 antitripsina,  $\alpha$ 1 antitripsina, inhibidor de interleuquina1,  $\alpha$ -tripsina y  $\alpha$ 2-macroglobulina de 3 a 100 veces superiores a las presentes en la lágrima (Ashok 2006). Ello nos indica que en el tratamiento con SA predomina el ciclo de reparación celular sobre el de destrucción celular. Ello nos permite, en las causticaciones oculares, utilizar el SA asociado a los corticoides, más de los 10-14 días habituales, y por tanto alargar e inhibir también el proceso lesivo inflamatorio durante varias

semanas(García-Serrano JL 2008) . Al mismo tiempo el suero autólogo proporciona factores tróficos y de crecimiento como el NGF que facilitan la regeneración de la vía nerviosa corneal.

#### 2.4. Queratinización:

La ausencia de células caliciformes en la conjuntiva está asociada con el desarrollo de una metaplasia escamosa. La mucina producida por las células caliciformes es esencial para la integridad de la superficie ocular. La metaplasia escamosa de la superficie ocular en forma de queratinización o células conjuntivales reducidas es observada en las causticaciones oculares. En las causticaciones graves de grado III y IV, cuando se estudian las lesiones a nivel histológico, aparece una cantidad variable de fibrocolágeno en el estroma de la región subepitelial. La inflamación severa presentaba fibrosis activa con infiltrados linfoplasmocitarios mezclados con linfocitos y células plasmáticas (Fatima 2008).

La queratinización consiste en la formación y depósito de queratina, siendo un rasgo característico de la epidermis. En el ojo, la inflamación crónica de la superficie ocular determina un cambio fenotípico que convierte un epitelio escamoso estratificado no queratinizado en un epitelio queratinizado no secretor (Chen 2010). La disfunción de las glándulas de meibomio puede estar asociada con las alteraciones en la expresión de 400 genes, asociando una hiperexpresión de genes de proteínas pequeñas ricas en lisina que puede favorecer la queratinización (Liu S). Otros autores hablan de la deficiencia de lágrima y de una respuesta inmune aberrante que lleva a una queratinización patológica. Estos autores señalan que el tratamiento tópico en estos casos puede ser insuficiente y puede ser necesaria una inmunosupresión sistémica adicional (McNamara 2010). Fatima (2008) encuentra que las causticaciones oculares

determinan una lesión importante de las células caliciformes. Esta deficiencia de mucina produce una inestabilidad de la película lagrimal (Krachmer 2008), provocando que la película lagrimal no se extienda en las áreas carentes de mucina (Rantamäki 2011). Esta pérdida lleva a la aparición de metaplasia escamosa y a la queratinización corneal y conjuntival.

No encontramos en nuestro trabajo la existencia de una relación entre el grado de queratinización antes y después del tratamiento con SA (antes del tratamiento lo presentaban 9 pacientes y después del tratamiento 11 pacientes, durante 5 años de estudio). Por lo que, aparentemente, el SA produce una estabilización de la queratinización y evita su progresión. Según Chen, la queratinización resultado de la metaplasia escamosa que sufre el epitelio corneal en algunas patologías de superficie ocular, está relacionada con la concentración de interleuquina 1 (Chen 2010). Por otro lado, parece existir en el suero una proteína antagonista del receptor de la interleuquina 1 que disminuiría las lesiones moduladas por dicha sustancia (Baños Piquea 2009). Por lo tanto, si con el SA aportamos este antagonista del receptor de la interleuquina 1, podemos afirmar que el SA en algunos casos podría reducir la queratinización de la superficie ocular. Sabemos que tanto la queratinización como la conjuntivalización, son lesiones que van a aparecer en aquellos individuos en los que la lesión corneal se acompaña de una insuficiencia del limbo.

De todas las variables estudiadas en nuestro trabajo, en los resultados que hemos obtenido en el análisis multivariante, es el mayor grado de queratinización únicamente el que va a determinar un mayor tiempo de duración del tratamiento con SA. Así, aquellos pacientes que presentan queratinización en la córnea, triplican el tiempo de tratamiento para curar las lesiones corneales frente a aquellos que no presentan queratinización. Ello viene determinado porque la queratina es un material resistente basado en una escleroproteína casi insoluble en álcalis diluidos, ácidos fuertes,

disolventes orgánicos y agua (Dulanto F 1981) El hecho de que exista queratinización, determinaba un retraso estadísticamente significativo en el tiempo de curación de las úlceras corneales y un retraso en el tiempo de reepitelización del lecho de la lesión, si bien, la aparición de la misma otorga una mayor resistencia al tejido. El retraso en la curación quedaría justificado por la existencia de una película lagrimal insuficiente e inestable como determinan la queratitis sicca grave, las úlceras corneales cronicadas y las causticaciones.

#### 2.5. Opacificación:

Contrariamente a lo que encuentran en sus trabajos otros investigadores, nosotros no evidenciamos una relación estadísticamente significativa entre el grado de opacificación antes y después de realizar el tratamiento con SA. Sin embargo, por ejemplo, Sotozono (2007) cuyo trabajo hemos utilizado de referencia para la clasificación de las lesiones de nuestros pacientes, no hace referencia a la opacificación central que puede afectar al eje visual, sino que habla de una opacificación más difusa que afecta a toda la córnea, por lo que la clasificación de este autor no se adaptaría por completo a nuestro trabajo.

Cuando utilizando la clasificación de Sotozono, analizamos la agudeza visual de nuestros pacientes en función del grado de comorbilidad, pre y postratamiento, dando un punto a cada grado de comorbilidad, teniendo en cuenta para ello las distintas variables de ésta clasificación, encontramos que existe una menor agudeza visual en los casos en los que la comorbilidad es mayor. Esta relación es estadísticamente significativa. La clasificación de Sotozono se ajusta bien a nuestra patología corneal, aunque sería deseable realizar algunas correcciones en lo que a la opacificación corneal se refiere. Así, sería interesante realizar una nueva clasificación para valorar

esta lesión, más exhaustiva que la utilizada por Sotozono, teniendo en cuenta no sólo la extensión de la misma, sino la región de la córnea afectada, ya que hemos comprobado en nuestro trabajo que afecta más a la agudeza visual final de los pacientes cuando ésta afecta la región central, aunque la extensión de la opacificación sea menor. Sin embargo, el volumen de nuestra muestra, no es suficiente para poder desarrollar una nueva clasificación.

En el análisis multivariante de nuestros resultados, las variables que restan mayor agudeza visual tras el tratamiento con SA son la presencia de opacificación y la neovascularización corneal postratamiento. Así, en nuestro análisis multivariante obtenemos, que la opacificación corneal frente a la ausencia de opacificación, tienen en promedio una pérdida de agudeza visual de 0.24 en la escala decimal de Snellen (0.61 log MAR).

Normalmente, la opacificación y la vascularización son fenómenos que van intrínsecamente unidos. Esto es debido a que aquellas lesiones que afectan a un mayor espesor corneal, son las que van a requerir un mayor aporte de factores de crecimiento para su regeneración, lo que se consigue con una mayor neovascularización. Además, estas lesiones corneales más profundas son las que van a originar una mayor desestructuración de la arquitectura corneal. La neovascularización y la opacificación conllevan una pérdida de la transparencia corneal y una peor agudeza visual (Bachmann 2011).

En las lesiones centrales que ocupan un mayor espesor corneal como en algunas úlceras neurotróficas, la opacidad pretratamiento y postratamiento no cambia significativamente. La peor agudeza visual pretratamiento, aparte de con la opacidad de medios, debe de estar relacionada con cambios en la estructura y funcionalidad corneal que modifican el paso de la luz a través de este tejido.

Por otro lado, es cierto que aquellas lesiones en las que el espesor corneal afectado es sólo de un 5 a un 10%, como son la mayoría de casos de queratitis sicca, y sobre todo en los casos en los que la lesión no alcanza la capa de Bowman no aparece opacidad corneal tras alcanzar la curación con SA. Por ello, si tratamos precozmente la patología y evitamos la cronicidad de la lesiones, gracias a una epitelización corneal precoz y un cierto grado de regeneración nerviosa, quizás evitemos la inflamación persistente (Hu 2011, Stevensons 2012). La inflamación crónica debida a la persistencia del defecto epitelial determina la liberación de citoquinas en el lecho de la úlcera que atraen elementos celulares, lo que lleva a una mayor destrucción tisular, con una mayor profundidad de la lesión. Esto puede dar lugar a una fibrosis y opacidad corneal (Hu 2011).

En relación con la agudeza visual postratamiento, observamos un incremento de la misma aunque el grado de opacificación y neovascularización no disminuyan. Esto se puede explicar porque los defectos del epitelio corneal curan y la superficie del epitelio corneal adquiere una superficie más regular. Al existir un epitelio corneal íntegro, las mucinas ayudan a estabilizar la película lagrimal, que también actúa como un medio óptico. Además, existen factores intrínsecos y estructurales no estudiados en este trabajo, como pueden ser la reducción del espesor corneal y el grado de turbidez al reducir la inflamación.

En resumen, podemos decir acerca de nuestros resultados que, el tratamiento con SA es más eficaz que el tratamiento estándar, alcanzando mayor número de curaciones. Asimismo, el SA disminuye el número de cirugías necesarias, ya se trate de cirugía reconstructiva o enucleación. Encontramos además, al realizar el análisis de Kaplan-Meier, que las lesiones por queratitis sicca curan antes que las úlceras neurotróficas, inmunológicas y las lesiones por caústicos, sin embargo, al tratarse esta de una patología crónica, con alteración del neurotrofismo (Lambiase 2011), van a requerir de

tratamiento crónico para evitar recurrencias. En cuanto a los tipos de lesiones corneales valoradas, mejoran la queratitis sicca y el defecto epitelial, la queratinización se estabiliza, empeorando la neovascularización y la conjuntivalización, y no encontramos variación en cuanto a la opacificación corneal. Por último, en cuanto a la funcionalidad, encontramos que existe un incremento de agudeza visual en el 60% de nuestros pacientes.

Valoración de superficie ocular mediante citología de impresión:

En lo referente a la valoración histológica empleada en nuestro trabajo, no hemos encontrado en la literatura existente referente a la misma, unos parámetros usados como estándares para poder emplearlos como patrón. Por ello, gracias a la ayuda del Dpto de Anatomía Patológica, con cuya colaboración se ha puesto en marcha ésta técnica para su empleo en ésta tesis, hemos elaborado una tabla con los parámetros a valorar y que ya hemos citado antes en el apartado de material y métodos. Además, en el caso concreto de la metaplasia escamosa hemos seguido la clasificación elaborada por López García (2006). En los casos de metaplasia escamosa, los resultados obtenidos coinciden con los de otros autores en cuanto a que se produce una regresión en la misma tras la aplicación del SA. Cambiase, (1998) obtenía los mismos resultados con el factor neurotrófico aplicado tópicamente en la córnea.

La citología de impresión nos permite conocer el tipo celular dominante, y la respuesta celular al tratamiento. Es una técnica relativamente reciente en el campo de la oftalmología, en constante expansión como método diagnóstico y como control de cierta patología que permite una valoración objetiva del grado de afectación.

Está técnica presenta un gran número de ventajas:

- Es muy económica.
- Se realiza de forma ambulatoria.
- Exige poca pericia técnica.
- En algunos casos evita al paciente el pasar por una cirugía para la obtención de biopsia.

Sin embargo la obtención de muestras a menudo es escasa y no obtiene información de las capas profundas de la conjuntiva y de la córnea.

Los primeros trabajos publicados, a mediados del pasado siglo, fueron realizados mediante frotis por raspado conjuntival, permitiendo conocer los elementos celulares del segmento anterior ocular y estableciendo los primeros patrones de células inflamatorias en los distintos tipos de conjuntivitis. Posteriormente, se desarrolló otra técnica citológica: el frotis por cepillado.

Últimamente ha sido desarrollada otra técnica citológica atraumática, la impresión conjuntival, llevada a cabo mediante la aplicación de pequeñas tiras de papel de acetato de celulosa. Esta técnica presenta como ventaja respecto a las anteriores que permite conocer la localización anatómica de las lesiones, la morfología celular, la relación entre las células y la interacción entre las células epiteliales y otros tipos celulares (Álvarez MI, 1996).

La técnica para la toma de muestras que realizamos es similar a la que practican y realizan en distintos centros y en artículos revisados.

Para el estudio de las células caliciformes, no es suficiente con realizar una simple toma de muestra de la zona, ya que al estar situadas las células caliciformes bajo un par de filas de células epiteliales conjuntivales, habría que

arrastrar ese grupo de células epiteliales o sustraerla por una primera toma, y luego, por repetición de toma de muestra en la misma zona, llegaríamos al nivel en que se hayan las células caliciformes.

Ya existen algunos trabajos en los que se habla de la buena correlación entre la mejoría clínica con el uso del SA, y la mejoría en la histología cuando se realiza a estos pacientes una citología de impresión antes y después del tratamiento con SA (Noble 2004). De igual modo, nosotros observamos que en aquellos pacientes en los que realizamos citología de impresión antes y después de iniciar el tratamiento con SA, existe cierta regresión en el grado de metaplasia. Esta reducción de la metaplasia es el mejor camino para reducir el grado de queratinización corneal, lesiones que están directamente relacionadas (Fátima 2008).

Por ejemplo, en el caso de la citología de impresión es necesario ver si existe algún producto que sin producir daño ocular permita extraer una mayor muestra conservando la arquitectura, estandarizar la técnica de toma de citología y conocer que tinciones son más apropiadas para el estudio de diferentes patologías, de manera que se obtenga la mayor información posible.

Por otro lado, en cuanto al SA, como ya he dicho anteriormente, aunque en nuestra tesis encontramos mejorías significativas en las patologías exploradas, hay que decir que faltan trabajos de investigación para estandarizar, en primer lugar los parámetros a emplear en su preparación (variabilidad en el tiempo de centrifugación y número de revoluciones por minuto), y en segundo lugar sus indicaciones y modo de empleo en las distintas patologías (posología y concentración). Además, hay que realizar más estudios en cuanto a los factores de crecimiento beneficiosos que contiene, pues seguramente sean más de los que hasta el momento se conocen (Rantamäki 2011). Cambiase (1998)

cura un gran número de úlceras con el factor neurotrófico obtenido de animales. Sin embargo, no se conoce todavía bien la efectividad del factor neurotrófico sintético. El factor de crecimiento neuronal (NGF) representa una interesante perspectiva, así en algunos ensayos clínicos mejora la sensibilidad corneal y promueve la curación de queratitis neurotróficas moderadas y severas. En algunas series de casos esta terapia muestra la posibilidad de restauración de forma íntegra de la superficie ocular así como de la función visual (Bonini, 2000). También se han empleado colirios enriquecidos en albúmina, que es la proteína más abundante en el suero, como alternativa al uso de SA (Unterlauff 2009). Esta proteína tiene efectos beneficiosos sobre la cicatrización. Otros autores proponen el empleo de factor derivado del epitelio pigmentario porque promueve la regeneración nerviosa corneal, acelera la curación de defectos epiteliales y la recuperación de la sensibilidad corneal (Cortina 2012).

El SA aporta a la córnea distintos factores de crecimiento que promueven: el crecimiento epitelial, acelera la proliferación, diferenciación y la migración y anclaje epitelial. Posee efecto antibacteriano, inhibe a las colagenasas corneales, mejora la extensión y estabilidad de la película lagrimal. Además, dichos factores evitan la queratinización y promueven la involución del grado de metaplasia.

No conocemos bien todas las proteínas que componen el suero autólogo, y seguramente esté constituido por más de las descritas hasta el momento. Tampoco sabemos como actúan las distintas proteínas y a cuál de ellas se debe el efecto beneficioso del SA. Serían necesarios estudios de electroforesis donde se correlacionaran las distintas proteínas que componen el SA con la respuesta reparadora, que se podría medir en tiempo hasta la curación o velocidad de la reducción de la superficie y profundidad de la lesión corneal.

### **3.- COMPARACIÓN DEL SA CON OTRAS TERAPIAS EN BIOMEDICINA REGENERATIVA:**

#### **- MEMBRANA AMNIÓTICA:**

La membrana amniótica (MA) es una membrana delgada y transparente que tapiza la cara interna del corion y placa corial de la placenta. Deriva esta membrana del ectodermo, estando formada por cinco capas que son: epitelio, membrana basal y estroma que está formado por tres capas mesenquimatosas (capa esponjosa, capa de fibroblastos y capa compacta) (Peris C, 2004).

En los últimos años, la membrana amniótica humana ha sido empleada en oftalmología para el tratamiento de multitud de patologías. Su uso terapéutico se debe a que es una membrana resistente pero flexible que permite adaptarla a las lesiones existentes en superficie ocular. Además es un tejido cuyo riesgo de rechazo es muy bajo dado que no posee vasos sanguíneos (Peris 2004). En oftalmología se usa fundamentalmente como soporte para la proliferación celular del tejido sano circundante a la lesión. Aunque son muchas las cualidades que se le atribuyen, la mayoría no han sido probadas científicamente. Así entre sus propiedades encontramos:

- Produce gran variedad de componentes activos como son factores de crecimiento, hormonas y citoquinas, muchos de los cuales también son aportados en el tratamiento con SA.
- Se habla de su capacidad antimicrobiana (Talmi 1991). No ha sido demostrada la existencia de ninguna sustancia bactericida ni bacteriostática a nivel de MA, sino que más bien parece ser un mecanismo de barrera el que aporta este tejido. Así, al cubrir el lecho del defecto epitelial, disminuye el riesgo de

- sobreinfección. En este punto, el SA es claramente mejor que la MA, ya que aporta una serie de sustancias, como son IgA, IgG, lisozima y otros factores supletorios que proveen a este tratamiento de efectos bactericidas.
- La MA posee una baja inmunogenicidad ya que no posee vascularización, ni se han hallado en sus células expresión de antígenos de histocompatibilidad (Adinolfi 1982), aunque parece existir en la MA una proteína relacionada con B2 microglobulina que se asemeja al HLA G gen del complejo mayor de histocompatibilidad clase I. Este hecho, unido a la aparición recientemente de comunicaciones en las que se habla de la aparición de hipopión en pacientes en los que se ha realizado trasplante de MA (Messmer 2001), pone de manifiesto una posible reacción de hipersensibilidad. Por este motivo, algunos autores aconsejan no usar MA procedente del mismo donante cuando es necesario realizar más de un trasplante en el mismo paciente. (Messmer 2001, Gabler 2000). En este punto, el SA también es una mejor alternativa que la MA, pues al tratarse de un tratamiento que se obtiene con la sangre del propio sujeto, nunca va a producir una reacción de hipersensibilidad.
  - Se sabe que la MA permite una adecuada reepitelización corneal ya que aporta un sustrato sobre el que van a poder migrar las células epiteliales (Tseng 1997), reforzando la adhesión de las células basales epiteliales promoviendo la diferenciación (Kurpakus 1992) y previniendo la apoptosis celular (Boudreau 1995). Son todas estas propiedades que también va a aportar el SA, ya que las proteínas como la albumina y la fibronectina constituyen una malla sobre la que pueden migrar las células epiteliales, aportando factores que ayudan a la diferenciación celular como la vitamina A.

- Un punto en el que no existe acuerdo sobre las propiedades de la MA, es en la fibrosis que aparece en los tejidos tras su uso. Así, algunos autores afirman que al disminuir marcadores inflamatorios en superficie ocular, por su contenido en antimetaloproteinasas, su capacidad para inhibir al factor transformante beta y la diferenciación de miofibroblastos, es capaz de disminuir la fibrosis de los tejidos, y por tanto, obtener una mayor transparencia corneal tras la resolución de una lesión (Choi 2001). Sin embargo, otros autores como Koizumi (2000), defienden la presencia de un alto nivel de factor transformante beta y de factor de crecimiento epitelial en la MA, que va a inducir una mayor cicatrización a nivel de superficie ocular. Por lo tanto, no se puede afirmar que la MA vaya a conseguir un menor grado de cicatrización y por consiguiente de opacificación corneal, que la obtenida con el SA.

Quizás el punto donde la MA pueda ser superior al SA, es en el grado de neovascularización que produce, siendo menor al del SA. De hecho esta característica es avalada por la mayoría de los trabajos publicados con trasplante de MA. Se ha comprobado que la MA tiene tanto factores de crecimiento (Koizumi 2000), como proteínas antiangiogénicas (Rigal-Sastourne 2002). Algunos autores atribuyen esta característica, a la presencia de inhibidores de metaloproteinasas en la MA, sin embargo esto no sería suficiente para explicar dicho fenómeno, ya que el SA también es rico en estas anticologenasas, y produce un aumento de la neovascularización. Deben intervenir otros mecanismos, aún no conocidos, entre los que posiblemente influya el hecho de que la MA es un tejido avascular dado que podría reducir los tejidos de granulación vascularizados y la cicatrices en el postoperatorio (Peris 2004).

Por otro lado, parece ser que la membrana amniótica usada junto con pegamento de fibrina ayuda a la regeneración del tejido corneal reduciendo aún más el grado de neovascularización corneal (Li Z, 2011) (García-Serrano JL 2011), comparada frente al

uso de MA aislada. Sin embargo, no existen trabajos donde se compare este efecto frente al SA.

- Por último, es conocida su capacidad antiinflamatoria debido al aporte, como ya comentábamos previamente, de inhibidores de metaloproteinasas (Rigal-Sastourne 2002). Además Shimmura (2001) postula que parte de la capacidad antiinflamatoria de la MA puede ser debida a su capacidad de atracción y secuestro de células inflamatorias de la superficie ocular. Es esta otra característica en la que la MA no es superior al SA, ya que al igual que en la MA, en el SA existen sustancias antiinflamatorias como los inhibidores de enzimas colagenolíticas.

Actualmente una de las principales indicaciones del trasplante de la MA son los defectos epiteliales persistentes (Peris 2004). Sin embargo Azuara- Blanco y colaboradores (1999) emplearon membrana amniótica para el tratamiento de defectos epiteliales persistentes asociados y no asociados a adelgazamiento severo del estroma corneal, concluyendo que sólo mejoraba la cicatrización de los defectos epiteliales que no estaban asociados a adelgazamiento estromal severo. Este hecho, unido a que se trata de un tejido biológico procedente de otra persona, y con el que a pesar de los controles serológicos que se hacen tanto al tejido como a la donante, no se pueda descartar que vaya a existir una posible transmisión de infecciones, hace que consideremos que es mejor el uso del SA en este tipo de patología. En nuestro trabajo hemos demostrado como el SA cura las lesiones independientemente de cual sea su superficie o profundidad. Además al tratarse de un colirio que se elabora con la propia sangre del sujeto se reduce el riesgo de transmisión de infecciones. En el caso de la membrana amniótica, la negatividad de los test no excluye la posibilidad de infección mediante patógenos para los cuales el test aún no está disponible.

### **- SUERO DE CORDÓN UMBILICAL**

Este tratamiento, es obtenido a partir de la vena del cordón umbilical una vez que el parto ha tenido lugar, tras la separación del feto del mismo. No influye para la obtención del mismo, el hecho de que el parto sea natural o por cesárea. Se consiguen obtener unos 200-250 ml de sangre (Yoon KC, 2007) que luego van a someterse para la elaboración del colirio de suero, el mismo procedimiento que el empleado para la preparación del colirio de suero autólogo (dejar coagular durante 2 horas en tubos de ensayo, posterior centrifugación para la separación de elementos formes del suero, y finalmente preparación del colirio a una concentración del 20%).

Al igual que el suero autólogo se congela y es útil durante 3 meses desde su preparación. Una vez que se empieza a usar el colirio debe ser desechado a la semana, porque pierde propiedades y es tóxico para el epitelio corneal, a diferencia del suero autólogo que se puede mantener en frigorífico hasta un mes, aunque nosotros aconsejamos a nuestros pacientes cambiarlo cada 15 días, para minimizar así el riesgo de contaminación.

Existen algunos trabajos en los que se comparan el tratamiento de suero autólogo con el de suero obtenido del cordón umbilical en lesiones corneales. En estos trabajos se habla de una mayor eficacia del suero obtenido del cordón umbilical, ya que aunque ambos tratamientos son eficaces, el suero obtenido del cordón umbilical (SCU), consigue que las lesiones regeneren en menor tiempo (Sharma 2011) Esto podría explicarse porque, aunque ambos tratamientos poseen los mismos factores, en el SCU se encuentran en mayor concentración (kyung-chul 2007). Sin embargo, hay una serie de inconvenientes que hacen a nuestro criterio que el SA sea un tratamiento más fiable y fácil de obtener que el SCU. Así, al igual que ocurría con el trasplante de MA, se trata de un tratamiento que se obtiene de una persona distinta a la que va a ser

aplicada, con lo cual es necesario realizar serologías y pedir consentimiento informado para su uso. Del mismo modo, que en el caso de la MA, aunque se hace un despistaje serológico y seguimiento de la madre durante el embarazo, no se puede asegurar ausencia de transmisión de enfermedades tras el empleo de este tratamiento alogénico.

Por otro lado, también supone una gran desventaja, el hecho de que de cada cordón umbilical sólo se obtengan 200 ml de sangre aproximadamente, porque el empleo de este tratamiento está supeditado a la existencia de cordones umbilicales disponibles para nuevas extracciones. Además, si un mismo paciente necesitara nuevos tratamientos, esa sangre provendría de otra mujer, con lo cual habría que repetir el proceso de petición de consentimiento informado, despistaje serológico, etc. Lo que haría el proceso más costoso, tanto a nivel económico como de empleo de recursos. Por todo ello consideramos que el SA, es un tratamiento superior al SCU tanto en disponibilidad como en seguridad. Además para reducir el tiempo hasta la curación, que es la única ventaja que parece aportar el tratamiento con SCU frente al SA, bastaría con preparar SA a una mayor concentración o incrementar el número de aplicaciones al día.

#### **- PLASMA ENRIQUECIDO EN FACTORES DE CRECIMIENTO (PEFC):**

De todos los tratamientos biomédicos empleados en regeneración tisular de superficie ocular, el plasma enriquecido en factores de crecimiento es el que más se asemeja tanto en su obtención como en su composición al suero autólogo. Este tratamiento, al igual que el SA, se obtiene por venopunción del paciente que va a someterse a dicho tratamiento, tras realizar serologías para descartar enfermedades infecciosas que puedan ser transmitidas a través de este hemoderivado. La principal diferencia del PEFC respecto al SA estriba en su producción: tras la centrifugación de la sangre del

individuo en cuestión, para separar los elementos formes del suero, cuando lo que se desea obtener es PEFC, únicamente se va a extraer el tercio de suero que queda en el tubo de ensayo justo encima de los elementos formes. Esto conlleva por un lado, que al ser los factores de crecimiento y otras proteínas como la albúmina y la fibronectina moléculas de elevado peso molecular, se hallen en mayor concentración a nivel de esta porción de suero que queda justo encima de los elementos formes, con lo que el PEFC tendrá una mayor concentración de éstas sustancias. Por otro lado, al emplearse sólo un tercio del suero obtenido, es necesario que el paciente al que deseamos tratar se someta a un mayor número de extracciones, o como hacen algunos autores extraer directamente 500 ml de sangre al sujeto (Alió 2007) en lugar de 250 ml como extraemos nosotros a nuestros pacientes para la preparación del SA.

Aunque es un tratamiento que se ha demostrado eficaz (Alió 2011, López- Plandolit 2010) y como ocurría en el caso del tratamiento con suero obtenido del cordón umbilical, se alcanzaría la regeneración tisular antes (entre 6-32 días) que con el SA por su mayor concentración en factores de crecimiento, el hecho de que no aporte ninguna otra sustancia distinta al SA, y que sea menor la cantidad de colirio obtenida a partir del mismo volumen de sangre, ha hecho que sea el SA el que se siga empleando mayoritariamente. Alió (2007), afirma que el plasma rico en plaquetas promueve la curación de las úlceras corneales persistentes y esto se acompañaba de una reducción del dolor y la inflamación. En ojos perforados, nosotros empleamos MA o pegamento de fibrina (Tissucol®) como oclisor, asociado a SA que aporta las citoquinas y factores de crecimiento que promueven el cierre de la úlcera. Alió utiliza como oclisor membrana amniótica y asocia plasma enriquecido en factores de crecimiento, obteniendo resultados algo inferiores a los nuestros, en su trabajo curan el 71% de los casos, mientras que en nuestro trabajo alcanzan la curación el 95%. Así

tras el tratamiento con SA en nuestro trabajo, ningún paciente presenta un defecto epitelial superior al grado I de la clasificación de Sotozono.

Por otro lado, Liu 2006 afirma que la proliferación celular epitelial es mejor estimulada por el concentrado de plaquetas, que por el suero autólogo y el plasma fresco congelado. Sin embargo la migración celular y la diferenciación son mejor con el suero que con el concentrado de plaquetas y el plasma fresco congelado. El efecto superior del SA en la migración celular puede ser atribuido a la alta concentración de fibronectina, cuya concentración es mínima en el concentrado de plaquetas. La fibronectina es una glicoproteína que soporta la adhesión celular y es un importante mediador de la migración celular (Liu 2006).

Actualmente, no existe ningún grupo de investigación que haya demostrado que este tratamiento sea más eficaz que el SA en cuanto a la resolución de lesiones a nivel corneal.

## **VII. CONCLUSIONES**



**CONCLUSIONES:****Del análisis de los resultados de nuestro trabajo, obtenemos las siguientes conclusiones:**

1. El tratamiento con SA consigue una mayor proporción de curaciones que el tratamiento convencional, siendo esta del 95,1% en el grupo de SA frente al 50% alcanzado en el grupo control. De los factores asociados estudiados en ambos grupos de tratamiento, sólo el tipo de úlcera influye de un modo significativo en la curación de las lesiones tróficas corneales.

2. Al analizar la curación de las úlceras tróficas en función del tiempo de tratamiento con SA, observamos que, en promedio, se requieren 175 días de tratamiento para alcanzar la curación. Además, las úlceras debidas a queratitis sicca, requieren un tiempo más prolongado de tratamiento que las úlceras debidas a causticaciones, úlceras inmunológicas y úlceras neurotróficas, para mantener la estabilidad de la superficie corneal, lo cual sugiere que los factores tróficos presentes en la película lagrimal y en el SA pudieran jugar un papel importante en la curación de úlceras corneales. Por otro lado, la extensión y la profundidad de la lesión influyen como factores independientes en la curación de la úlcera.

3. En cuanto a la necesidad de cirugía adicional, existen diferencias significativas entre ambos grupos, ya que el 65% de los pacientes tratados con terapia convencional precisaron cirugía reconstructiva para la estabilidad del proceso, frente al 30% de los pacientes tratados con SA. Por lo tanto, la terapia con SA disminuye la necesidad de cirugía reconstructiva, de modo que por cada tres pacientes tratados con SA, evitaríamos una cirugía.

4. En lo referente a la agudeza visual alcanzada por los pacientes tras el tratamiento, encontramos diferencias significativas entre ambos grupos, obteniendo una mejor agudeza visual aquellos pacientes que han sido tratados con SA, lo cual refuerza la idea de que el tratamiento con SA es eficaz en este tipo de patologías.

5. En cuanto a la presencia de efectos colaterales corneales analizados en el grupo de pacientes tratados con SA, observamos un mayor índice de neovascularización y conjuntivalización corneal, y una estabilización de la queratinización y de la opacificación corneal. Estas complicaciones no afectaron a la integridad estructural de la córnea.

Por todo ello, podemos concluir que el SA es superior a la terapia convencional en el tratamiento de lesiones tróficas corneales, alcanzando mayor número de curaciones y mejores resultados funcionales, junto con una reducción del coste del tratamiento ya que la necesidad de cirugía es menor.

## **VIII. BIBLIOGRAFÍA**



**Arffa RC.** Enfermedades epiteliales. In: Grayson. Enfermedades de la córnea. Madrid: Harcourt Brace; 1998:371-381.

**Adinolfi M, Akle CA, McColl I et al.** Expression of HLA antigens, beta 2-microglobulin and enzymes by human amniotic epithelial cells. *Nature* 1982; 295:325-327).

**Aitken D, Friend J, Thoft RA, Lee WR.** An ultrastructural study of rabbit ocular surface transdifferentiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1988 Feb;29(2):224-31.

**Akpek E, Lindsley K, Adyanthaya RS, Swawy R, Baer AN, McDonnell PJ.** Treatment of Sjögren`s Syndrome-associated dry eye and evidence-based review. *Ophthalmology* 2011; 118:1242-52.

**Alió JL, Abad M, Artola A, Rodríguez-Prats JL, Pastor S, Ruiz-Colecha J.** Use of autologous platelet-rich plasma in the treatment of dormant corneal ulcers. *Ophthalmology* 2007; 114:1286-1293.

**Alió JL, Arnalich-Montiel F, Rodríguez AE.** The role of “ eye platelet rich plasma”(E-Prp) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol.*2011.Jul 8 (Epub ahead of print).

**Alvarado Valero MC, Martínez Toldos JJ, Borrás Blasco J, Almiñana Almiñana A, Pérez Ramos JM.** Tratamiento de defectos epiteliales persistentes mediante suero autólogo. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2004; 79: 537-542.

**Álvarez MI, Rivas L, Rodríguez JJ, Carrillo M, Murube J.** Citología de impresión aplicada al diagnóstico de las conjuntivitis. *Arch Soc Esp Oftalmol,* 1996; 71: 437-444.

**Argimon Pallás JM, Jiménez Villa J.** Estudios experimentales I: el ensayo clínico aleatorio. In: Argimon Pallás JM, Jiménez Villa J; *Métodos de investigación clínica y epidemiológica.* Barcelona: Elsevier; 2009: 33-48.

**Ashok G.** Fisiopatología de la película lagrimal. In: Garg, Sheppard, Donnenfeld, Meyer, Mehta. Ojo seco y otros trastornos de la superficie ocular. Buenos Aires: Editorial Médica Americana; 2006:1-28.

**Augsten R, Dawczynski J, Voigt U, Oelzner P, Schulze E, Königsdörffer E.** Corneal ulcers in systemic autoimmunologic diseases. *Klin Monbl Augenheilkd* 2011; 228(1): 66-9.

**Assouline M.** Neurophysiologie épithélial. In: Rigal D (ed). L'épithélium cornéen. Rapport de la Soc Fr Ophthalmol. Masson, Paris, 1993; 28-40.

**Azuara-Blanco A, Pillai CT, Dua HS.** Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Br J Ophthalmol.* 1999 Apr; 83(4):399-402.

**Bachmann B, Taylor RS, Cursiefen C.** The association between corneal neovascularization and visual acuity: a systematic review. *Acta Ophthalmol* 2011 Nov [Epub ahead of print].

**Batten KL.** Causes of enucleation as seen in Jerusalem. *Br J Ophthalmol* 1971; 55:174-6.

**Benezra D.** Aspectos clínicos. IN: Benezra D, Alió JL, Baudouin C, Beharcohen F, Dua H, Donshik P, et al. Inflamación en la superficie ocular. Guías de diagnóstico y tratamiento. Editorial Glosa. Barcelona. 1<sup>a</sup> Ed. 2004:7-29.

**Behrens A, Doyle JJ, Stern L et al.** Dysfunctional tear syndrome. A Delphi approach to treatment recommendations. *Córnea* 2006; 25:90-7

**Bonini S, Lambiase A, Rama P, Caprioglio G, Aloe L.** Topical treatment with nerve growth factor for neurotrophic keratitis. *Ophthalmology.* 2000 Jul; 107(7):1347-51.

**Bonini S, Rama P, Olzi D, Lambiase A.** Neurotrophic keratitis. *Eye (Lond)* 2003; 17(8): 989-95.

**Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, Mathews J, Leake K, Bell J.** Factors affecting evaporation rates of tear film components measured in vitro. *Eye Contact Lens.*2009; 35(1): 32-7.

**Bradley J, Simoni J, Badley RH, McCartney DL, Brown SM.** Time and temperature-dependent stability of growth factor peptides in human autologous serum eye drops. *Córnea* 2009; 28:200-205

**Brown AJ, Asbell P, Barabino S, Baudouin Ch, Donnemfeld E, Geerling G, Schaumberg DA.** The current understanding of dry eye disease. A supplement *Eurotimes* July/August 2011: 1-11.

**Boudreau N, Sympson CJ, Werb Z, Bissell MJ.** Suppression of ICE and apoptosis in mammary epithelial cells by extracellular matrix. *Science* 1995; 267:891-893.

**Brown MS, Lambert DW, Reid T et al.** Neurotrophic and anhidrotic keratopathy treated with substance P and insulinlike growth factor 1. *Arch Ophthalmol* 1997; 115: 926-927

**Cambiase A, Rama P, Bonini S, Caprioglio G, Aloe L.** Topical treatment with nerve growth factor for corneal neurotrophic ulcers *NEJM* 1998; 338: 1174-80.

**Carpenter G, Cohen S.** EGF Receptor in interactions and the stimulation of cell growth. In: Sevier B. *Receptor regulation.* Icfkowitz: Champan and Hall. 1981 (13): 41.

**Cavanagh HD, Colley AM.** The molecular basis of neurotrophic keratitis. *Acta Ophthalmol Suppl* 1989; 192:115-134.

Chen JJ, Rao K, Pflugfelder SC. Corneal epithelial opacity in dysfunctional tear syndrome. *Am J Ophthalmol* 2009 Sep; 148(3):376-82.

**Chen YT; Nikulina k, Lazarev S et al.** Interleukin-1 as a phenotypic immunomodulator in keratinizing squamous metaplasia of the ocular surface in Sjögren's syndrome. *Am H Pathol* 2010; 177(3):1333-43).

**Chen WYW, Mui MM, Kao WW, Liu CY, Tseng SC.** Conjunctival epithelial cells do not transdifferentiate in organotypic cultures: expression of K-12 keratin is restricted to corneal epithelium. *Curr Eye Res* 1994; 13:765-778.

**Chiang CC, Lin JM, Chen WI, Tsai YY.** Allogenic serum eye drops for the treatment of severe dry eye in patients with chronic graft versus- host disease. *Córnea* 2007 Aug; 26 (7):861-3.

**Chiang CC, Lin JM, Chen WI, Tsai YY.** Allogenic serum eye drops for the treatment of persistent corneal epithelial defect. *Eye (Lond)* 2009 Feb; 23(2):290-3.

**Choi TH, Tseng SC.** In vivo and in vitro demonstration of epithelial cell-induced myofibroblast differentiation of keratocytes and an inhibitory effect by amniotic membrane. *Córnea* 2001; 20:325-334.

**Cortina MS, He J, Li N, Bazan NG, Bazan HE.** Recovery of corneal sensitivity, calcitonin gene-related peptide-positive nerves, and increased wound healing induced by pigment epithelial-derived factor plus docosahexaenoic acid after experimental surgery. *Arch Ophthalmol* 2012; 130:76-83.

**Creuzot-Garcher C.** Surface oculaire pharmacocinétique. *J Fr Ophtalmol* 2007; 30: 410-3.

**Dartt D. A.** Neural regulation of lacrimal gland secretory processes: relevance in dry eye diseases. *Prog Retin Eye Res.* 2009; 28(3): 155-77.

**Díaz-Valle D, Benítez del Castillo JM, Díaz-Rodríguez E, Toledano-Fernández N, Arteaga –Sánchez A, Sayagués-Gómez O.** Manejo de la queratopatía neurotrófica mediante tarsorrafia con cianoacrilato y suero autólogo. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2003; 78:119-122.

**Dua HS.** The conjunctiva in corneal epithelial wound healing. *Br J Ophthalmol* 1998; 82:1407-1411.

**Dua HS; Miri A, Said DG.** Contemporary limbal stem cell transplantation- a review. *Clin Experiment Ophthalmol* 2010; 38(2):104-17.

**Dua HS, Miri A, Alomar T, Yeung AM, Said DG.** The role of limbal stem cells in corneal epithelial maintenance. Testing de dogma. *Ophthalmology* 2009; 116:856-863.

**Dulanto F, Armijo M.** Anatomía y fisiología de la piel. I. Dermis y anejos. In: Dulanto F, Armijo M, Camacho-Martínez F, naranjo R. *Dermatología médico-quirúrgica.* Anel: Granada: 1981:1-32.

**Eberle JH, Gurtler LF.** HIV-1 infection transmitted by serum droplets into the eye: a case report *AIDS.* 2000; 14(2): 206-7.

**Edelhauser HF, Ubels JL.** Córnea y esclerótica. In: Kaufman PL, Alm A. *Adler Fisiología del ojo. Aplicación clínica.* Madrid: Elsevier; 2004: 47-114.

**Fatima A, Iftekhar G, Sangwan VS, Vemuganti GK.** Ocular surfaces in limbal stem cell deficiency caused by chemical injury: a histologic study of excised pannus from recipients of cultured corneal epithelium. *Eye* 2008; 22:1161-67.

**Fernández García AI, Balado Vázquez P.** Queratopatía neurotrófica y suero antológico. Nuevas perspectivas en su tratamiento. Boletín de la Sociedad oftalmológica de Madrid 2006; N<sup>o</sup> 46.

**Ferreira de Souza R, Kruse FE, Seitz B.** Autologous serum for otherwise therapy resistant corneal epithelial defects – Prospective report on the first 70 eyes. Klin Monatsbl Augenheilkd 2001; 218: 720-6.

**Figuroa Ortiz LC, García Campos J, Jiménez Rodríguez E.** Estudio de los tests de secreción lagrimal y de la citología conjuntival en pacientes diabéticos. Oculística Andaluza 2009; 1(13): 19-27.

**Fox RI, Chan R, Michelson JB et al.** Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. Arthritis Rheum. 1984; 27: 459-461.

**Fox RI, Stern M, Michelson P.** Update in Sjögren syndrome. Curr Opin Rheumatol 2000 Sep; 12(5):391-8.

**Freegard TJ.** The physical basis of transparency of the normal córnea. Eye 1997; 11465-471.

**Gabler B, Lohmann CP.** Hypopyon after repeated transplantation of human amniotic membrane onto the corneal surface. Ophthalmology 2000; 107: 1344-1346.

**García Jiménez V, Veiga Villaverde B, Baamonde Arbaiza B, Cahue Carpintero I, Celemin Vinuela ML, Simo Martínez RM.** The elaboration, use and evaluation of eye drops with autologous serum in corneal lesions. Farm Hosp 2003; (27): 21-25.

**García-Serrano JL, García-Robles P, Sánchez-Merino C, Rodríguez-Escobar JJ.**

Comunicación corta. Reparación de ampolla filtrante postrabeculectomía con injerto de conjuntiva y membrana amniótica. Arch Soc Esp Oftalmol 2011; 86(8):260-263.

**García-Serrano JL, Muñoz-Ávila JI, Domínguez-Hidalgo IC, Auriguiberry-**

**González FJ, Sánchez-Merino C, García-Robles P.** Causticación por Sulfumán.

Tratamiento con suero autólogo y trasplante de membrana amniótica. In: Casos Clínicos en superficie ocular. II Certamen. Editorial Glosa: Barcelona. 2008:31-34.

**Geerling G, MacLennan S et al.** Autologous serum eye drops for ocular surface

disorders.Br J Ophthalmol. 2004; 88(11): 1467-74.

**Geremica W, Fonte C, Becchio S.** Blood components for topical use in tissue

regeneration: evaluation of corneal lesions treated with platelet lysate and considerations on repair mechanisms. Blood Transfus. 200: 8(2):107-12.

**Gueudry J, Richez F, Tougeron-Brousseau B, Genevois O, Muraine M.**

Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. J Fr Ophtalmol 2010 Nov; 33(9):630-6.

**Goulart Quinto G, Campos M, Behrens A.** Autologous serum for ocular surface

diseases. Arq Bras Oftalmol 2008; 71(6): 47-54.

**Hamrah P, Cruzat A et al.** Corneal sensation and subbasal nerve alterations in

patients with herpes simplex keratitis: an in vivo confocal microscopy study. Ophthalmology 2010; 117(10): 1930-6.

**Harloff S, Hartwig D et al.** Epitheliotropic capacity of serum eye drops from healthy

donors versus serum from immunosuppressed patients with rheumatoid arthritis. Klin Monbl Augenheilkd 2008; 225(3): 200-6.

**Herrero- Vanrell R, Molina- Martínez I.** Suero Antólogo en el tratamiento del síndrome de ojo seco. Aspectos técnicos. Arch Soc Esp Oftalmol 2008. 83 (9): 521-3.

**Hori Y, Spurr-Michaud S et al.** Differential regulation of membrane-associated mucins in the human ocular surface epithelium. Invest Ophthalmol Vis Sci 2004; 45(1): 114-22.

**Hu VH, Weiss HA, Massae P, Courtright P, Makupa W, Mabey DC, Balley RL, Burton MJ.** In vivo confocal microscopy in scarring trachoma. Ophthalmology 2011; 118: 2138-46.

**Jeng BH, Dupps WJ.** Autologous serum 50% eyedrops in the treatment of persistent corneal epithelial defects. Córnea 2009; 28(10): 1104-8.

**Kim JH, Chung HK, Lee MJ, Khwarg SL.** The effect of autologous serum eye drops (AS) in enhancing conjunctivalization over a sclera patch graft on exposed porous polyethylene orbital implant (Medpor®) in the rabbit model. Orbit 2011;30(2):83-7.

**Kinan T, Sargent N.** Enucleation and evisceration in the Palestian territories. East Afr J Ophthalmol 2011; 18(2):170-172.

**Knop E, Knop N.** Local production of secretory IGA in the eye-associated lymphoid tissue (EALT) of the normal human ocular surface. IOVPS 2008; 49(6): 2322-29.

**Knop E, Knop N.** The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection. J Anat 2005; 206: 271-285.

**Koizumi NJ, Inatomi TJ, Sotozono CJ, Fullwood NJ, Quantock AJ, Kinoshita S.** Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. Córnea 2000; 19:348-352.

**Kojima T, Higuchi A et al.** Autologous serum eye drops for the treatment of dry eye diseases. *Córnea*. 2008; 27 Suppl 1: S25-30.

**Kojima T, Ishida R, Dogru M, Goto E, Matsumoto Y, Kaido M, Tsubota K.** The effect of autologous serum eye drops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. *Am J Ophthalmol* 2005; 139(2): 242-246.

**Krachmer JH.** Manifestaciones corneales de enfermedades y tratamientos sistémicos. In: Krachmer JH, Palay DA. *Atlas de la córnea*. Elsevier: Barcelona: 2<sup>a</sup> ed. 2008:103-141.

**Kurpakus MA, Stock EL, Jones JCR.** The role of basement membrane in differential expression of keratin proteins in epithelial cells. *Dev Biol* 1992; 150:243-255.

**kyung-chul Y, Hwan H, Seong-kyu IM, In-cheon Y, Yoon-Ha K Yeoung-Geol P.** Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2007; 144:86-92.

**Kruse FE, Chen JJ, Tsai RJ, Tseng SC.** Conjunctival transdifferentiation is due to the incomplete removal of limbal basal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31:1903-1913.

**Ladas JG, Mondino BJ.** Systemic disorders associated with peripheral corneal ulceration. *Curr Opin Ophthalmol*. 2000; 11(6): 468-71.

**Lambiase A, Micera A, Sacchetti M, Cortes M, Mantelli F, Bonini S.** Alterations of tear neuromediators in dry eye disease. *Arch Ophthalmol* 2011; 129(8):981-986.

**Latkany R.** Ojo Seco y agudeza visual. In: Garg. Sheppard. Donnefeld. Meyer. Mehta. *Ojo Seco y otros trastornos de la superficie ocular*. Buenos Aires: Editorial médica Panamericana. 1<sup>a</sup> ed. 2008: 248-252.

**Le QH, Wang WT et al.** An in vivo confocal microscopy and impression cytology analysis of goblet cells in patients with chemical burns. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(3): 1397-400.

**Lee GA, Chen SX.** Autologous serum in the management of recalcitrant dry eye syndrome. *Clin Experiment Ophthalmol* 2008; 36(2):119-22.

**Leonard P, Ang D, Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, Koizumi N, Yokoi N, Kinoshita S.** Autologous Serum-Derived cultivated oral epithelial transplants for severe ocular surface disease. *Arch Ophthalmol* 2006; 124:1543-1551.

**Li Z, Zhao M, Ke N.** Amniotic membrane transplant using fibrin glue for the treatment of deep layer corneal damage. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2011 Apr; 47(4):342-6)

**Liu L, Hartwig D, Harloff S, Herminghaus P, Wedel T, Kasper K, Geerling G.** Corneal epitheliotropic capacity of three different blood-derived preparations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47:2438-44.

**Liu S, Richards SM, LO K, Hotton M, Fay A, Sullivan DA.** Changes in gene expression in human meibomian gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(5):2727-40.

**López-García JS, García-Lozano I et al.** Use of autologous serum in ophthalmic practice. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2007; 82(1): 9-20.

**López-García JS, Murube del Castillo J.** Suero autólogo y derivados hemáticos en oftalmología. Oviedo: Sociedad Española de Oftalmología. 2011.

**López-García JS, Rivas L, García-Lozano I.** Determinación del grado de metaplasia escamosa del epitelio corneal como factor diagnóstico de insuficiencia limbal. *Arch Soc Esp Oftalmol* May 2006; 81(5): 281-8.

**López-Plandolit S, Morales MC, Freire V, Etxebarria J, Durán JA.** Plasma rich in growth factors as a therapeutic agent for persistent corneal epithelial defects. *Córnea* 2010; 29(8):843-8.

**Maddula Suredda Dabis D, Maddula Soumya, Burrow MK, Ambati BK.** Horizons in therapy for corneal angiogenesis. *Ophthalmology* 2011; 118: 591-598.

**Malavazzi GR, Lake JC et al.** Effect of honey and autologous serum on corneal epithelial healing in rabbits. *Arq Bras Oftalmol* 2005; 68(3): 347-51.

**Mavrakanas NA, Kiel R et al.** Autologous serum application in the treatment of Mooren's ulcer. *Klin Monbl Augenheilkd* 2007; 224(4): 300-2.

**Matsuo H, Tomidokoro A, Tomita G, Araie M.** Topical Application of autologous serum for the treatment of late-onset aqueous oozing or point-leak through filtering blebs. *Eye* 2005; 19(1):23-8.

**McNamara NA.** Molecular mechanisms of keratinizing ocular surface disease. *Optom Vis Sci* 2010; 87:233-8.

**Nishida T, Nakamura M, Ofuji K, Reid TW, Mannis MJ, Murphy CJ.** Synergistic effects of substance P with insulin-like growth factor-1 on epithelial migration of the cornea. *J Cell Physiol* 1996 Oct; 169(1):159-66.

**Nishida T, Yanai R.** Advances in treatment for neurotrophic keratopathy. *Curr Opin Ophthalmol* 2009; 20(4): 276-81.

**Noble BA, Loh RS et al.** Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomized controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol* 2004; 88(5): 647-52.

**Partal A, Scott E.** Low-cost protocol for the production of autologous serum eye drops by blood collection and process in centres for the treatment of ocular surface diseases. *Transfus Med* 2011; 21(4):271-7.

**Peris C.** Trasplante de membrana amniótica en la reconstrucción de la superficie ocular. Valencia: Universidad de Valencia. 2004.400pp. Tesis Doctoralis.

**Peris C, Menezo JL.** Membrana Amniótica y superficie ocular. Edit. Mac Line. Valencia 2004:9-37.

**Phasukkijwatana N, Lertrit P, Liammongkolkul S, Prabhasawat P.** Stability of epitheliotropic factors in autologous serum eye drops from chronic Stevens-Johnson Syndrome dry eye compared to non-autoimmune dry eye. *Curr Eye Res* 2011 Sep; 36(9):775-81.

**Poom AC, Geerling G et al.** Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol* 2001; 85(10): 1188-97.

**Quinto G, Campos M, Behrens A.** Autologous serum for ocular surface diseases. *Arq Bras Oftalmol* 2008; 71(6): 47-54.

**Rantamaki AH, Telenius J et al.** Lessons from the biophysics of interfaces: Lung surfactant and tear fluid. *Prog Retin Eye Res* 2011; 30(3): 204-15.

**Rasmussen ML, Prause JU, Johnson M, Kamper-Jørgensen F, Toft PB.** Review of 345 eye amputations carried out in the period 1996-2003, at Rigshospitalet, Denmark. *Acta Ophthalmol* 2010 Mar; 88(2):218-21.

**Rigal-Sastourne JC, Txier JM, Renard JP, Mauri JF, Pouliquen Y, Legeais Jm.** Corneal burns and matrix metalloproteinases (MMP-2 and -9): the effects of human amniotic membrane transplantation. *J Fr Ophtalmol* 2002; 25:685-693.

**Rucker CW.** Keratitis sicca. Report of a case. Arch Ophthal 1938; 19:584-5.

Salman IA, Gündoğru C. Epithelial healing in experimental corneal alkali wounds with nondiluted autologous serum eye drops. Cutan Ocul Toxicol 2010; 29(2):116-121.

**Sangwan VS.** Limbal stem cells in health and disease. Biosci Rep 2001; 21(4):385-405.

**Sanz-Marco E, Lopez-Prats MJ, García-Delpech S, Udaondo P, Díaz-LLopis M.** Fulminant bilateral Haemophilus influenzae Keratitis in a patient with hipovitaminosis A treated with contaminated autologous serum. Clin Ophthalmol 2011 Jan 11; 5:71-3.

**Satake Y, Higa K, Tsubota K, Shimazaki J.** Long-term outcome of cultivated oral mucosal epithelial sheet transplantation in treatment of total limbal stem cell deficiency. Ophthalmology 2011 Aug; 118(8):1524-30.

**Schrader S, Wedel T, Moll R, Geerling G.** Combination of serum eye drops with hydrogel bandage contact lenses in the treatment of persistent epithelial defects. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2006; 244 (10):1345-9.

**Schulze S D, Sekundo W et al.** Autologous serum for the treatment of corneal epithelial abrasions in diabetic patients undergoing vitrectomy. Am J Ophthalmol 2006; 142(2): 207-11.

**Sharma N, Goel M, Velpandian T, Titiyal J, Tandon R, Vajpayee R.** Evaluation of umbilical cord serum therapy in acute ocular chemical burns. Invest Ophthalmol Vis Sci 2011; 52:1087-92.

**Shimmura S, Shimazaki J, Ohashi Y, Tsubota K.** Antiinflammatory effects of amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders. Cornea 2001; 20:408-413.

**Sigurdsson H, Thórisdóttir S, Björnsson JK.** Enucleation and evisceration in Iceland 1964-1992. Study in a defined population. *Acta Ophthalmol Scand* 1998 Feb; 76(1):103-7.

**Skeens HM, Brooks BP, Holland EJ.** Congenital aniridia variant: minimally abnormal irides with severe limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 2011; 118:1260-4.

**Sotozono C, Ang LP et al.** New grading system for the evaluation of chronic ocular manifestations in patients with Stevens-Johnson syndrome. *Ophthalmology* 2007; 114(7): 1294-302.

**Stephan D.** Autologous Serum for the treatment of corneal epithelial abrasions in diabetic patients undergo vitrectomy. *Am J Ophthalmol* 2006; 142: 207- 211.

**Stevenson W, Chauhan SK, Dana R.** Dry eye disease. An immune-mediated ocular surface disorder. *Arch Ophthalmol* 2012; 130:90-97.

**Sugioka k, Yoshida k, kodama A et al.** Connective Tissue Growth factor cooperates with fibronectin in enhancing attachment and migration of corneal epithelial cells. *Tohoku J Exp Med* 2010; 222: 45-50.

**Suryawanshi A, Mulik S, Sharma S, Reddy PB, Sehrawat S, Rouse BT.** Ocular neovascularization caused by herpes simplex virus type 1 infection results from breakdown of binding between vascular endothelial growth factor A and its soluble receptor. *J Immunol* 2011 Mar 15; 186(6): 3653-65.

**Talmi YP, Sigler L, Inge E.** Antibacterial properties of human amniotic membranes. *Placenta* 1991; 12: 285-288.

**Tananuvat N, Daniell M, Sullivan LJ, Yi Q, Mckelvie P, McCarty DJ et al.** Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients. *Córnea* 2001; 20(8):802-6.

**Tandon A, Tovey JC, Sharma A, Gupta R, Nohan RR.** Role of transforming growth factor Beta in corneal fuction, biology and pathology. *Curr Mol Med* 2010; 10(6):565-78.

**Thoft RA.** The role of the limbus in ocular surface maintenance and repair. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1989; 192:91-4. Review.

**Toshida H, Nguyen DH et al.** Evaluation of novel dry eye model: preganglionic parasympathetic denervation in rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(10): 4468-75.

**Tseg SC, Prabhasawat P, Lee SH.** Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol* 1997; 124: 765- 774.

**Tsubota k, Goto E, Fujita H, Ono M, Inoue H, Saito I, et al.** Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjögren´s syndrome. *Br J Ophthalmol* 1999; 83:390-395.

**Tsubota K, Goto E, Shimmura E, Shimazaki J.** Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology*1999; 106(10): 1984-9.

**Unterlauff JD, Kohlhaas M, Hofbauer I, Kasper K, Geerling G.** Albumin eye drops for treatment of ocular surface diseases. *Ophthalmologe* 2009 Oct; 106(10):932-7).

**Wakamatsu TH, Sato EA, Matsumoto Y, Ibrahim OM, Dogru M, Kaido M, Ishida R, Tsubota K.** Conjunctival in vivo confocal scanning laser microscopy in patients with Sjögren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(1):144-50.

**Watanabe H.** Significance of mucin on the ocular surface. *Córnea* 2007; 21(2 Suppl 1): 17-22.

**Watson SL, Secker GA et al.** The effect of therapeutic human serum drops on corneal stromal wound-healing activity. *Curr Eye Res* 2008; 33(8): 641-52.

**Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP.** Corneal blindness: a global perspective. *Bull World Health Organ* 2001; 79: 214-21.

**Yoon KC, You IC, Im SK, Jeong TS, Park YG, Choi J.** Application of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of neurotrophic keratitis. *Ophthalmology* 2007; 114:1637-1642.

**Yu J, Asche CV, Fairchil CJ.** The Economic Burden of Dry Eye Disease in the United States: A Decision Tree Analysis. *Córnea* 2010 Oct 28 [Epub ahead of print].

**Zanati H, Faure R, Díaz Cominches G.** El factor de crecimiento epidérmico (EGF). Su aplicación en la córnea. *Rev Cubana Oftalmol* 1997; 120(1-2):39-44.

**Zlakas NG, Boboridis KG, Terzidou C, Naoumidi TL, Mikropoulos D, Georgiadou EN et al.** Long-term follow up of autologous serum treatment for recurrent corneal erosions. *Clin Experiment Ophthalmol* 2010; 38(7):683-7.

**Zoukhri D.** Effect of inflammation on lacrimal gland function. *Exp Eye Res* 2006; 82(5): 885-98.

## **IX. ANEXOS**



**ANEXO 1:****CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TRATAMIENTO CON SUERO AUTOLOGO**

D/D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_ en calidad de paciente o su representante legal, con DNI n. ° \_\_\_\_\_, manifiesto haber sido informado por el Dr./Dra. \_\_\_\_\_ de los siguientes aspectos, en relación al tratamiento que voy a someterme, como es legalmente preceptivo (art. 4, 8,9 y 10 de Ley 41/2002).

**A) ADMINISTRACIÓN DE SUERO AUTOLOGO PARA TRATAMIENTO DE ULCERAS Y LESIONES DEL POLO ANTERIOR:**

En la córnea y en la conjuntiva a veces se producen lesiones por falta de trofismo (úlceras), por insuficiencia limbar (incapacidad de las células madre regeneradoras) o por defectos epiteliales persistentes. En la causticaciones y en las enfermedades reumáticas o de naturaleza inmunológica se produce una acción colagenolítica que impide la cicatrización y curación córneo-escleral.

En estos procesos y otros muchos más, se ha visto que la sangre del propio paciente aporta elementos que ayudan a la cicatrización y curación córnea (vitamina A, Factor de desarrollo neuronal, fibronectina que favorece la epitelización, sustancias con capacidad anticolagenolítica y factores como la sustancia PP que facilitan la migración epitelial). Por todo ello en casos rebeldes a una curación ulcerosa y trófica, se esta empleando el suero del paciente preparado en forma de colirio para aportar los elementos necesarios para una mejor cicatrización córnea.

Sin embargo la sangre es un producto biológico y el paciente puede tener enfermedades que desconozca y que puede transmitirse en la administración o la manipulación del colirio a personas cercanas. Por ello antes de la preparación del colirio Ud. ha de dar su autorización para que se le realicen unos análisis para comprobar que no padece infección por: Hepatitis B, C, virus VIH, sífilis y otros. Si se encontrará alguna infección no se le podría preparar el suero.

- b. Sí no se encontrara infección, se le prepararía el suero autologo. Sin embargo el suero no lleva conservantes y ha de mantenerse siempre refrigerado para evitar que se pueda contaminar (de 3 a 7º grados en refrigerador normal). Cuidar la manipulación, lavarse las manos y si cae alguna gota de suero en algún objeto limpiar con lejía. Comprobar siempre que el etiquetado del colirio corresponde a su nombre (los colirios van etiquetados y personalizados)

**RIESGOS Y COMPLICACIONES TÍPICAS**

Las complicaciones que se pueden presentar:

2. **Derivados de la propia extracción de sangre:** Lipotimias, mareos, flebitis, hematomas. 2. **Derivados de la administración del colirio:** a. **Infecciones al propio paciente:** del 3 al 5% de los pacientes (el colirio no tiene conservantes).
  - b. **Infecciones al cuidador:** El colirio solo puede ser administrado al paciente. Existe riesgo de que en la manipulación se puedan transmitir

enfermedades contagiosas. El mismo riesgo que en la manipulación de sangre, riesgo probablemente inferior al 1/1000.

- c. **Confusiones en la manipulación:** Adjuntar siempre informe oftalmológico a la hora de recoger los colirios.
- d. **Complicaciones graves:** como vasculitis y pérdida de grosor escleral ha sido descrito en pacientes con artritis reumatoide, riesgo probable inferior a 1/500
- e. **Complicaciones leves:** con frecuencias entre alrededor del 1%, Disconfort, epiteliopatía y eczema.

### RIESGOS ATÍPICOS

Aunque el colirio de suero autólogo se viene administrando desde hace 2 años en nuestro Servicio y más de 4 años en otros servicios, no hay casuística suficiente para conocer todos los riesgos.

Aún así, al ser un tratamiento que ha producido muy buenos resultados en muchos ojos avocados a la perforación, o/a intervenciones quirúrgicas complejas con pobre resultado. Seguimos indicándolo para estos casos, porque ayuda a la curación de algunos casos complejos, con restauración parcial o completa de la visión.

Por lo tanto, **Declaro:**

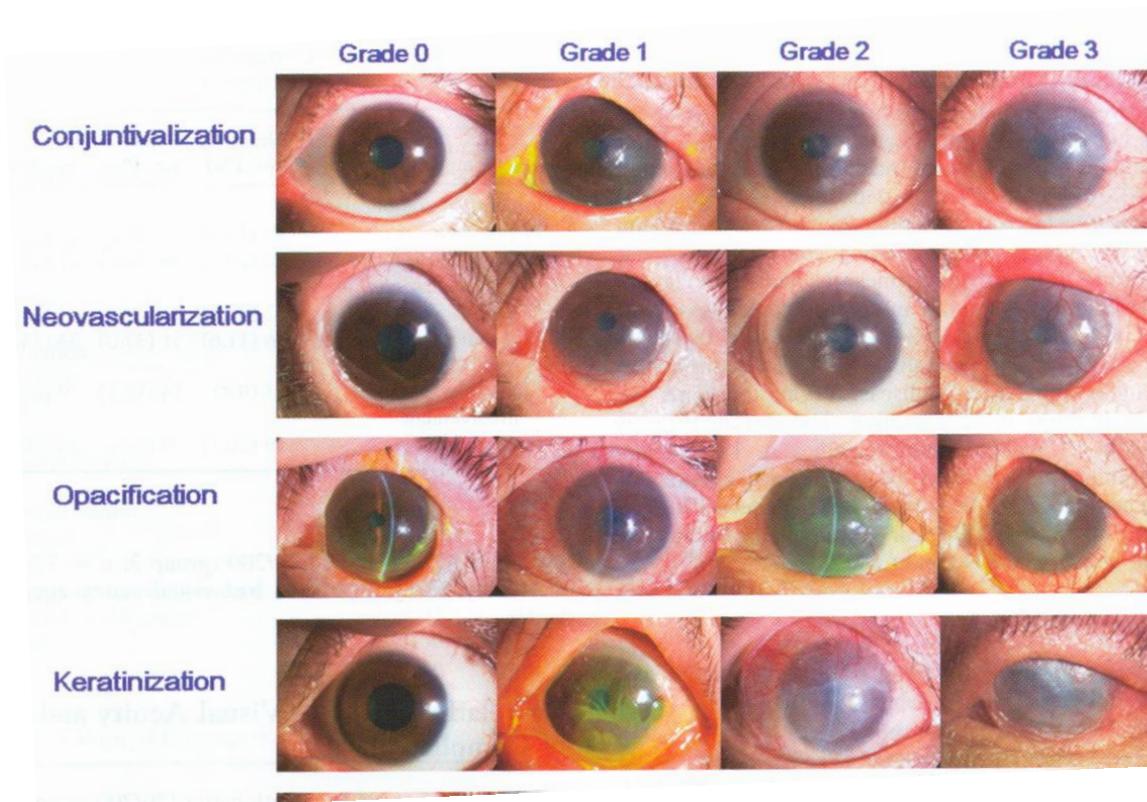
1. **Que he sido informado con suficiente anticipación**, del tratamiento que voy a aplicar como para poder comprender, sopesar y meditar todos estos aspectos, pudiendo plantear a los médicos las preguntas o dudas que he considerado oportunas.
2. Que soy plenamente consciente de que voy a recibir este tratamiento, y como tal, **no existen garantías absolutas de éxito**, asumiendo el riesgo de las eventuales complicaciones inherentes a dicha técnica y de las que he sido convenientemente informado.
3. Que he comprendido perfectamente la información recibida y **libremente doy mi consentimiento** a este equipo de Oftalmología del Hospital Clínico para que se me aplique el tratamiento mencionado.

En Granada a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200

Firma del Oftalmólogo

Firma del paciente o su representante

**ANEXO 2: CLASIFICACIÓN DE SOTOZONO ( 2008):**



**ANEXO 3: TABLA PARA CLASIFICACIÓN DE CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN**

VARIABLES	SI	NO
MUESTRA VALORABLE (<50 cel. Epiteliales)		
CEL. EPITELIALES  - Escamosas - Metaplasia - Displasia - Hiperplasia		
CEL. CALICIFORMES  - nº adecuado - presencia en córnea		
CEL. INFLAMATORIAS  -PMN  - Eosinófilos  - Linfocitos  -Mastocitos		
NECROSIS		
MITOSIS		
ALT. PORCENTAJE CEL EPITELIALES/INFLAMATORIAS		

**ANEXO IV: CASOS CLÍNICOS REPRESENTATIVOS:**

Los pacientes seleccionados en nuestro estudio para ser sometidos a tratamiento con suero autólogo (81 casos), podemos dividirlos en tres grandes grupos en función de la etiología de la úlcera corneal que presentaban, como describíamos en el apartado de resultados:

- Queratitis sicca o síndrome de ojo seco severo (17 pacientes)
- Úlceras neurotróficas (49 pacientes)
- Causticaciones o lesiones inmunológicas (15 pacientes)

En este apartado, hemos realizado una descripción exhaustiva de los casos clínicos más significativos de los distintos grupos. Aportamos para ello el material iconográfico necesario para poder analizar la evolución de estas patologías de manera detallada, con el tratamiento con SA. Asimismo, mostraremos los cambios histológicos acontecidos en estos pacientes, en aquellos casos en los que ha sido posible realizar citología de impresión.

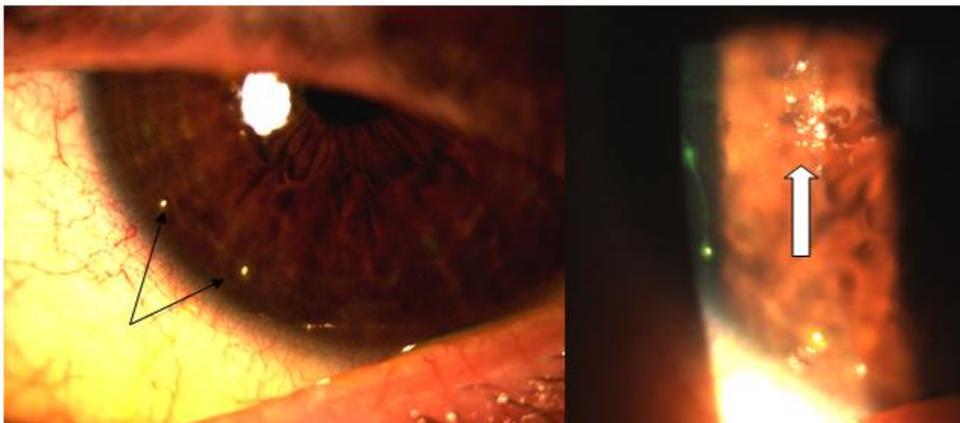
**1.- QUERATITIS SICCA:**

Entre los pacientes tratados por queratitis sicca, la mayoría refieren una mejoría subjetiva de la clínica a partir de las 48 horas de haber iniciado el tratamiento. En este grupo, encontramos un amplio abanico de afectación funcional y sintomatológica. Así podemos diferenciar, desde casos de pacientes con sintomatología de ojo seco (hiperemia, sensación de cuerpo extraño, sequedad, etc.) con alteración funcional por la aparición de queratitis punctata (pequeños defectos epiteliales corneales que alteran parcialmente la función óptica de la córnea). Otros casos, en los que la alteración de la película lagrimal era mayor y mostraban defectos epiteliales que producían una sintomatología más intensa (dolor, fotofobia, hiperemia, etc), y que en algunos casos conducían a una alteración en la función visual, dependiendo de que la

lesión afectara o no al eje visual. En este grupo de pacientes también existen algunos casos con importante alteración funcional por la desestructuración de la superficie corneal debido a defectos epiteliales que alcanzan una mayor profundidad, originando leucomas, e incluso llegando a producir perforaciones oculares. A continuación exponemos algunos casos clínicos característicos de esta patología que fueron tratados con SA.

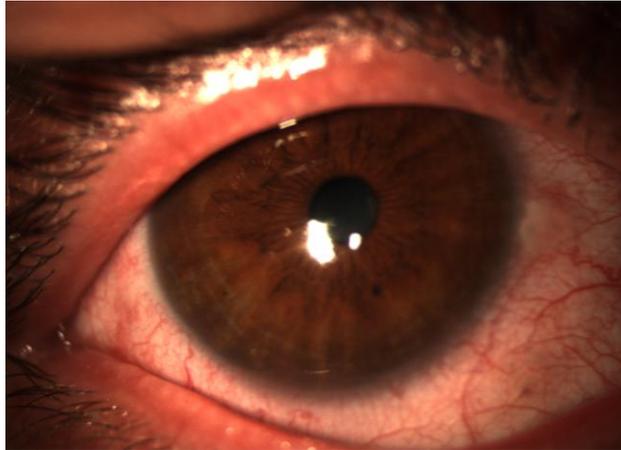
- CASO 1:

Mujer de 41 años afecta de síndrome de ojo seco severo. Acudió a la consulta presentando queratitis filamentosa junto con defectos epiteliales puntiformes que limitaban mucho su actividad cotidiana por visión borrosa y por referir intensa fotofobia. Se inició tratamiento con SA ante la falta de resultados con tratamiento convencional (lubricantes artificiales). La paciente refería una mejoría subjetiva en las primeras 48h tras el comienzo del tratamiento. Nosotros objetivamos la desaparición de filamentos mucosos y de queratitis punctata tras un mes de tratamiento.



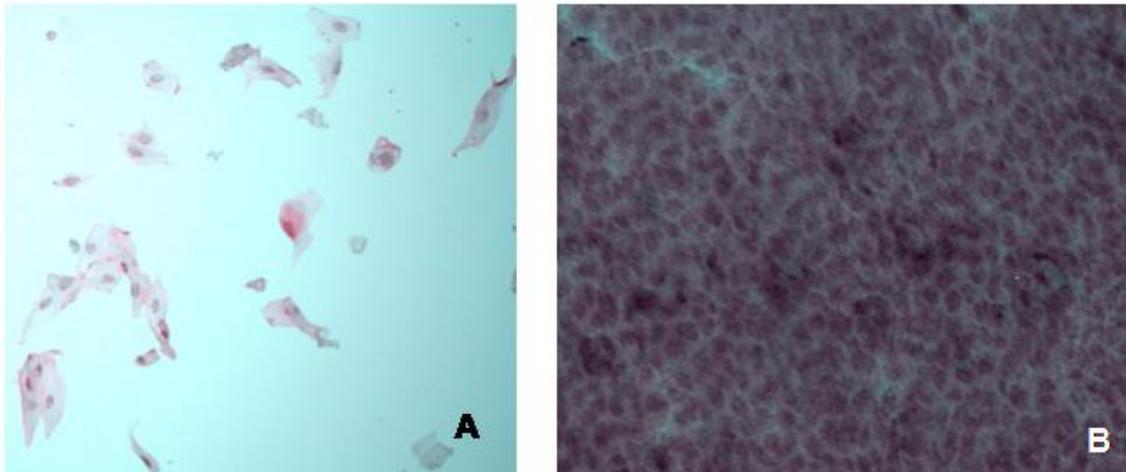
**Figura 1.** Se aprecia hiperemia conjuntival con filamentos mucosos junto al limbo (flecha). Existen mínimos defectos epiteliales que captan fluoresceína (flecha blanca).

Tras realizar el tratamiento con SA, vemos como han desaparecido los defectos epiteliales y los filamentos mucosos. Aunque persiste cierta hiperemia conjuntival, la paciente manifiesta una importante mejoría clínica con ausencia total de fotofobia (figura 2).



**Figura 2.** Aspecto de la superficie ocular de la paciente anterior tras resolución de las lesiones con el tratamiento con SA. Córnea con brillo en espejo sin defectos epiteliales ni filamentos mucosos. Hiperemia conjuntival.

También realizamos a esta paciente citología de impresión, previa al inicio del tratamiento con suero autólogo, y una nueva toma, tras completar el tratamiento con el mismo.

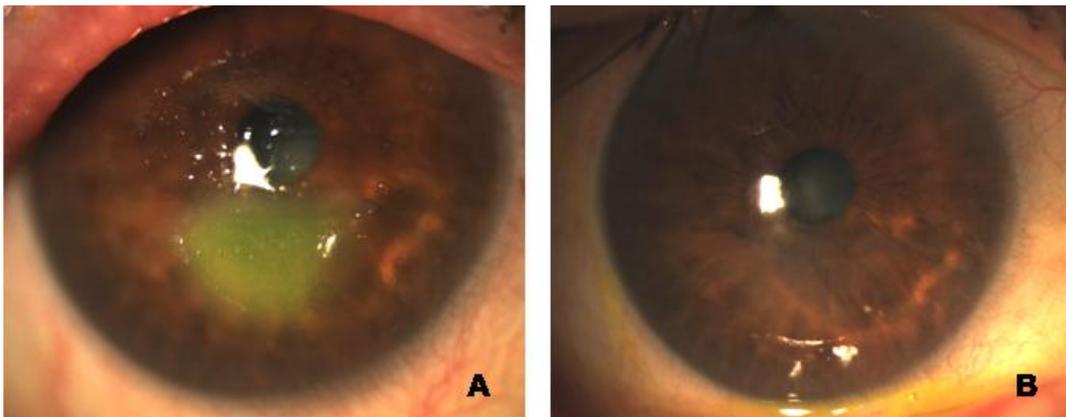


**Figura 3.** (A) En esta imagen de citología de impresión se aprecia un epitelio escamoso, no uniforme. (B) Tras realizar tratamiento con suero autólogo, aparece un epitelio con células cohesivas, sin metaplasia.

- CASO 2:

Mujer de 60 años, que tras la menopausia empieza a tener problemas marcados de síndrome de ojo seco. Tras estudio en unidad de reumatología fue diagnosticada de síndrome de Sjögren. La paciente acude a nuestra consulta presentando defectos epiteliales corneales que causan dolor e intensa fotofobia, pero que al no afectar al eje visual no alteran la visión.

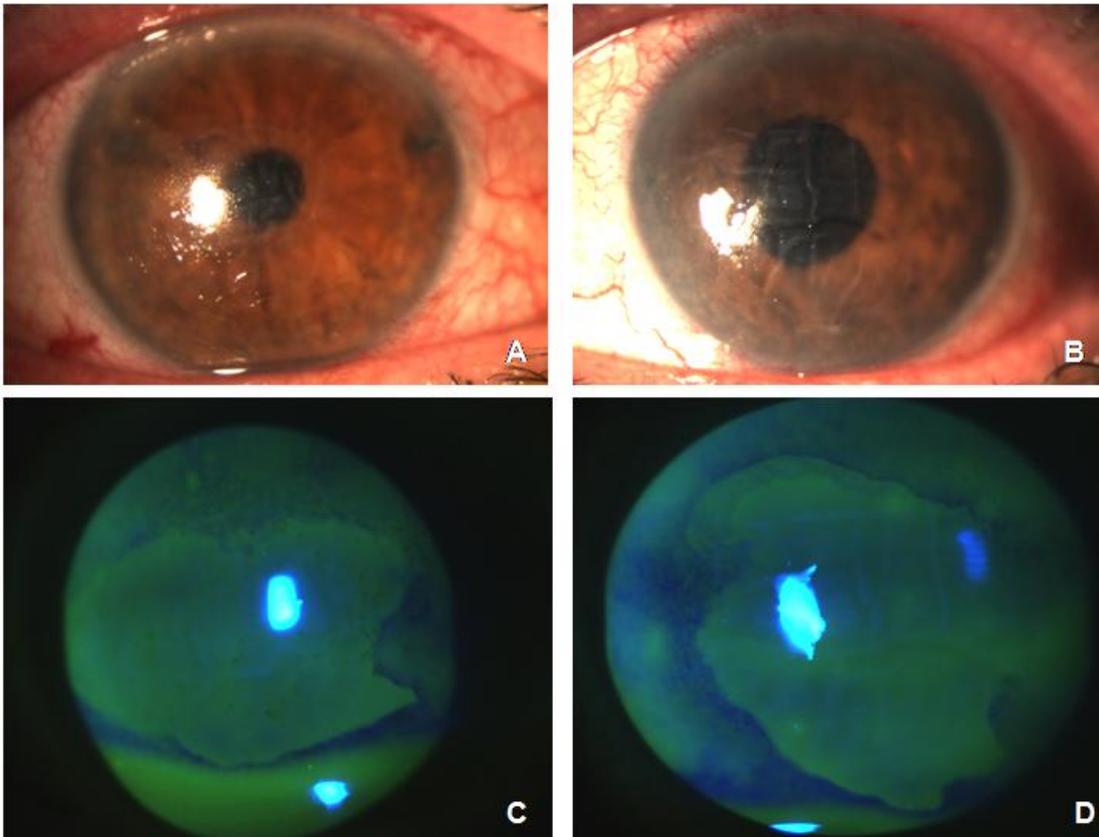
Tras intentar tratamiento con pomadas antibióticas y lubricantes, no se consigue la reepitelización de la úlcera corneal, por lo que se inicia tratamiento con SA. En las siguientes imágenes observamos la lesión que presentaba nuestra paciente al inicio del tratamiento, y el aspecto de la córnea, completamente reepitelizada al mes del mismo.



**Figura 4.** (A) Se aprecia un extenso defecto epitelial situado por debajo del eje visual, sin afectar al mismo. Observamos captación de fluoresceína en el lecho de la lesión. (B) Tras un mes de tratamiento, la superficie corneal se ha regenerado completamente, y ya no existe captación de fluoresceína.

- CASO 3:

El siguiente caso, es el de una mujer de 75 años afecta por queratitis sicca grave, con importante alteración de la película lagrimal, a consecuencia de la cual presenta úlceras recidivantes. Estas lesiones ocupan una importante extensión de la superficie corneal, afectando al eje visual, y aunque son de poca profundidad, producen una gran disminución de la agudeza visual. Se inició tratamiento con SA, y tras un mes observamos que la agudeza visual evolucionó de 0,1 a ser de 0,8 (escala de Snellen).



**Figura 5.** Úlcera corneal que ocupa más del 25% de la superficie córnea en ambos ojos. Aspecto deslustrado de la córnea por el edema en área de la lesión. (A) Ojo derecho (B) Ojo izquierdo. Al instilar fluoresceína se aprecian los límites de los defectos epiteliales. (C) Ojo derecho (D) Ojo izquierdo.

Tras realizar el tratamiento con SA, el epitelio corneal se restituyó por completo.

## **2.- ÚLCERA NEUROTRÓFICA:**

Como comentábamos en el apartado de introducción, las úlceras neurotróficas se producen como resultado de una lesión del nervio trigémino, y especialmente de sus ramas nasociliar y nervios ciliares largos, encargados de la inervación sensitiva corneal. Son debidas por lo tanto, a una disminución en la sensibilidad corneal. Suelen ser cuadros con un comportamiento más agresivo, y que suponen un mayor riesgo para el globo ocular.

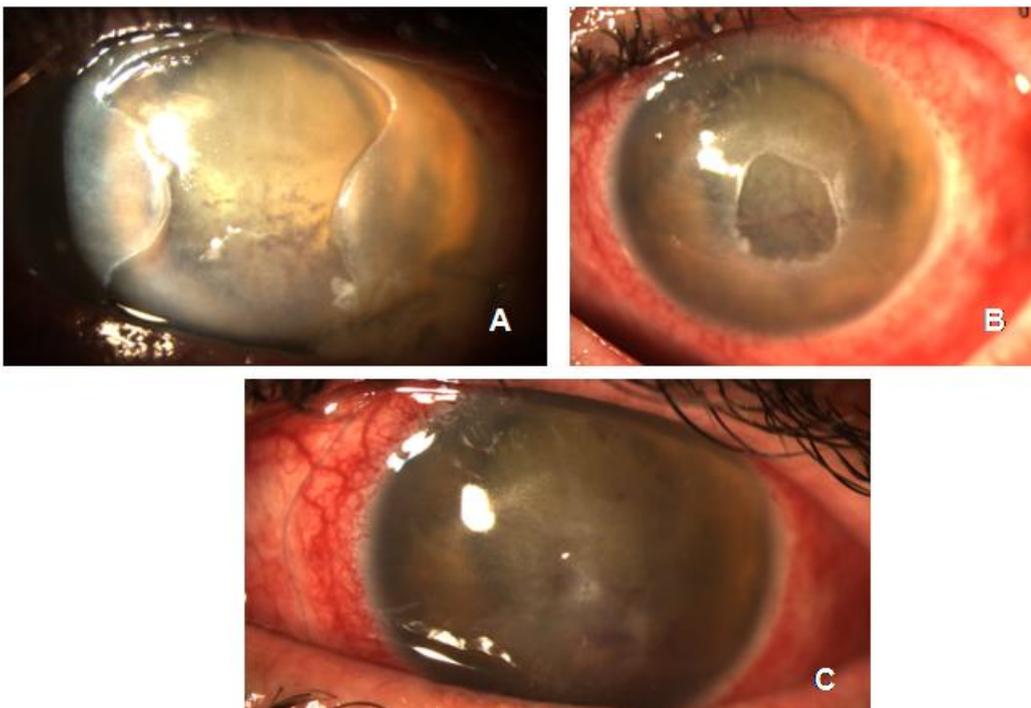
La alteración de la sensibilidad corneal, puede ser debida a varias causas, entre las que destacan:

- Infecciones, virales de repetición (queratitis herpética) que van destruyendo terminaciones nerviosas corneales
- Cirugía retiniana (cerclaje y vitrectomía), y sobre todo el trasplante corneal, que van a causar una lesión mecánica de las ya citadas terminaciones nerviosas
- También existen algunas patologías sistémicas que pueden afectar a la inervación corneal como son la diabetes y la esclerosis múltiple, ya que causan neuropatías.
- Algunos procedimientos a nivel ocular, como son la panfotocoagulación.
- A veces el origen de la lesión está a nivel intracraneal, con lesión directa del nervio trigémino, como son algunos tumores intracraneales, por ejemplo cordomas. También pueden alterar la sensibilidad corneal por lesión directa del nervio trigémino las enfermedades desmielinizantes, neuralgias del trigémino, lesiones isquémicas, etc.

A continuación exponemos casos representativos, de las distintas causas citadas anteriormente como origen de la aparición de úlceras neurotróficas corneales, que hemos recogido en nuestro grupo de tratamiento con SA.

- CASO 1:

Paciente de 61 años operada de desprendimiento de retina ojo izquierdo que desarrolla úlcera neurotrófica en dicho ojo. Ante la persistencia de la úlcera con tratamiento habitual se administra SA consiguiendo regeneración del epitelio corneal en 1 mes.



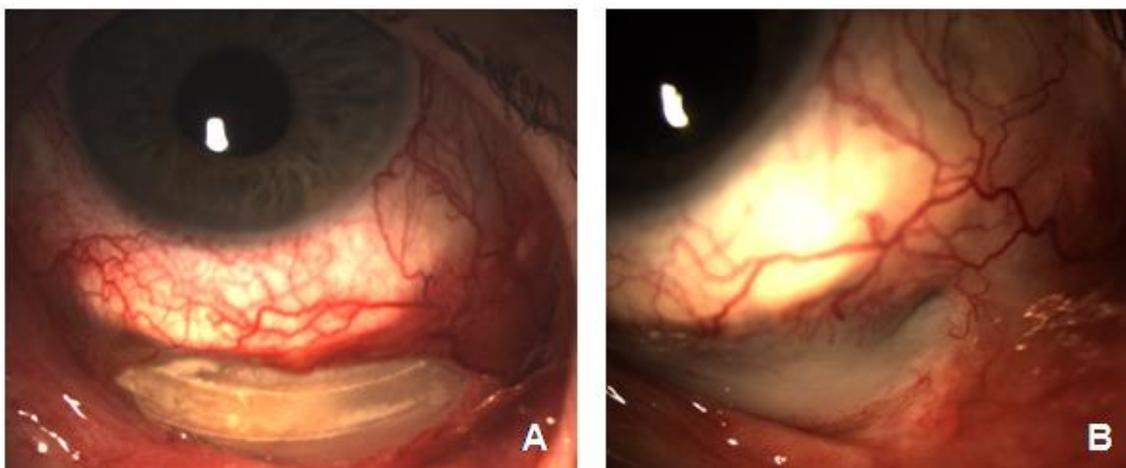
**Figura 6.** (A) Lesión corneal previa al inicio de tratamiento con SA. (B) Tras una semana de iniciado el tratamiento la lesión ha reducido aproximadamente el 50% de su extensión. (C) Tras un mes de tratamiento, la úlcera se ha cerrado por completo.

Esta paciente aunque, al inicio se alcanzó la regeneración de la lesión, tras la retirada del SA, aparece una hipotonía postquirúrgica con recidiva de la úlcera neurotrófica y

endofthalmitis, que a pesar de tratamiento agresivo con antibióticos intravítreos y sistémicos, acaba en enucleación.

#### - CASO 2

En este apartado, también presentamos el caso de un señor de 60 años con antecedentes de cirugía de desprendimiento de retina (cerclaje + vitrectomía), que tras la misma sufre una escleritis necrotizante que deriva en una extensa lesión escleral. Ante la ausencia de respuesta al tratamiento convencional (pomadas antibióticas) con el riesgo que ello suponía para el globo ocular, y previamente al planteamiento de la retirada del cerclaje con el posible fracaso de la cirugía de retina, se inició tratamiento con SA. A los 3 meses de administrar el mismo, se consigue el cierre de la lesión con recubrimiento conjuntival y llegada de vasos al lecho de la lesión, lo que permitió la retirada del SA, al ser estos vasos los encargados de continuar aportando factores tróficos que evitarán la recidiva de la lesión.



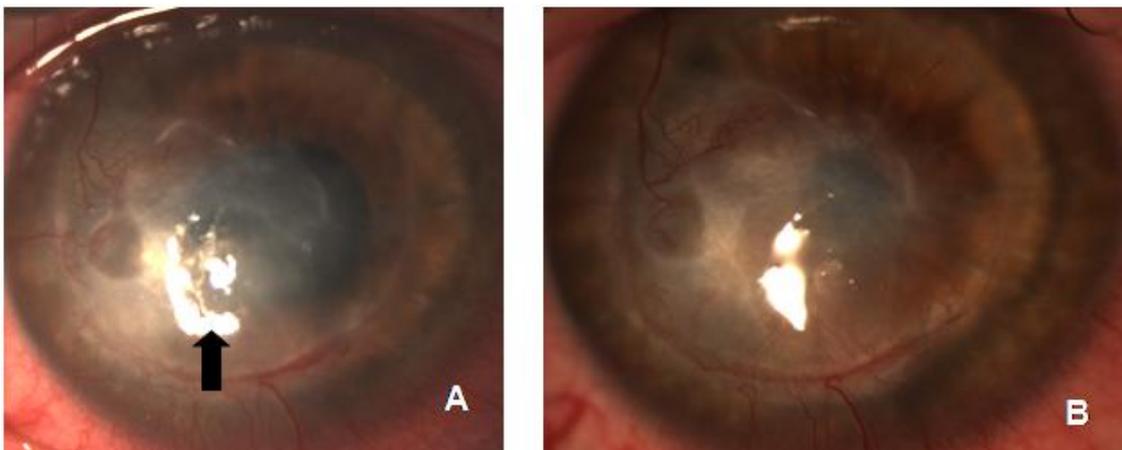
**Figura 7.** (A) Necrosis escleral que permite ver el explante escleral (flecha). (B) Tejido de granulación que cubre área de la lesión y el cerclaje. Se aprecian pequeños vasos que van

avanzando hacia el centro de la lesión. Tras nueve meses de tratamiento la lesión alcanzó la curación completa.

- CASO 3:

Paciente con antecedentes de queratoplastia hace 23 años a causa de leucoma corneal por queratitis herpéticas de repetición. Previamente a la introducción del SA, estuvo durante un año en seguimiento por úlceras neurotróficas recidivantes en córnea donante. Finalmente se decide iniciar tratamiento con SA, con lo que la úlcera se epiteliza aproximadamente en una semana. Al mes, hubo que suprimir el tratamiento a causa de una infección. Posiblemente, esta infección tuvo su foco a causa del ambiente laboral del paciente, dedicado a la agricultura, por lo que ante la mejoría sintomática y el riesgo de infección grave por contacto continuo con materiales vegetales se decide suprimir el SA.

No se consigue mejorar agudeza visual del paciente que era de movimientos mano, porque ya antes de iniciar tratamiento, presentaba una córnea leucomatosa.

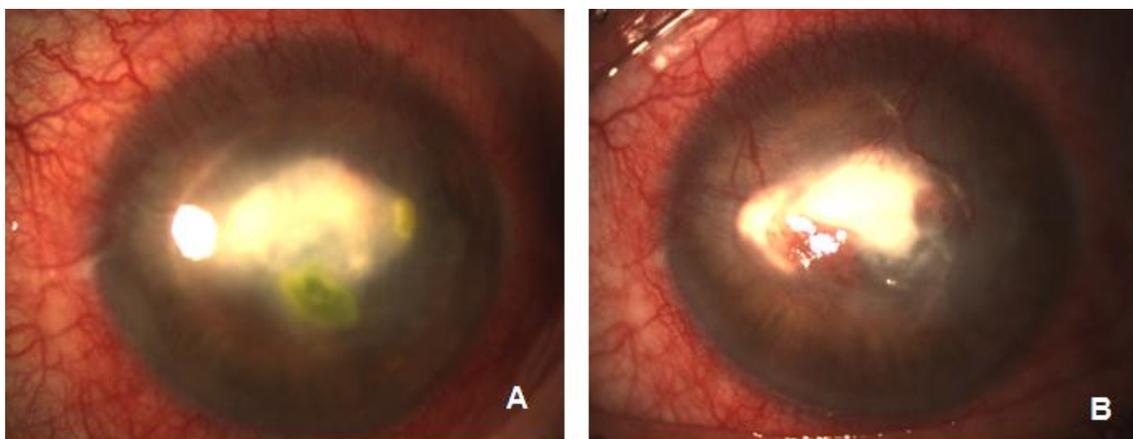


**Figura 8.** (A) Observamos una lesión corneal central, de distribución lineal (flecha), que tras una semana de tratamiento ha desaparecido. (B) Si bien esta córnea, es una córnea con una vascularización de grado III y una opacidad corneal grado II, que hace que la transparencia

corneal esté disminuida, con lo que la agudeza visual se mantiene alterada a pesar de la desaparición de la lesión.

- CASO 4 :

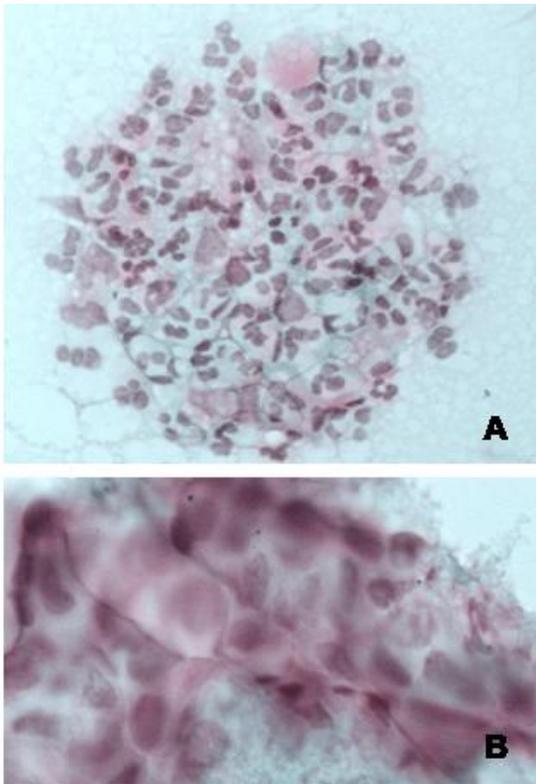
Paciente varón de 45 años con antecedentes de queratitis herpéticas de repetición, que acude a nuestro servicio por úlcera sobre leucoma corneal. En un primer momento, se trató con pomada de zovirax pensando en una posible recidiva de queratitis herpética, si bien ante la ausencia de respuesta se inició tratamiento con lubricantes libres de conservantes y pomadas antibióticas, que de igual modo no consiguieron una mejoría de la clínica. Finalmente, se introduce tratamiento con SA, y tras un mes de administrar el mismo la lesión desaparece. Observamos además, que el leucoma corneal central que presentaba el paciente, se reduce tanto en extensión como en densidad con el aporte del SA.



**Figura 9.** (A). Se observa leucoma en centro de la córnea y dos defectos epiteliales teñidos con fluoresceína. Existen neovasos que penetran hasta centro de la córnea. (B). Tras el tratamiento con SA, desaparecen las lesiones y el leucoma se reduce, aunque en contraposición se produce un aumento en la vascularización corneal.

A este paciente se le realizó citología de impresión previa al tratamiento, y una nueva citología de control, tras completar el mismo. En la citología se aprecia una metaplasia

escamosa que se reduce tras la realización del tratamiento con SA. De igual modo, se produce una desaparición de células inflamatorias en el área corneal de la lesión, en la que existía un infiltrado por polimorfonucleares en la primera citología realizada.



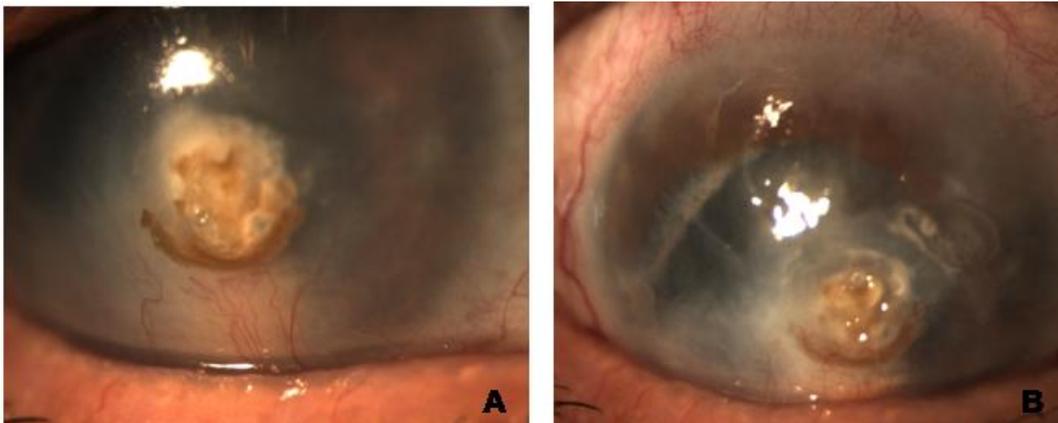
**Figura 10.** (A) Se aprecian importante infiltrado por polimorfonucleares así como una metaplasia del epitelio corneal con alteración en la relación núcleo/citoplasma de las células epiteliales.

(B) Tras el tratamiento con SA, desaparecen las atipias celulares, así como el infiltrado inflamatorio, regenerando un epitelio cohesivo y uniforme.

#### - CASO 5

Paciente de 75 años con una lesión neurotrófica corneal central secundaria a pérdida de sensibilidad corneal por queratitis herpéticas de repetición. Como observamos en la figura 14, existen sobre el lecho de esta lesión abundantes depósitos cálcicos, lo cual pone de manifiesto la existencia de actividad inflamatoria de forma mantenida a nivel de este tejido. Este es uno de los casos en los que el suero autólogo no consigue regenerar la lesión por completo. Pensamos que la existencia de depósitos cálcicos a

nivel del lecho de la úlcera, posiblemente hayan sido la causa del fracaso del tratamiento, al haber dificultado la progresión del epitelio para regenerar el tejido corneal. Si bien, como podemos observar en las imágenes subyacentes, el empleo de SA ha disminuido los depósitos calcáreos a nivel corneal. A parte del SA, en esta paciente se empleó una lente de contacto terapéutica para reducir los traumatismos causados por el parpadeo y así favorecer el avance del epitelio. Sin embargo, finalmente, no se consigue regenerar la lesión, aunque existe un aumento importante de vascularización, lo cual es uno de los efectos secundarios del suero autólogo por el importante aporte de factores de crecimiento que supone.

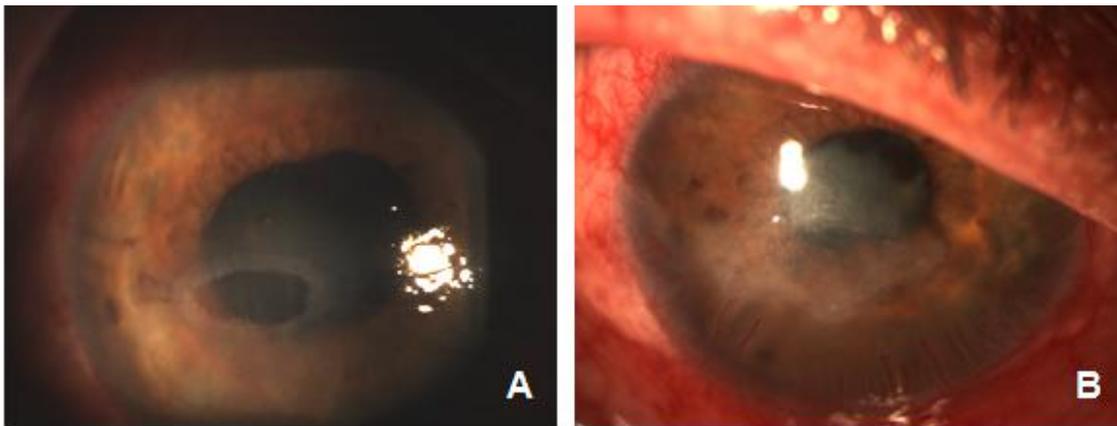


**Figura 11.** (A) Se aprecia la lesión neurotrófica en el centro de la córnea con depósito calcáreo en el lecho de la misma. También se aprecia la lente de contacto terapéutica que se colocó para reducir los traumatismos por el parpadeo. (B) Se observa una disminución importante del depósito calcáreo a nivel corneal con aumento de vascularización tras la administración del SA, si bien, la lesión corneal persiste.

- CASO 6:

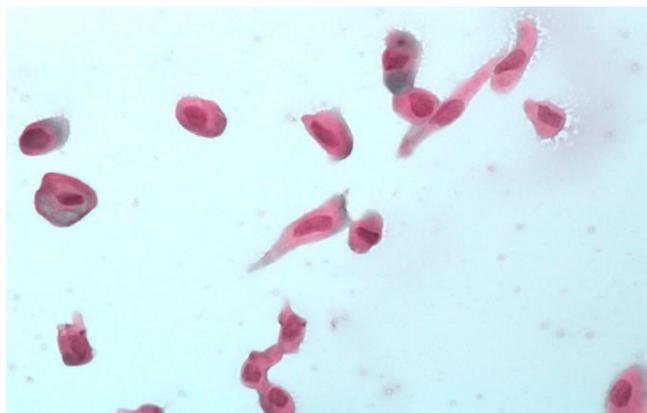
Por otro lado, como se comentaba al inicio de este apartado, otra de las causas posibles de úlceras neurotróficas son las neuropatías que afectan a las terminaciones sensitivas corneales en la diabetes mellitus. Presentamos el caso de un varón de 53 años, diabético, al que se le realizó panfotocoagulación retiniana por retinopatía diabética proliferativa en ambos ojos. En este caso, son dos los factores que han podido llevar a la hipoestesia corneal. Por un lado, la citada neuropatía del diabético, y por otro lado, el tratamiento con láser de argón que también puede lesionar los nervios ciliares.

Este paciente acude a consulta con una uveítis hipertensiva y una úlcera corneal neurotrófica de mala evolución (previamente tratada por su médico con pomadas antibióticas). Se decide tratamiento con suero autólogo, a parte de tratar la uveítis hipertensiva que presentaba, y se consigue cicatrización de la úlcera corneal en tres meses de tratamiento. No obstante, apenas existió mejoría de su agudeza visual a pesar de que la córnea quedó con una mínima nubécula. Esto es debido a que el paciente acude a nuestro servicio tras unos 4 días de pérdida de visión por cifras de tensión ocular de 60 mmHg, con lo que el nervio óptico resultó lesionado.



**Figura 12.** (A) Se observa defecto epitelial oval que afecta al eje visual con los bordes del mismo engrosados. (B) A los tres meses del tratamiento la lesión está completamente epitelizada, dejando una mínima opacidad corneal residual.

A este paciente le realizamos una citología de impresión para valorar el estado de su epitelio corneal previo al tratamiento con SA. No fue posible realizar citología de control, pues tras la reepitelización de la úlcera el paciente no acudió a posteriores revisiones.

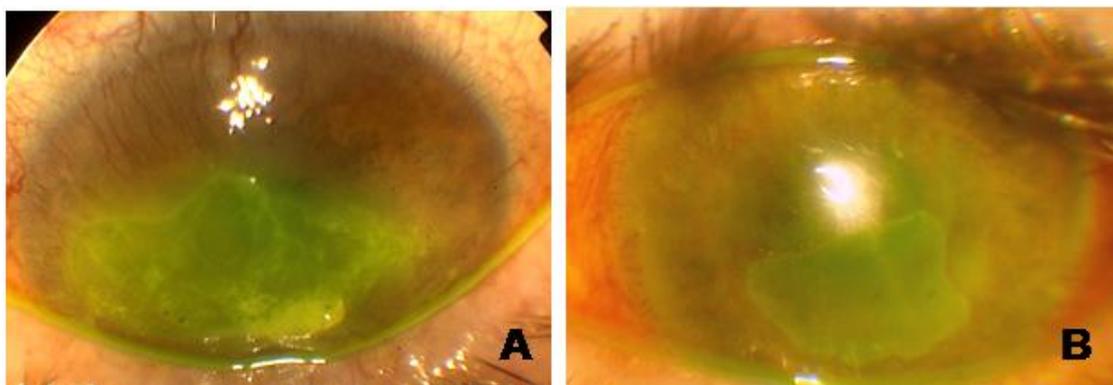


**Figura 13.** Se observan algunas células escamosas. El resto sin alteraciones significativas. Aunque la muestra obtenida es escasa podemos decir, según la clasificación de López Rivas que se trata de un grado moderado de metaplasia por la alteración de la relación N:C, y la tinción metacrómica del citoplasma.

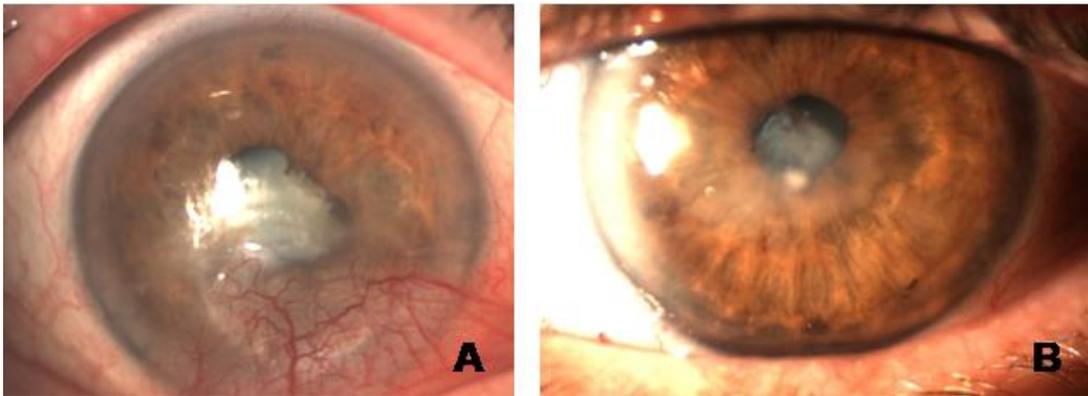
- CASO 7:

Paciente con lesión a nivel central que se manifestó como paresia del nervio trigémino que secundariamente produjo una alteración de la sensibilidad corneal con la aparición de lesiones de origen neurotrófico sobre la córnea. En un primer momento se intentó tratamiento con pomadas antibióticas y lubricantes si obtener mejoría clínica, por lo que se decidió instaurar tratamiento con SA. Cuando exploramos al paciente al inicio de la patología en el ojo derecho presentaba una AV de cuenta dedos que tras realizar tres meses de tratamiento con SA mejora hasta 0.4. Además, se consiguió una restitución completa de la superficie corneal. Por su parte el ojo izquierdo requiere de 5 meses de tratamiento para alcanzar la curación. En este ojo partíamos de una AV de 0.15, que tras el tratamiento con SA pasa a ser de 0.4.

En este caso, encontramos que cuando se trata de suspender el tratamiento reaparecen al poco tiempo las úlceras , por lo que se decide mantener tratamiento de forma indefinida



**Figura 14.** (A) Se observa defecto epitelial corneal en ojo derecho que ocupa área corneal central que capta fluoresceína. (B) Defecto epitelial de menor extensión que en ojo derecho, pero que afecta al eje visual.

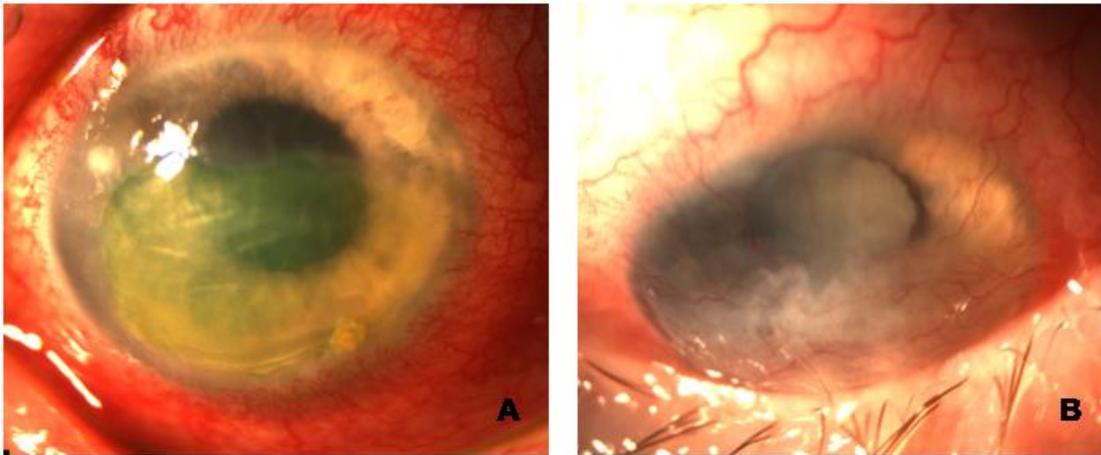


**Figura 15.** (A) Se observa leucoma corneal en ojo derecho que ocupa área central. Además existe una importante neovascularización y conjuntivalización del área corneal inferior secundaria al recubrimiento conjuntival adicional que hubo que realizarle al paciente por presentar perforación corneal en este ojo. (B) Mínimo leucoma corneal que afecta al eje visual.

Finalmente conseguimos regenerar el tejido corneal en ambos ojos, y con el tratamiento crónico con SA se ha estabilizado el epitelio corneal, con lo que no han vuelto a recidivar las úlceras neurotróficas. En contraposición, la neovascularización así como la opacidad corneal han hecho que la agudeza visual final de nuestro paciente no sea demasiado buena.

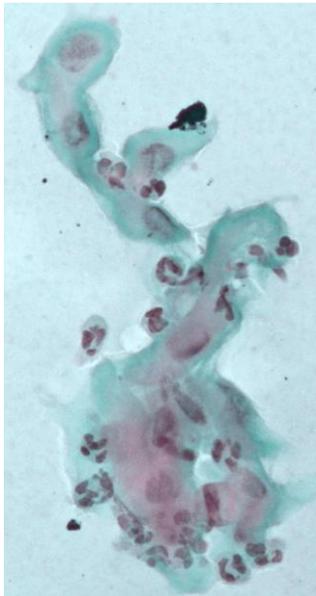
- CASO 8:

Por último, presentamos el caso de un paciente de 52 años con ojo único, que secundariamente a cirugía de un neurinoma del acústico e irradiación postcirugía desarrolló una úlcera neurotrófica en su OD. Este ojo presentaba una importante proptosis con empastamiento de partes blandas perioculares, y una disminución marcada de la sensibilidad corneal. Se instauró tratamiento con lubricantes artificiales y pomadas antibióticas, pero ante la ausencia de respuesta a dicho tratamiento, se introdujo colirio de SA, y tras 2 meses de aplicar el mismo observamos que existía una reepitelización completa de la lesión corneal.



**Figura 16.** (A) Se observa defecto epitelial corneal central que capta fluoresceína, y que ocupa más del 50% de la superficie corneal. Pliegues en membrana de Descemet. (B) Completa reepitelización de la lesión corneal. Además existe un leucoma a nivel de donde estaba la lesión, al que llegan algunos neovasos que parten desde el limbo.

Se le realizó a este paciente citología de impresión previa al inicio del tratamiento con SA para analizar el estado del epitelio corneal, observando:



**Figura 17.** Metaplasia escamosa moderada con infiltrado inflamatorio a expensas de polimorfonucleares neutrófilos.

### 3.- ÚLCERAS INMUNOLÓGICAS/ CAUSTICACIONES:

Dentro de este grupo, presentamos por un lado lesiones corneales cuya causa son patologías sistémicas de carácter inmune capaces de afectar a la superficie corneal, y especialmente al tejido conectivo estromal. Suelen ser úlceras que afectan a la región corneal periférica produciendo una lesión inflamatoria destructiva del tejido conectivo, con una degradación progresiva del estroma y adelgazamiento corneal que puede llegar a la perforación corneal.

Por otro lado, expondremos casos de pacientes con lesiones corneales secundarias a cáusticos. Son lesiones químicas de la superficie ocular que producen una inflamación severa con alteración de la homeostasis normal corneal. Estas lesiones pueden derivar en una pérdida de visión permanente. Estos agentes químicos van a producir graves alteraciones, como resultado de los cambios en la concentración local de hidrógeno e iones hidróxido. La intensidad de la lesión va a depender de la cantidad, concentración del producto químico, tiempo de exposición del ojo a la sustancia cáustica y de la capacidad de penetración de la misma.

Ambos tipos de úlceras tienen en común una base inflamatoria como patogenia de las lesiones que se van a producir. Estas úlceras aparecen en regiones corneales cuya nutrición depende en parte de los capilares que llegan al limbo, que son fuente de células inmunocompetentes. La existencia de estímulos inflamatorios en la periferia corneal, causados por ejemplo por el depósito de inmunocomplejos en enfermedades sistémicas inmunes (artritis reumatoide, Wegener, poliarteritis nodosa, lupus, etc.), infecciones, traumas, causticaciones, etc. darán lugar a una respuesta inmune con la consiguiente activación del complemento. La activación del complemento incrementa la permeabilidad vascular generando factores quimiotácticos para neutrófilos. Estos neutrófilos van a liberar enzimas proteolíticas y colagenolíticas así como sustancias

proinflamatorias (leucotrienos, prostaglandinas), lo que va a derivar en la degradación y adelgazamiento estromal de la córnea. Además, la conjuntiva adyacente inflamada, tiene la capacidad de producir colagenasas que aumentan el daño estromal.

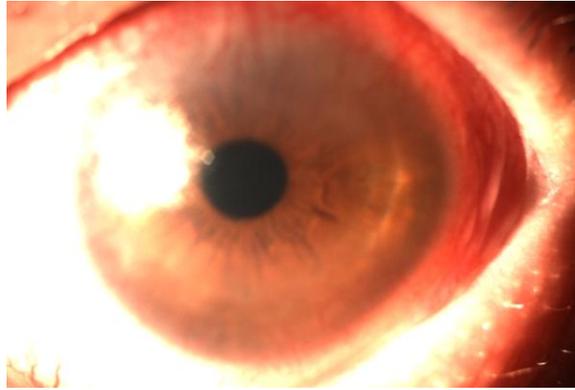
Por lo tanto, en este tipo de úlceras lo que existe es una degradación y necrosis del estroma corneal producido por enzimas proteolíticas. Además participan en estas lesiones la isquemia producida a nivel de los vasos perilímbicos, siendo este el principal factor desencadenante de las lesiones a nivel corneal tras una causticación química.

- CASO 1:

Paciente de 36 años afecta por necrosis epidérmica tóxica, secundario a la toma de eritromicina. Debido a la agresividad del cuadro, la paciente requirió de dos trasplantes corneales en su ojo derecho, y finalmente tras varios rechazos perdió el ojo derecho. En su ojo izquierdo, se consigue restaurar la integridad de la superficie corneal tras el tratamiento con suero autólogo, al mismo tiempo que mediante tratamiento sistémico se inhibió la respuesta inmune.

La lesión a nivel corneal en este síndrome parece ser debida a varios mecanismos, por un lado la respuesta inmune mediada por células T citotóxicas, y por el aumento de citoquinas, sobre todo, del factor de necrosis tumoral alfa, que activa la respuesta inflamatoria en la que participan células T, que desencadenan el daño ocular por la existencia de una respuesta anormal frente a antígenos de la superficie ocular. Además parece existir una apoptosis celular mediada por la interacción entre FAS-FAS ligando. Todo ello, desencadena una lesión corneal progresiva, que como ocurrió en el ojo derecho de nuestra paciente, puede acabar en perforación ocular. Por ello, es

necesario instaurar un tratamiento inmunosupresor agresivo y un tratamiento que ayude a regenerar las lesiones corneales, como es el caso del SA.

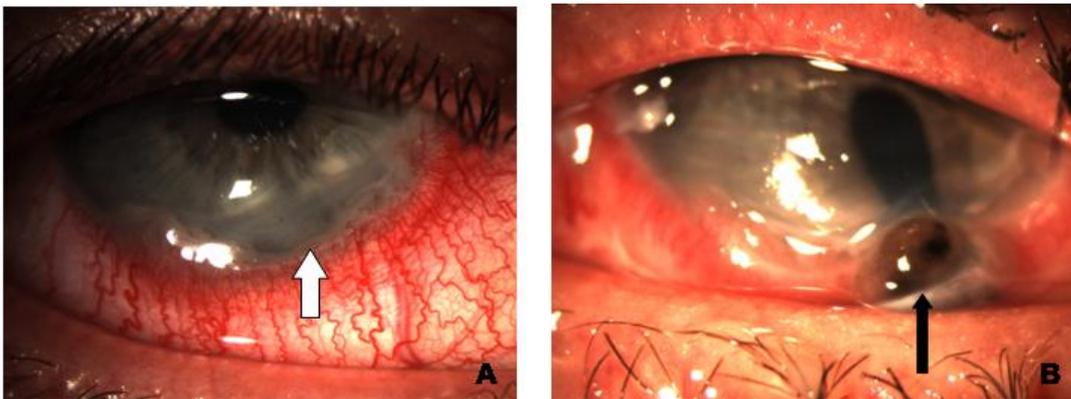


**Figura 18.** Actualmente el ojo izquierdo de nuestra paciente se mantiene sin lesiones como podemos observar en la imagen

En esta paciente, ha sido necesario mantener el tratamiento con SA de forma crónica, ya que el síndrome de Lyell no solo afecta a la superficie corneal, sino que también afecta a párpados produciendo una alteración de las glándulas de meibomio, así como en las glándulas secretoras accesorias de la conjuntiva, lo que deriva en un síndrome de ojo seco con déficit de factores tróficos. Aunque en este caso no poseemos citología de impresión de la paciente, sabemos que esta patología altera también las células caliciformes conjuntivales, lo que conlleva una alteración de la capa mucínica de la película lagrimal con las alteraciones de la misma que de ello derivan. Así se puede producir, una falta de extensión uniforme de la película lagrimal para una correcta lubricación de toda la superficie corneal.

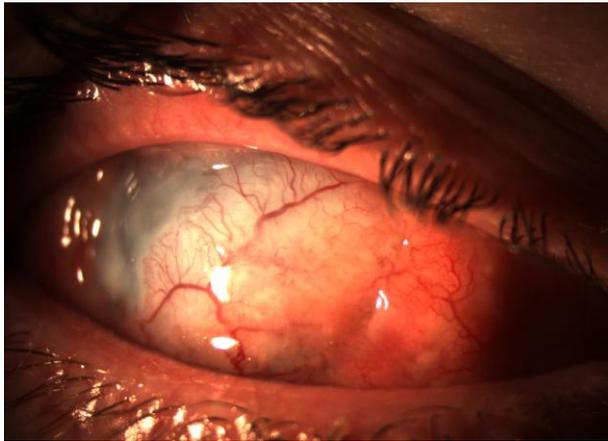
- CASO 2:

Paciente de 37 años que presenta úlcera corneal periférica que progresa hacia perforación ocular con hernia del iris, a pesar del empleo de tratamiento con pomadas antibióticas y oclusión ocular. Entre los antecedentes de este paciente sólo destaca el padecer una psoriasis. Previamente al inicio de tratamiento con SA, se realiza un recubrimiento conjuntival de la lesión. Tras administración de SA, la conjuntiva que recubre la perforación se extiende hacia región corneal central. Se consigue mantener el ojo pero sin mejorar la agudeza visual, que es de percepción de luz.



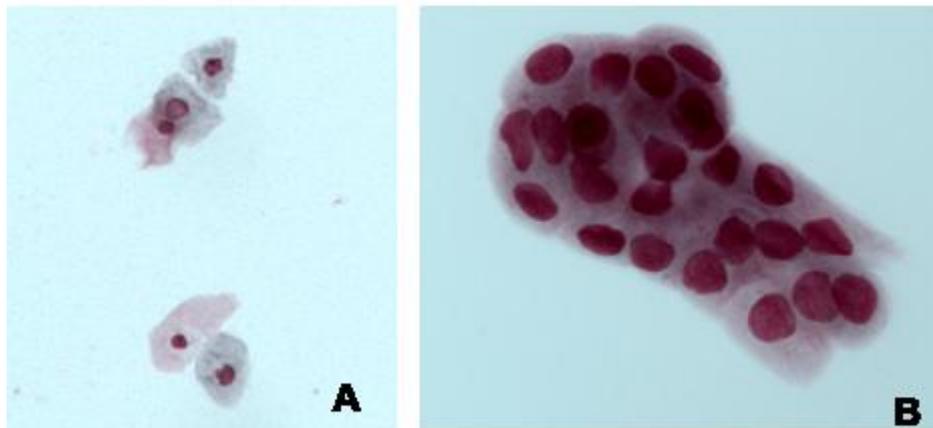
**Figura 19.** (A) Lesión corneal que ocupa área yuxtalimbal inferior (flecha blanca). (B) Hernia de iris (flecha).

En este paciente, los factores tróficos han llevado a que la córnea sufra una importante opacificación por conjuntivalización y neovascularización corneal. La noxa, que mantiene la inflamación a nivel ocular desencadenante de insuficiencia límbica, es otra de las causas que determinan que tanto la conjuntiva como los vasos límbicos penetren en córnea recubriendo esta completamente.



**Figura 20.** Se aprecia en esta imagen una importante opacificación corneal, con conjuntivalización de la misma. Además, existen neovasos que penetran hasta el centro corneal.

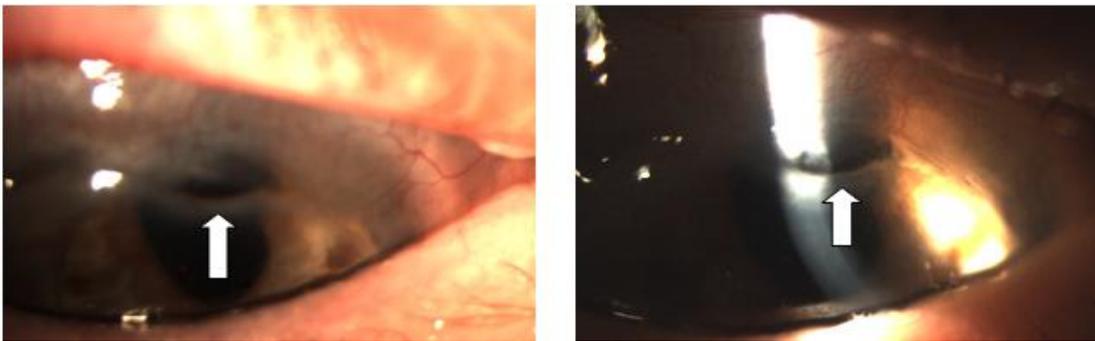
Para una evaluación más completa de la superficie ocular se realiza citología de impresión previa al tratamiento con suero autólogo, y otra citología de control al finalizar el tratamiento con lo mismo.



**Figura 21.** (A) Las células epiteliales previamente al tratamiento con SA presentan algunas atipias celulares con cambios en la relación de N/C, cambios cromáticos. (B) Tras el tratamiento, se evidencia que las células epiteliales adquieren un aspecto más uniforme, el epitelio es más cohesivo, desaparecen los cambios cromáticos. Por lo tanto se evidencia así una regresión del grado de metaplasia.

- CASO 3:

Paciente de 82 años con antecedentes de artritis reumatoide. Acudió a nuestra consulta por presentar úlcera marginal en su ojo derecho de mala evolución, que previamente fue tratada en clínica privada con pomadas antibióticas y lubricantes tópicos. Además estaba en tratamiento sistémico con antiinflamatorios por su proceso artrítico. A la exploración evidenciamos en su ojo derecho una úlcera de disposición periférica superior que ocupa toda la región superior (6mm), con unos 2 mm de ancho, que alcanza el 90% del espesor corneal. Por su parte el ojo izquierdo, es un ojo en ptosis bulbi, secundaria a perforación ocular por mala evolución de úlcera corneal.



**Figura 22** Se aprecia la extensión y profundidad de la lesión a nivel corneal superior (flechas)

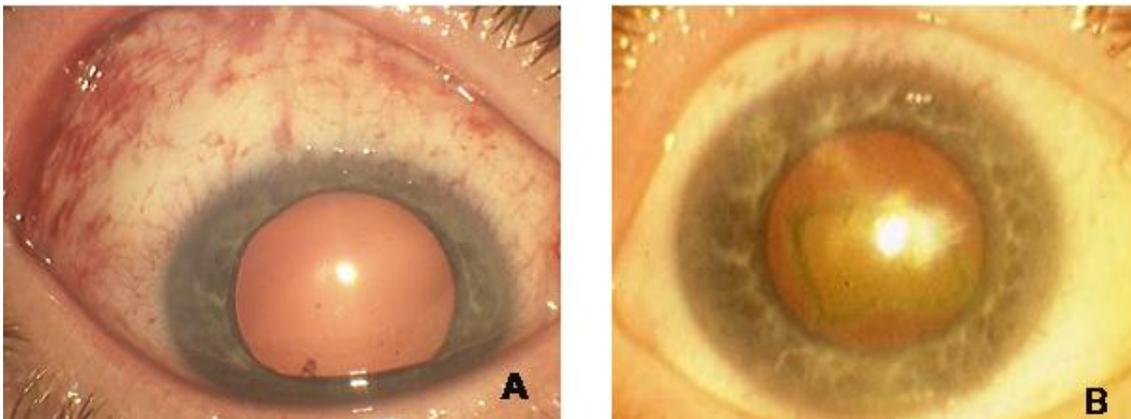
En consulta se coloca lente terapéutica y se pauta el tratamiento con SA.



**Figura 23.** Tras dos semanas la extensión y la profundidad de la lesión se ha reducido. Existen pequeños vasos que alcanzan la lesión.

- CASO 4:

Paciente de 15 años atendido en nuestro servicio de urgencias por causticación con ácido. A la exploración presentaba una visión de 0.4, con una úlcera corneal central que ocupaba mayor del 50% de la superficie corneal. Existían algunas amputaciones vasculares sobre todo a nivel del limbo superior, y tejido desvitalizado yuxtalimbal que requirió peritomía. En su ojo izquierdo, existía una mínima lesión epitelial corneal, con buena vascularización del limbo, y la agudeza visual era de 0.8.



**Figura 24.** (A) Se observan áreas de isquemia a nivel superior yuxtalimbal. (B) Se aprecia defecto epitelial que ocupa casi todo el área pupilar con la pupila en midriasis farmacológica. Ante la falta de respuesta al tratamiento con pomada antibiótica, pomada dexametasona y ciclopléjico tópicos en ojo derecho, se inicia el tratamiento con suero autólogo. Tras un mes de tratamiento, la lesión estaba completamente regenerada, y la agudeza visual de éste ojo alcanzó la unidad en la escala de Snellen.



**Figura 25.** Tras completar el tratamiento, la apariencia de la superficie ocular de este paciente es completamente normal.