

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y CIRUGÍA



TESIS DOCTORAL

**EFICACIA Y SEGURIDAD DEL PLASMA RICO EN
PLAQUETAS SOBRE LA SUPERFICIE OCULAR Y LA
OSMOLARIDAD LAGRIMAL EN LA ENFERMEDAD
DEL OJO SECO HIPOSECRETOR**

Presentada por D. Víctor García Conca

Directores

Dr. José Ramón Hueso Abancéns
Dr. Alberto Artola Roig
Dra. Marta Abad Collado

Alicante, 2017

EFICACIA Y SEGURIDAD DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS SOBRE LA SUPERFICIE OCULAR Y LA OSMOLARIDAD LAGRIMAL EN LA ENFERMEDAD DEL OJO SECO HIPOSECRETOR



MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Víctor García Conca

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

Facultad de Medicina
Departamento de Patología y Cirugía

Alicante, 2017

José Ramón Hueso Abancéns, Doctor en Cirugía y Medicina.

Alberto Artola Roig, Doctor en Cirugía y Medicina, Profesor Titular de oftalmología de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

Marta Abad Collado, Doctora en Biología y Bioquímica.



CERTIFICAN:

Que la presente memoria de Tesis titulada “EFECTIVIDAD Y SEGURIDAD DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS SOBRE LA SUPERFICIE OCULAR Y LA OSMOLARIDAD LAGRIMAL EN LA ENFERMEDAD DEL OJO SECO HIPOSECRETOR” ha sido realizada bajo nuestra dirección por D. Víctor García Conca desde el año 2013 en el Departamento de Oftalmología del Hospital Universitario San Juan de Alicante para optar al grado de Doctor por la Universidad Miguel Hernández de Elche. Hacemos constar que la citada Tesis reúne todos los requisitos necesarios para su lectura y defensa.

Y, para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en San Joan d’Alacant a 19 de junio del dos mil diecisiete.

Dr. José R. Hueso Abancéns

Dr. Alberto Artola Roig

Dra. Marta Abad Collado

Universidad Miguel Hernández



Dña. **SUSANA JIMÉNEZ MORENO**, directora del Departamento de Patología y Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad Miguel Hernández de Elche

CERTIFICA: Que, D. VÍCTOR GARCÍA CONCA ha realizado bajo la coordinación de este Departamento su memoria de tesis doctoral titulada “EFICACIA Y SEGURIDAD DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS SOBRE LA SUPERFICIE OCULAR Y LA OSMOLARIDAD LAGRIMAL EN LA ENFERMEDAD DEL OJO SECO HIPOSECRETOR” cumpliendo todos los objetivos previstos, finalizando su trabajo de forma satisfactoria para su defensa pública y capacitándole para optar al grado de doctor.

Lo que certifico en Sant Joan d'Alacant a 19 de junio de dos mil diecisiete

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

A mis padres, por su amor incondicional y ejemplo de superación en todos los momentos

A Mariajo, porque no imagino a nadie mejor para acompañarme en mi viaje

A Jorge, Victor y Marcos por ser la luz del viaje

A Javi y Miriam, porque sé que siempre estaréis conmigo

Al Dr. Hueso, por la huella que me ha dejado

A las personas con las que comparto cada día mi esfuerzo y trabajo en el Servicio de Oftalmología del H.U. San Juan de Alicante, por su dedicación a los pacientes y paciencia conmigo.

A nuestros pacientes, porque su enfermedad es nuestra motivación y su agradecimiento la recompensa.

ÍNDICE

UNIVERSITAS
*Miguel
Hernández*



1. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	1
2. INTRODUCCIÓN.....	5
2.1 ENFERMEDAD DEL OJO SECO	
2.1.1 ANTECEDENTES HISTORICOS Y BIBLIOGRÁFICOS.....	9
2.1.2 DEFINICIÓN.....	10
2.1.3 CONCEPTOS ANÁTOMO-FUNCIONALES.....	11
2.1.4 CLASIFICACIÓN	
2.1.4.1 CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA DE EOS.....	12
2.1.4.2 CLASIFICACION DE LA GRAVEDAD DE EOS.....	15
2.1.5 EPIDEMIOLOGÍA	
2.1.5.1 PREVALENCIA.....	15
2.1.5.2 INCIDENCIA.....	16
2.1.5.3 FACTORES DE RIESGO.....	16
2.1.5.4 REPERCUSIONES.....	17
➤ CALIDAD DE VIDA	
➤ REPERCUSIONES ECONÓMICAS	
2.1.6 FISIOLÓGÍA	
2.1.6.1 FISIOLÓGÍA DE LA SUPERFICIE OCULAR.....	18
2.1.6.2 FISIOPATOLOGÍA EN LA EOS.....	20
2.1.7 DIAGNÓSTICO	
2.1.7.1 INTRODUCCIÓN.....	21
2.1.7.2 VALORACIÓN DE LA AGUDEZA VISUAL (AV).....	22
2.1.7.3 CUESTIONARIO DE SÍNTOMAS (OSDI).....	26
2.1.7.4 MEDICION OSMOLARIODAD DE PELÍCULA LAGRIMAL.....	29
2.1.7.5 VALORACIÓN DEL GRADO DE LA HIPEREMIA OCULAR (HPR).....	33
2.1.7.6 TEST DE SCHIRMER (SCHT).....	35
2.1.7.7 TINCIONES TISULARES (TFC y TVL).....	37
2.1.7.8 TIEMPO DE ROTURA LAGRIMAL CON FLUORESCEÍNA (TFBUT).....	40
2.1.7.9 CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL (CIC).....	42
2.1.7.10 SECUENCIA DE EXPLORACIÓN.....	44
2.1.8 TRATAMIENTO DE LA EOS	
2.1.8.1 LÁGRIMAS ARTIFICIALES. ÁCIDO HIALURÓNICO.....	47
2.2 PLASMA RICO EN PLAQUETAS	

2.2.1	MEDICINA REGENERATIVA: CONCEPTOS GENERALES.....	51
2.2.2	FACTORES DE CRECIMIENTO	53
2.2.3	ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DE USO DE PRP EN EOS.....	56
2.2.4	FORMULACIÓN Y COMPONENTES DEL PRP.....	58
2.2.4.1	FORMULACIÓN DEL PRP.....	59
2.2.4.2	COMPOSICIÓN DEL PRP.....	62
2.2.5	CONSIDERACIONES LEGALES.....	63
2.2.6	APLICACIONES EN OFTALMOLOGÍA. EOS.....	65
2.2.7	EFFECTOS ADVERSOS, CONTROVERSAS Y CONTRAINDICACIONES	
2.2.7.1	EFFECTOS ADVERSOS.....	68
2.2.7.2	CONTROVERSAS Y CONTRAINDICACIONES.....	70
3.	JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	71
4.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	77
5.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	81
5.1	MATERIAL	
5.1.1	POBLACION DEL ESTUDIO.....	83
5.1.1.1	CRITERIOS DE INCLUSION.....	84
5.1.1.2	CRITERIOS DE EXCLUSION.....	84
5.1.1.3	CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	85
5.1.2	MATERIAL EMPLEADO PARA LA EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA.....	85
5.2	MÉTODO	
5.2.1	DISEÑO DEL ESTUDIO.....	88
5.2.2	PROTOCOLO DE EXPLORACIÓN.....	89
5.2.2.1	ESQUEMA DE ESTUDIO	89
5.2.2.2	CRONOGRAMA DE ESTUDIO	90
5.2.2.3	PERÍODO DE LAVADO	90
5.2.2.4	ESQUEMA DE EXPLORACIÓN.....	90
5.2.2.5	ACONTECIMIENTOS ADVERSOS.....	94
5.2.3	CREACION DE LA BASE DE DATOS.....	95
5.2.3.1	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	95
5.2.4	CRITERIOS DE INCLUSION DE LA EVIDENCIA CIENTÍFICA.....	96
5.2.5	ASPECTOS ÉTICOS.....	97
5.2.6	ESTUDIO ESTADÍSTICO.....	97
5.2.6.1	TAMAÑO MUESTRAL.....	97

5.2.6.2 ESTUDIO DESCRIPTIVO.....	98
5.2.6.3 ESTUDIO ANALÍTICO.....	98
6. RESULTADOS.....	99
6.1 RESULTADOS OSDI.....	102
6.2 RESULTADOS BCVA.....	102
6.3 RESULTADOS HPR.....	107
6.4 RESULTADOS OSM.....	110
6.5 RESULTADOS SCHAT.....	113
6.6 RESULTADOS FTBUT.....	116
6.7 RESULTADOS TFCn.....	119
6.8 RESULTADOS TFCo.....	122
6.9 RESULTADOS CIC.....	125
6.10 CORRELACION VARIABLES PRE Y POSTRATAMIENTO	126
6.11 CORRELACION VARIABLES DIAGNÓSTICAS ANTES TRAMIENTO.....	127
7. DISCUSIÓN.....	129
7.1 DISCUSIÓN OSDI.....	131
7.2 DISCUSIÓN BCVA.....	133
7.3 DISCUSIÓN HPR.....	134
7.4 DISCUSIÓN OSM.....	134
7.5 DISCUSIÓN SCHAT.....	135
7.6 DISCUSIÓN FTBUT.....	136
7.7 DISCUSIÓN TFCn.....	136
7.8 DISCUSIÓN TFCo.....	137
7.9 DISCUSIÓN CIC.....	138
7.10 CORRELACION VARIABLES PRE Y POSTRATAMIENTO.....	138
7.11 CORRELACION VARIABLES DIAGNÓSTICAS.....	138
7.12 DISCUSIÓN FINAL.....	139
8. CONCLUSIONES.....	141
9. ANEXOS Y TABLAS.....	145
10. BIBLIOGRAFÍA.....	153



1. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS



ADDE	Ojo seco por déficit acuoso (A queous D eficient D ry E ye)
AH	Ácido hialurónico (equivalente a hialuronato sódico)
AV	Agudeza visual
BCVA	Mejor agudeza visual corregida (B est C orrected V isual A cuity)
CC	Células caliciformes
CIC	Citología impresión conjuntival
DH	Derivados hematológicos
DEWS	Taller Internacional sobre ojo seco (D ry E ye W orkshop)
EDE	Ojo seco por déficit de vaporación (E vaporative D ry E ye)
EGI	Escalas graduadas ilustradas
EOS	Enfermedad del ojo seco
FC	Factores de crecimiento
FS	Fluoresceína sódica
HPR	Hiperemia conjuntival
HS	Hialuronato sódico
LC	Lentes de contacto
LA	Lágrimas artificiales
NSSDE	Ojo seco no asociado al síndrome de Sjögren (N on S jögren S droy D ry E ye)
OSDI	Cuestionario de síntomas OSDI (O cular S urface D isease I ndex)
OSM	Osmolaridad película lagrimal
PL	Película lagrimal
PLQ	Plaquetas
PRFC	Plasma rico en factores de crecimiento
PRP	Plasma rico en proteínas
SCHT	Test de Schirmer
SA	Suero autólogo
SO	Superficie ocular
SS	Síndrome de Sjögren
SSDE	Ojo seco asociado al síndrome de Sjögren (S jögren S droy D ry E ye)
SSO	Sistema de superficie ocular
TFBUT	Tiempo de rotura lagrimal (T ear F ilm B reak U p T ime)
TFC	Tinción fluoresceína
TFCo	Tinción fluoresceína corneal
TFCn	Tinción fluoresceína conjuntival
TVL	Tinción verde lisamina
UFL	Unidad funcional lagrimal





2. INTRODUCCIÓN



*“El ojo seco es la enfermedad más frecuente de la oftalmología,
aunque afortunadamente solo a veces la más grave “*

Juan Murube del Castillo
73 congreso de la SEO
Granada 1997



Así podríamos resumir, desde el punto de vista médico, la impresión que tenemos de esta enfermedad. Si tenemos en cuenta la opinión de los pacientes que la padecen, no solo es frecuente, si no que es vivida con preocupación por la repercusión en la calidad de sus vidas, sobre todo en casos moderados-graves, y por la falta de soluciones efectivas por parte de su oftalmólogo.

En esta introducción se hará un repaso breve desde los antecedentes históricos hasta las consideraciones más actualizadas de la enfermedad del ojo seco (**EOS**), incluyendo definición, clasificación, bases fisiopatológicas, técnicas diagnósticas y tratamientos. En la segunda parte del capítulo nos centraremos en la aportación de la medicina regenerativa, en concreto en la aplicación del plasma rico en plaquetas (**PRP**) en el tratamiento de esta enfermedad.



2.1 ENFERMEDAD DEL OJO SECO

2.1.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS Y BIBLIOGRÁFICOS

Desde que los primigenios animales abandonaron el medio acuático, tuvieron que desarrollar un sistema para mantener la humedad de la parte expuesta de sus cuerpos, más sensible a la deshidratación. Mayor importancia tiene este sistema, si su función es la de garantizar la visión.

En todas las culturas se hace referencia a la importancia del agua que emana de los ojos ya sea de manera normal o ante estrés físico o emocional. Pero las primeras referencias a la escasez de ésta y sus consecuencias no se verán plasmadas hasta siglos más tarde. Esto se debe a que la descripción de las enfermedades se basaba en su apariencia clínica. Es por ello que estas descripciones hacían referencia a ojos secos graves con perforación o cicatrizaciones.

Hipócrates (siglo V a.C.) clasificaba las enfermedades del ojo en húmedas y secas, definiendo a la sequedad ocular como *xeroftalmía*.

Celso (siglo I d.C.) describía la *oftalmía sicca* como una enfermedad sin lagrimeo ni tumefacción. Galeno (siglo II d.C.) en su descripción de la *xerophthalmia*¹ destacaba el sabor a salmuera de las lágrimas, haciendo referencia desde su desconocimiento, a la hiperosmolaridad del ojo seco.

Pablo de Egina (siglo VII) escribió en su Hypomnema, que la xeroftalmía es una afección pruriginosa de los ojos sin reuma.

El término xeroftalmía fue vigente hasta siglos más tarde, cuando los avances en medicina permitieron clasificaciones más precisas. Se empezaron a describir afecciones con ojo seco moderadas. Así, en 1882 Raymond hablaba de *xerosis epithelial*.

En 1894 Berger propuso la instilación de NaCl al 0,9% como tratamiento del ojo seco. No fue hasta a principios de siglo, en 1908, cuando aparecieron las primeras lágrimas artificiales comercializadas, *larmes artificielles de Cantonnet*. Eran soluciones acuosas de NaCl 14% o ácido bórico al 2.5%.

Duke-Elder² (1930) utiliza el término *keratitis sicca*, refiriéndose a un cuadro de alacrimia congénita. En el mismo año, Sjögren introdujo el nombre de *keratoconjunctivitis sicca*. Este término se utilizó como sinónimo de otro con el que convivió durante varios años, el de Síndrome de Sjögren. Se utilizó el término Síndrome de Gougerot Sjögren a la asociación de xerosis ocular y bucal con reumatismo crónico.

En 1950, Roeth³ denominó *ojo seco* a quien tiene una secreción lagrimal refleja insuficiente con síntomas de irritación y arenilla.

Los avances en las técnicas de exploración oftalmológica y en particular de la dacriología, como el uso test de Schirmmer (SCHT) o valoración del TFBUT permiten a partir de los años 50, la descripción de formas leves de ojo seco.

Más tarde se acuñarán los términos de *ojo seco mucindeficiente* (Lemp et al 1971) al que presenta un déficit del componente mucínico, *sero- o acuodeficiente* (Murube 1981) si el déficit es del componente acuoso y *lipodeficiente* si es el lipídico.

En 1982 se fundó en Madrid la Sociedad Internacional de Dacriología. Esta sociedad tiene una división de pacientes con ojo seco. Cinco años más tarde se fundó la Sociedad Europea de Dacriología, en Milán. En 1988 tuvo lugar en Pisa un taller para establecer los criterios de KCS y SS.

Pese a la extensa bibliografía existente hasta ese momento, no existían criterios consensuados sobre aspectos diversos de esta enfermedad, tales como definición o clasificación. Será en 1995 bajo el patrocinio del Instituto Nacional del Ojo (NEI) cuando se consensuen aspectos como la definición o recomendaciones para investigaciones clínicas.

El gran volumen de información que surgió en los años posteriores, no solo oftalmológicos sino también de las ciencias básicas, hizo necesario un nuevo consenso. Esta vez bajo el patrocinio de la Sociedad de la Película Lagrimal y la Superficie Ocular (TFOS) se presentó en 2007 el Taller internacional sobre ojo seco (DEWS). Se consensuaron aspectos tan importantes como la definición, clasificación, epidemiología, diagnóstico, terapia, niveles de evidencia y metodología de documentación para ensayos clínicos entre otros. En 2017 posterior a la edición de este trabajo, se presentará la actualización con el DEWS II.

La importancia de agrupar y ordenar la abundante información que disponemos entorno a esta enfermedad estriba en facilitar la comunicación entre investigadores y demás profesionales que se enfrentan a ella. Además de haber servido de guía para este trabajo.

2.1.2 DEFINICIÓN

Este trabajo se realizó siguiendo las recomendaciones descritas en el DEWS I⁴, aunque se actualiza con algunos de los cambios introducidos en el DEWS II. En esta actualización, se denomina a esta patología como: enfermedad del ojo seco (EOS). Definiéndola como:

“Es una enfermedad multifactorial de la superficie ocular caracterizada por una pérdida de la homeostasis de la película lagrimal, acompañada de síntomas oculares, en los que la inestabilidad e hiperosmolaridad de la película lagrimal, la inflamación y daño de la superficie ocular y las anomalías neurosensoriales juegan papeles etiológicos”

En esta definición se introducen aspectos como los múltiples factores etiológico⁵, ya que los datos sugieren que diversos mecanismos favorecen su aparición: la edad, estado hormonal, la genética, el sexo femenino, estado inmune, el estrés ambiental, la nutrición y el estado de la inervación.

La definición también hace referencia a los síntomas⁶ que presenta, la repercusión en la visión^{7, 8}, la hiperosmolaridad⁹ de la película lagrimal y la inflamación¹⁰ de la superficie ocular. Pero si hay dos elementos anatómicos que se repiten tanto como objetivo de los factores

etiológicos, como responsables del mantenimiento de los procesos fisiopatológicos, son: la superficie ocular y la película lagrimal.

2.1.3 CONCEPTOS ANÁTOMO-FUNCIONALES

Existen una serie de conceptos interrelacionados que pueden llevar a confusión y que para una mejor comprensión de esta obra los definiremos de la siguiente manera:

El *Sistema de la superficie ocular* (SSO) (Fig.1) es una continuidad de epitelios que incluye el corneal, conjuntival, glandular (meibomiano, lagrimal principal y accesorias), conducto nasolagrimal y parte del epitelio interno del borde libre palpebral. Todos estos epitelios comparten no solo su continuidad anatómica sino su derivación embrionaria: ectodermo superficial.

Si ampliamos este concepto anatómico a uno anátomo-funcional llegaremos a la *Unidad funcional lagrimal* (UFL), en la que incluiremos a la película lagrimal, los párpados, y al sistema nervioso motor (VII par), sensitivo (V par) y autónomo (simpático y parasimpático) (Fig.2) que los interconectan. Esta UFL se ve influido por condiciones endocrinológicas, corticales y ambientales.

Así, finalmente podremos definir a la *superficie ocular* (SO) como la unidad anátomo-funcional de diversas estructuras del ojo y sus anejos, que permiten mantener la adecuada transparencia corneal, y proteger al ojo de la agresión externa¹¹.

En esta obra se hablará de SO como equivalente de SSO a efectos prácticos.

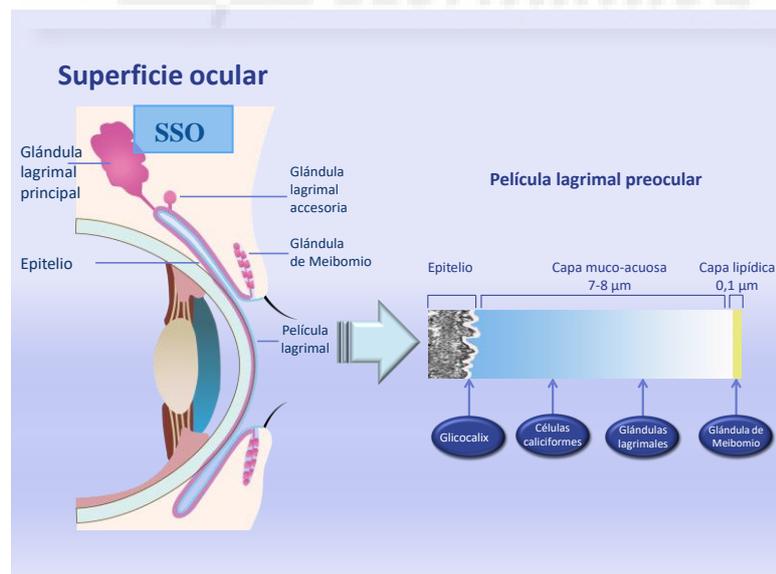


Fig. 1 SSO, continuidad de epitelios en color púrpura y esquematización de la película lagrimal que los recubre. Kanski & Bowling. *Clinical Ophthalmology*. Elsevier, 2011. Figura adaptada de Gipson

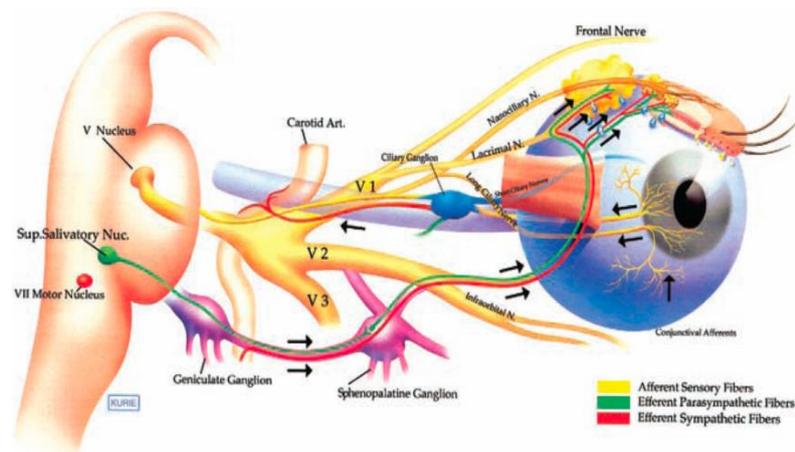


Fig. 2. Sistema nervioso sensitivo y autónomo

2.1.4 CLASIFICACIÓN

Diversas han sido las clasificaciones en los últimos años, que intentan ordenar los diferentes tipos de ojo seco. La primera fue la clasificación NEI¹² en 1995. En 2003 se presentó la Triple clasificación de Madrid¹³ en la que se incluían aspectos etiológicos, histológicos y de gravedad. En 2006 se presentó una nueva clasificación, incluida en el Panel Delphi¹⁴ y en 2007 se consensuaron aspectos de las diferentes clasificaciones en el DEWS I.

2.1.4.1 CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA DE EOS

Las diferentes clasificaciones ayudan a ordenar las posibles etiologías (Fig. 3) pero deben ser tomadas sólo como guía ya que pueden inducir a errores diagnósticos. No deben en ningún caso sustituir a la correcta interpretación de las diversas técnicas diagnósticas. Dependiendo de la fase de la enfermedad, los pacientes pueden presentar rasgos de una, otra o ambas clasificaciones etiológicas, ya que al tratarse de una enfermedad multifactorial, serán varias las causas que lo provoquen dificultando su clasificación. En la próxima edición del DEWS II (2017) se incluirá el ojo seco neuropático como causa de EOS junto al evaporativo y secretor.

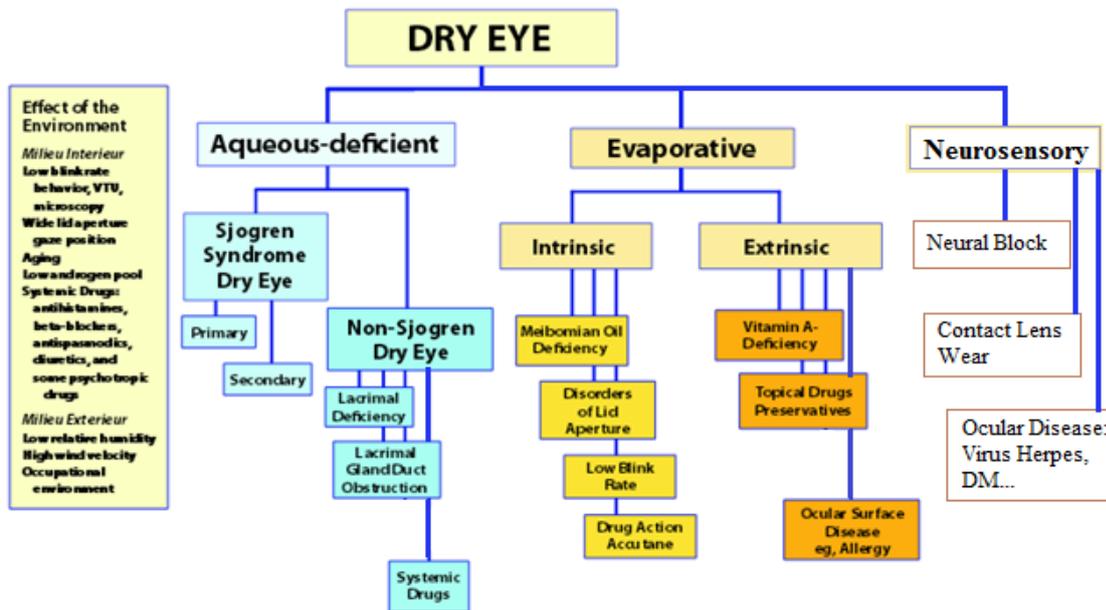


Fig.3. Definición y clasificación, Adaptado de DEWS

Así, se hablará de ojo seco por déficit acuoso (ADDE) o por déficit de vaporación (EDE). En el primer caso existe un déficit de producción acuosa de la lágrima y en el segundo predomina un exceso de la evaporación de ésta por alteración cuanti/cualitativa de la capa lipídica. La menor cantidad del componente acuoso que se da en el ADDE, se asocia a un aumento de la osmolaridad lagrimal, siendo esta hiperosmolaridad responsable del daño epitelial de la SSO. La evaporación no se verá aumentada hasta etapas posteriores de la enfermedad¹⁵. Cuando el volumen lagrimal se encuentra significativamente reducido, la dispersión¹⁶ de la capa lipídica estará alterada y aumentará la evaporación del componente acuoso. Por lo tanto en las etapas más avanzadas de la enfermedad encontraremos más de un mecanismo etiológico actuando a la vez.

Dentro del ADDE encontramos dos subclasificaciones: ojo seco asociado al síndrome de Sjögren (SSDE) y el ojo seco no asociado al síndrome de Sjögren (NSSDE). En el SSDE el déficit acuoso está producido por una exocrinopatía autoinmune, cuyos tejidos diana son principalmente las glándulas salivares y las lagrimales. Puede dividirse a su vez en primario o secundario, es decir asociado a otras enfermedades conectivas autoinmunes como la artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico entre otras. Los criterios diagnósticos de este síndrome vienen recogidos en la tabla 1. El NSSDE incluye el resto de causas no asociadas a este síndrome que producen déficit acuoso (Tabla 2).

I. Ocular symptoms: a positive response to at least one of the following questions:

1. Have you had daily, persistent, troublesome dry eyes for more than 3 months?
2. Do you have a recurrent sensation of sand or gravel in the eyes?
3. Do you use tear substitutes more than 3 times a day?

II. Oral symptoms: a positive response to at least one of the following questions:

1. Have you had a daily feeling of dry mouth for more than 3 months?
2. Have you had recurrently or persistently swollen salivary glands as an adult?
3. Do you frequently drink liquids to aid in swallowing dry food?

III. Ocular signs—that is, objective evidence of ocular involvement defined as a positive result for at least one of the following two tests:

1. Schirmer's I test, performed without anaesthesia (≤ 5 mm in 5 minutes)
2. Rose bengal score or other ocular dye score (≥ 4 according to van Bijsterveld's scoring system)

IV. Histopathology: In minor salivary glands (obtained through normal-appearing mucosa) focal lymphocytic sialoadenitis, evaluated by an expert histopathologist, with a focus score ≥ 1 , defined as a number of lymphocytic foci (which are adjacent to normal-appearing mucous acini and contain more than 50 lymphocytes) per 4 mm² of glandular tissue¹⁸

V. Salivary gland involvement: objective evidence of salivary gland involvement defined by a positive result for at least one of the following diagnostic tests:

1. Unstimulated whole salivary flow (≤ 1.5 ml in 15 minutes)
2. Parotid sialography showing the presence of diffuse sialectasias (punctate, cavitory or destructive pattern), without evidence of obstruction in the major ducts¹⁹
3. Salivary scintigraphy showing delayed uptake, reduced concentration and/or delayed excretion of tracer²⁰

VI. Autoantibodies: presence in the serum of the following autoantibodies:

1. Antibodies to Ro(SSA) or La(SSB) antiaens. or both

For primary SS

In patients without any potentially associated disease, primary SS may be defined as follows:

- a. The presence of any 4 of the 6 items is indicative of primary SS, as long as either item IV (Histopathology) or VI (Serology) is positive
- b. The presence of any 3 of the 4 objective criteria items (that is, items III, IV, V, VI)
- c. The classification tree procedure represents a valid alternative method for classification, although it should be more properly used in clinical-epidemiological survey

For secondary SS

In patients with a potentially associated disease (for instance, another well defined connective tissue disease), the presence of item I or item II plus any 2 from among items III, IV, and V may be considered as indicative of secondary SS

Exclusion criteria:

- Past head and neck radiation treatment
- Hepatitis C infection
- Acquired immunodeficiency disease (AIDS)
- Pre-existing lymphoma
- Sarcoidosis
- Graft versus host disease
- Use of anticholinergic drugs (since a time shorter than 4-fold the half life of the drug)

Tabla 1. Criterios Internacionales para el síndrome de Sjögren

Déficit primario glándula lacrimal	Obstrucción conductos lágrimales				
Asociado a la edad Alacrimia congénita Disautonomía familiar	Tracoma Penfigoide cicatricial y de mucosas Eritema múltiple Quemaduras químicas				
Déficit secundario glándula lacrimal	Hiposecreción refleja				
Infiltración glándula lagrimal Sarcoidosis, Linfoma, SIDA Enfermedad injerto contra huésped Ablación de glándula Denervación de glándula	<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;">Bloqueo sensorial reflejo</td> <td style="text-align: center;">Bloqueo motor reflejo</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Lente contacto Diabetes</td> <td style="text-align: center;">Queratitis neurotrófica Neuropatía V y VIIpar Neuromatosis múltiple Medicación sistémica</td> </tr> </table>	Bloqueo sensorial reflejo	Bloqueo motor reflejo	Lente contacto Diabetes	Queratitis neurotrófica Neuropatía V y VIIpar Neuromatosis múltiple Medicación sistémica
Bloqueo sensorial reflejo	Bloqueo motor reflejo				
Lente contacto Diabetes	Queratitis neurotrófica Neuropatía V y VIIpar Neuromatosis múltiple Medicación sistémica				

Tabla 2. Enfermedades asociadas al NSSDE

2.1.4.2 CLASIFICACIÓN DE LA GRAVEDAD DE EOS

Otra clasificación que nos puede ayudar a ordenar la intensidad del proceso, servir de base para la elección de tratamiento y la monitorización de éste, es la clasificación por gravedad:

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

*Debe presentar signos y síntomas. TFBUT: tiempo de ruptura lagrimal con fluoresceína. MGD: disfunción de la glándula de meibomio

Tabla 3. Esquema de clasificación de la gravedad para EOS. DEWS 2007

Debido a la discrepancia entre síntomas y signos en muchos pacientes, esta clasificación no siempre refleja el verdadero estado del proceso.

Por ello recomendamos un acercamiento al paciente en base a los hallazgos diagnósticos de las diferentes pruebas objetivas y subjetivas, más que en base a clasificación etiológica o de gravedad. Aún así se reconoce su utilidad orientativa en la práctica diaria y su uso como criterio unificado para realización de estudios.

2.1.5 EPIDEMIOLOGÍA

2.1.5.1 PREVALENCIA

El rango de prevalencia de la EOS se estima entre el 5%¹⁷ -35%¹⁸. Se trata de un rango amplio, ya que incluye las prevalencias de diversos estudios internacionales. Así, si observamos los

estudios más amplios en EEUU, la prevalencia está entre el 7,8%-14,5% mientras que en los estudios de países asiáticos se encuentra entre el 17%-33.7%¹⁹ (Tabla 4).

	Estudio	N	Edad (años)	Prevalencia (%)
USA	Salisbury Eye Study	2.420	≥ 65	14,6
	Beaver Dam	3.722	≥ 48	14,4
	Women's Health Study	36.995	≥ 49	7,8
EUROPA	Reino Unido	932		31,0
	España	654	≥ 40	11,0
	Italia	1.200		57,1
ASIA	Shihpai	2.038	≥ 65	33,7
	Sumatra	1.058	≥ 21	27,5

Tabla 4. Resumen estudios internacionales prevalencia de EOS

La explicación a esta variación en la prevalencia podría explicarse por las diferencias raciales no firmemente avaladas por los estudios, y por los diferentes criterios de inclusión, incluida la edad, en dichos estudios. El hecho de no haber tenido hasta la fecha de realización de estos estudios, una definición común de EOS, la falta de repetibilidad de las pruebas diagnósticas y la propia variabilidad de la enfermedad, plantean una dificultad añadida para estimar la verdadera prevalencia e incidencia de la EOS.

2.1.5.2 INCIDENCIA

Para estimar el número de casos nuevos de EOS en una población determinada en un período definido debemos recurrir a bases de datos dinámicas como Medicare/Medicaid de EE.UU. Según estos datos se observó un incremento de la incidencia²⁰ de EOS del 57,4%, entre 1991 y 1998.

2.1.5.3 FACTORES RIESGO

El estudio de los diversos factores que pudiesen contribuir al desarrollo de EOS ha aumentado significativamente en los últimos 20 años. La dificultad en diferenciar los factores de confusión respecto a los de riesgo, explica la gran cantidad de estudios que se contradicen. A continuación se resume en un cuadro los factores de riesgo asociados a EOS según su evidencia científica (Tabla 5)

NIVEL DE EVIDENCIA A	NIVEL DE EVIDENCIA B	NIVEL DE EVIDENCIA C
Edad avanzada	Diabetes mellitus	Menopausia
Sexo femenino	Asiáticos	Acné
Deficiencia de andrógenos	Disfunción ovárica	Anticonceptivos orales
Terapia hormonal en la menopausia	VIH/HTLV1	Embarazo
Antihistamínicos	Sarcoidosis	Hispano
Cirugía refractiva con láser excimer	Disfunción ovárica	Tabaquismo
Dieta baja en ácidos grasos omega3	Antidepresivos tricíclicos	Gota
Alta relación dieta omega 6/omega3	Diuréticos	Ansiofíticos
Déficit dieta vitamina A	B-Bloqueantes	Alcohol
Enfermedad tejido conectivo	Inh. Selec recaptación serotonina	Antipsicóticos
VHC	Isotretinoína	Anticolinérgicos
Radioterapia	QT	
Transplante de médula ósea	Incisiones grandes corneales	
	Queratomía penetrante	

A. Al menos 1 estudio bien potenciado y conducido en publicación revisada por expertos y con razonamiento biológico plausible y datos de investigación básica o clínica que corroboren
B. Información no concluyente revisada por expertos
C. Información en conflicto de publicaciones revisadas por expertos

Tabla 5. Factores riesgo del EOS. DEWS 2007

2.1.5.4 REPERCUSIONES

Dado que la prevalencia de EOS es mayor entre la población de mayor edad, y si asumimos el constante envejecimiento de la población mundial, esta es una enfermedad con importantes repercusiones en la salud pública. Sus repercusiones tienen consecuencias no sólo en la calidad de vida de los pacientes sino también económicas.

➤ REPERCUSIONES EN LA CALIDAD DE VIDA

La repercusión de esta enfermedad afecta no solo a la función visual y su impacto en el desempeño visual, sino también a la sintomatología que percibe el paciente y la repercusión en su bienestar general. Los pacientes con EOS tiene más dificultad para leer, usar el ordenador, ver la televisión, conducir e incluso para desempeñar su trabajo profesional que aquellos que no la tienen²¹. La búsqueda de herramientas²² para valorar el impacto sobre la calidad de vida tiene cada vez mayor interés. Los estudios de “evaluación útil” son métodos formales para cuantificar y comprender el impacto relativo de un estado de salud o enfermedad en los pacientes. En ellos los pacientes con EOS moderada y severa califican este impacto similar al referido por pacientes en diálisis o con angina de pecho²³⁻²⁴.

➤ REPERCUSIONES ECONÓMICAS

Las repercusiones de la EOS incluyen los costos directos derivados del diagnóstico y tratamiento de la enfermedad, así como los gastos indirectos por pérdida de la productividad laboral. Son múltiples los estudios que intentan acercarse a este problema en diferentes países. Así en diferentes países de Europa (España, Francia, Alemania, Suecia, Italia y Reino Unido) el coste directo anual por paciente es de 664 \$²⁵, en Japón es de 530 \$²⁶ mientras que en Estados Unidos (US) es de 783 \$²⁷. El costo directo anual por paciente derivado del gasto farmacéutico en Europa es de 218 \$, en Japón es de 299 \$, mientras que en U es de 323\$. El costo indirecto por pérdida de productividad anual por paciente en US es de 5.362 \$ y de 741 \$ en Japón. Esta diferencia se

atribuye a la diferencia por sexos del mercado laboral entre Estados Unidos y Japón, ya que Japón el mercado laboral femenino es mucho menor. Este costo indirecto incluye los costos por absentismo laboral y preabsentismo²⁸, es decir pérdida de efectividad/ productividad pese a acudir al trabajo. En total se atribuye un costo anual indirecto asociado a pérdida laboral de 55.400 millones de \$.

2.1.6 FISIOLÓGÍA

2.1.6.1 FISIOLÓGÍA DE LA SUPERFICIE OCULAR

El SSO supone una continuidad de epitelios que deben permanecer hidratados, lubricados, nutridos, estabilizados en su superficie para una correcta función óptica y a salvo de agresiones externas por la película lagrimal (PL). El volumen lagrimal aproximado es de 6-10 μ l, con una producción basal de lágrima de 1.2 μ L/minuto y una renovación del 16% de su volumen por minuto. Presenta un pH de 7,4 (7.2-7.7) y una osmolaridad de 295-316 mOsm/L.

Lágrimas		Plasma
<i>Propiedades físicas</i>		
pH	7,4 (7,2-7,7)	7,39
Presión osmótica	305 mOsm/kg Equiv. NaCl 0,95 %	6,64 atm
Índice de refracción	1,357	1,35
Volumen	0,50-0,67 g/16 horas (vigilia)	
<i>Propiedades químicas</i>		
1. Composición general de la lágrima		
Agua	98,2 g/100 mL	98 g/100 mL
Sólidos (total)	1,8 g/100 mL	8,6 g/100 mL
Cenizas	1,05 g/100 mL	0,6-1,0 g/100 mL
2. Electrolitos		
Sodio	120-170 mmol/L	140 mmol/L
Potasio	26-42 mmol/L	4,5 mmol/L
Calcio	0,3-2,0 mmol/L	2,5 mmol/L
Magnesio	0,5-1,1 mmol/L	0,9 mmol/L
Cloruro	120-135 mmol/L	100 mmol/L
Bicarbonato	26 mmol/L	30 mmol/L
3. Antiproteinasas		
α_1 -antitripsina (α_1 -at)	0,1-3,0 mg%	280 mg%
α_1 -antiquimotripsina	1,4 mg%	24 mg%
Inhibidor de inter- α -tripsina	0,5 mg%	20 mg%
α_2 -macroglobulina	3-6 mg%	--
4. Sustancias nitrogenadas		
Proteínas totales	0,668-0,800 g/100 mL	6,7 g/100 mL
Albumina	0,392 g/100 mL	4,0-4,8 g/100 mL
Globulinas	0,2758 g/100 mL	2,3 g/100 mL
Amoniaco	0,005 g/100 mL	0,047 g/100 mL
Ácido úrico		
Urea	0,04 mg/100 mL	26,8 mg/100 mL
Nitrógeno total	158 mg/100 mL	1140 mg/100 mL
Nitrógeno no proteico	51 mg/100 mL	15-42 mg/100 mL
5. Hidratos de carbono		
Glucosa	2,5 (0-5,0) mg/100 mL	80-90 mg/100 mL
6. Esteroles		
Colesterol y ésteres de colesterol	8-32 mg/100 mL	200-300 mg/100 mL
7. Varios		
Ácido cítrico	0,6 mg/100 mL	
Ácido ascórbico	0,14 mg/100 mL	2,2-2,8 mg/100 mL
Lisozima	1-2 mg/mL	0,1-0,7 mg/100 mL
Aminoácido	7,58 mg/100 mL	--
Ácido láctico	1-5 mmol/L	--
Prostaglandina	75 pg PF/mL	0,5-0,8 mmol/L
	300 pg PF/mL	80-90 pg PF/mL
Catecolamina	0,5-1,5 μ g/mL	
Complemento	Dilución 1:4 (Prueba hemolítica)	Dilución 1:32 (Prueba hemolítica)

Fig 4. Composición de las lágrimas y plasma humano. Ojo seco y otros trastornos de la superficie ocular ©2008. Editorial Médica Panamericana

La PL tiene a nivel precorneal un espesor de $3\mu\text{m}$ medido mediante interferometría²⁹, presenta dos capas, una externa de naturaleza lipídica y otra interna muco-acuosa. Esta última es producida principalmente por la glándula principal, en menor aportación por las accesorias y mínimamente por la conjuntiva. Se propone que existe una producción basal y otra refleja por parte de estas glándulas, aunque la basal podría suponer también una respuesta frente a estímulos más sutiles y constantes. La capa acuosa se compone en más de 98% de agua, en ella van disueltas gran cantidad de sustancias (Fig.4) entre las que destacan las mucoproteínas (MUC). Estas son glicoproteínas producidas por las células epiteliales conjuntivales y corneales. Se pueden agrupar en dos grupos: las transmembrana o MUC de la superficie formadora del glicocalix y las formadoras de gel como la MUC5AC, producidas por las células caliciformes y son liberadas a la PL. Estas MUC se encuentran en mayor concentración próximas al glicocalix de los epitelios corneal y conjuntival, ayudando a su lubricación³⁰, dificultando la adherencia bacteriana, aglomerando elementos externos, epitelio descamado y células inflamatorias formando hebras mucosas que serán eliminadas³¹. El alto carácter hidrofílico de estas MUC formadoras de gel facilitan su unión a la capa acuosa de la PL y a su vez al glicocalix.

La capa lipídica tiene un espesor entre 15- 150 nm³². Está producida por las glándulas de Meibomio, y su principal función es facilitar la extensión³³ y retrasar la evaporación de la capa muco-acuosa. La estabilidad de esta capa es fundamental para el correcto funcionamiento de la PL. Su composición y su exposición a través³⁴ de la apertura palpebral a las condiciones ambientales, como humedad y el flujo de aire, condicionan que esta capa se rompa en algún punto expuesto. Esta rotura favorece la evaporación de la capa muco-acuosa que en condiciones normales supone entre el 10-25 % del volumen total. La disminución del componente acuoso genera un aumento de la osmolaridad localizada que se irá extendiendo conforme aumenta la evaporación por toda la PL.

Diversos estímulos físicos como el aumento de aberraciones ópticas, cambios en la temperatura, mecánicos sobre la superficie o químicos como el aumento de la osmolaridad entre otros inducen el reflejo del parpadeo. La frecuencia de parpadeo en condiciones ambientales no desfavorables (22°C-40% humedad) está entre 15-20 por minuto³⁵. Este reflejo está condicionado por estados mentales como por ejemplo la concentración durante la lectura en la que la frecuencia de parpadeo se encuentra disminuida.

Con el parpadeo conseguimos refrescar la PL, aportando un nuevo componente acuoso y lipídico, además de eliminar detritus y sustancias externas atrapadas en la lágrima hacia los canalículos lagrimales. Con la contracción del músculo orbicular no solo favorecemos la succión de la PL sino que se aumenta la salida de meibo desde las glándulas de meibomio y que se deposita en el borde palpebral a modo de reservorio. Este reservorio almacena 30 veces³⁶ la cantidad habitual hallada en la PL. Durante los primeros milisegundos de la apertura palpebral se observa mediante interferometría como la capa lipídica se extiende de temporal a nasal y de arriba hacia abajo rápidamente³⁷ (10 mm/s) hasta empezar a estabilizarse después del primer segundo hasta los 6 segundos tras el parpadeo.

Estabilizada la PL, esta se mantendrá recubriendo los epitelios al menos durante el tiempo que se mantenga el párpado abierto (período interparpadeo) de manera que el índice de protección ocular (IPO) sea >1 . Este índice es el TFBUT dividido por el período interparpadeo. Cuando es <1 la capa lipídica rompe antes de que pueda ser renovada por el siguiente parpadeo. Existe además una parte de la PL que no recubre los epitelios y es el menisco lagrimal. Su volumen puede ser

medida directa del volumen lagrimal³⁸. La medición de la osmolaridad del menisco lagrimal también está directamente relacionada con la de la PL. En el menisco³⁹, la osmolaridad es ligeramente menor que en la PL, siendo la variabilidad de la osmolaridad pequeña en sujetos sanos⁴⁰.

2.1.6.2 FISIOPATOLOGÍA EN LA EOS

En las conclusiones del DEWS se asumen dos mecanismos como los responsables principales del inicio y amplificación de los procesos que ocurren en la EOS. Estos son la hiperosmolaridad y la inestabilidad del ojo seco.

Se considera que el aumento de la concentración de los solutos disueltos en el componente acuoso de la película lagrimal es el elemento principal responsable del daño epitelial así como del inicio de los síntomas y respuesta inflamatoria en la SSO.

La osmolaridad de película lagrimal extendida sobre la SSO es mayor que la del líquido lagrimal secretado inicialmente desde la glándula y que la que se registra en los meniscos. En las primeras fases del EOS sea cual sea su forma inicial, existe un adelgazamiento⁴¹ rápido de la película lagrimal por déficit de producción (ADDE) o por exceso de evaporación (EDE). Esta hiperosmolaridad induce por sí misma cambios en las membranas de los epitelios por estrés osmótico con la activación de señales inflamatorias que induzcan la necroptosis celular incluidas la de las células caliciformes. El daño sobre estas últimas afectará a la producción de mucoproteínas⁴² generando inestabilidad lagrimal. Esta inestabilidad lagrimal⁴³ puede ser factor desencadenante de EOS independiente de la hiperosmolaridad.

Como respuesta a este daño habrá una respuesta compensadora refleja con aumento de la producción lagrimal y del parpadeo por la estimulación de las terminaciones nerviosas. Esta respuesta compensadora será mayor en cuanto a aumento de lagrimeo reflejo en el EDE ya que en el ADDE las reservas de producción están limitadas. La cronificación del proceso terminará por agotar la respuesta refleja compensadora por el daño inflamatorio sobre la propia glándula lagrimal pero también sobre las terminaciones nerviosas con reducción de la sensibilidad corneal⁴⁴.

Dependiendo de la causa de EOS, de la fase en la que se encuentre y del mecanismo compensador encontraremos unos hallazgos a la exploración e incluso una clínica referida por el paciente (Fig.5)

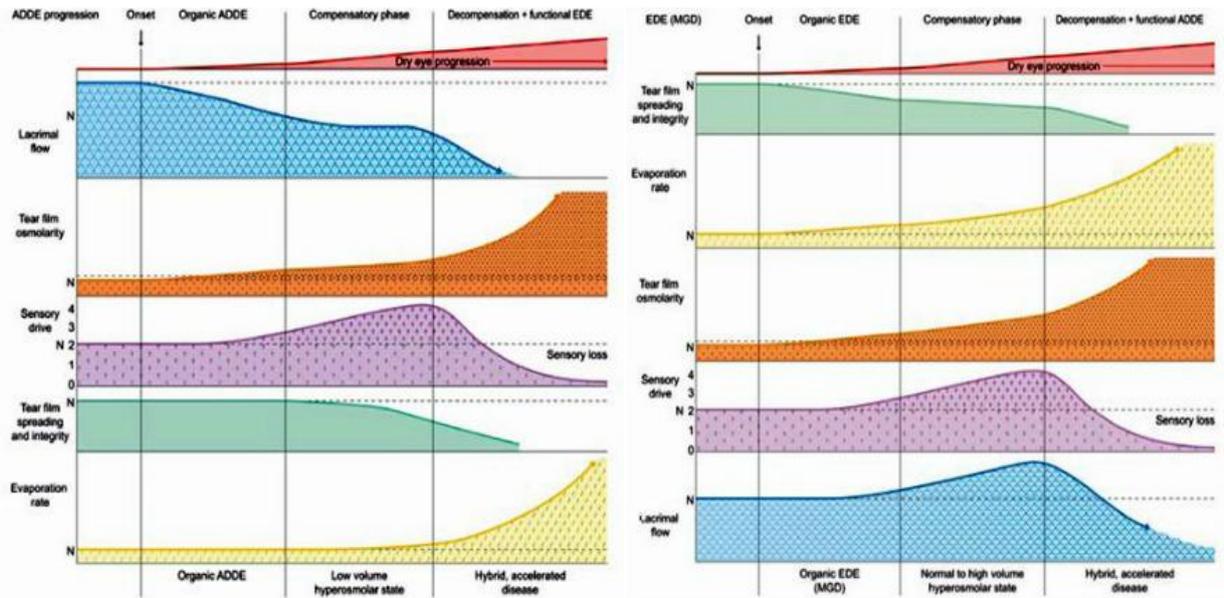


Fig.5 Predicted Phenotypes on Dry Eye, Natural History. Anthony J. Bron, The Ocular Surface 2009

Cabe destacar el papel de la hiperosmolaridad en todo el proceso fisiopatológico ya que se considera el principal mecanismo causante de daño epitelial y promotor de la respuesta inflamatoria. La osmolaridad sanguínea está entre 285-295 mOsm/L y la de la PL debe estar en constante homeostasis con esta. En pacientes sanos se encuentra entre 302.2 mOsm/L (SD 9.7), mientras que en pacientes con EOS está en 326,9 (SD 22.1). Se ha demostrado tanto en *estudios in vitro* como *in vivo* experimentales, que en presencia de osmolaridades altas se inducen cambios en la morfología de las células epiteliales. Se ha especulado que estos cambios pueden activar proteínas quinasas transmembrana (JNK y ERK) que aumente la expresión de productos proinflamatorios como la IL-1 β , metaloproteína 9 (MMP-9) o TNF- α . Activando de esta manera la cascada inflamatoria.

2.1.7 DIAGNÓSTICO

2.1.7.1. INTRODUCCIÓN

En la EOS no existe ninguna “prueba de oro” con la validez suficiente como para establecer su diagnóstico por sí sola. La débil repetibilidad de las pruebas diagnósticas usadas en la práctica clínica es atribuible a las características propias de dicha enfermedad.

La gran variabilidad de su presentación se ve reflejada no solo a lo largo de la evolución hacia su cronificación, sino dependiendo de las condiciones de la SO a lo largo del día e incluso de las condiciones ambientales a las que se vea expuesta. De manera que una misma prueba aplicada al mismo sujeto puede dar resultados diferentes incluso en condiciones similares. Al incluir los síntomas como parte del diagnóstico aumentamos aún más dicha variabilidad por su subjetividad.

Por otra parte, debido a la etiología múltiple de esta enfermedad, son necesarias técnicas diagnósticas que nos orienten en su origen y/o a los mecanismos compensadores que actúan sobre la SO en un momento dado.

El hecho de que exista una definición consensuada de la EOS puede ayudar en su diagnóstico pero el hecho de que sea una enfermedad heterogénea en su etiología, con una gran variabilidad clínica, sumado a la falta de pruebas diagnósticas con una repetibilidad consistente, convierten su diagnóstico en un reto.

Otro reto ante el que nos enfrentamos es establecer puntos de corte consensuados en los valores obtenidos en dichas pruebas para mejorar su rentabilidad diagnóstica. Necesitaremos unos valores de sensibilidad/especificidad y valores predictivos aceptables.

Pese a los avances con las nuevas técnicas diagnósticas y la progresiva estandarización de las ya conocidas, una orientada anamnesis junto a una exhaustiva exploración, siguen siendo la base del diagnóstico.

A continuación se expondrán las diferentes técnicas diagnósticas utilizadas para este trabajo con el fin de facilitar su comprensión y resultados que muestran. Se mostrará una breve descripción, su finalidad, características de la prueba como sensibilidad y especificidad para diversos puntos de corte si los hubiese, alternativas y problemas que presenta.

Resulta fundamental a la hora de realizar las siguientes pruebas diagnósticas sobretodo con fines de investigación, que las condiciones ambientales del lugar de realización sean conocidas y estables ya que cambios en la temperatura, humedad o flujos de aire pueden influir en sus repetibilidades. Se excluye de esta condición a los cuestionarios de síntomas.

2.1.7.2. VALORACIÓN DE LA AGUDEZA VISUAL (AV)

La agudeza visual (AV) es la capacidad del sistema visual para percibir y discriminar detalles finos de un objeto bajo unas condiciones aceptables de iluminación. Matemáticamente la AV se define como la inversa del ángulo con el que se resuelve el objeto más pequeño identificado (Fig. 6):

$$AV = 1/\alpha$$

$$AV = \frac{\text{Distancia del test}}{\text{Distancia a la que la letra subtendería un ángulo de } 5'}$$

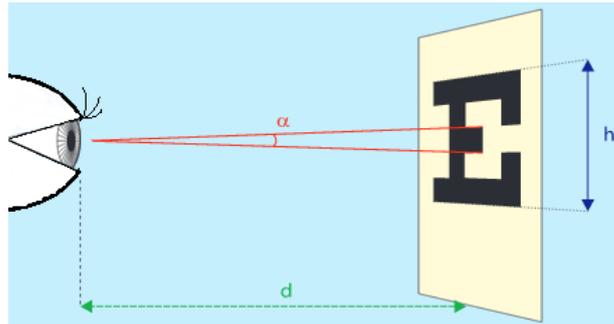


Fig.6. Donde α es el tamaño angular (medida de la AV), d es la distancia del sujeto al optotipo y h es la altura del mismo. Se suele expresar el tamaño del optotipo como el valor del ángulo visual α (expresado en minutos de arco) más que por su tamaño lineal, ya que es independiente de la distancia.

➤ VALORACIÓN DE LA AGUDEZA VISUAL DE LEJOS. AGUDEZA SNELLEN

Para cuantificar la agudeza visual, se presentan unos test de alto contraste con optotipos normalizados, de diferentes tamaños, a una distancia constante. Los optotipos Snellen se caracterizan por que su tamaño angular es de 5 minutos de arco y equivalentes a 5 veces el grosor de su trazo (Fig.7).

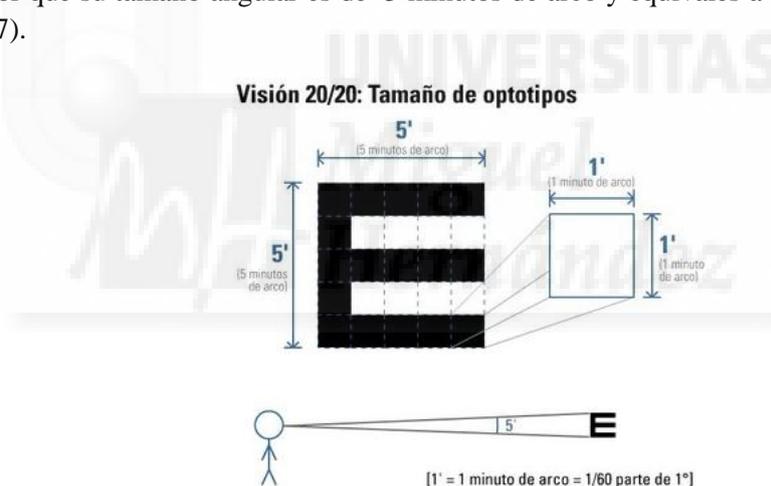


Fig. 7 Optotipo Snellen

Los test para medir la AV de lejos, son presentados a 6 metros (infinito óptico) aunque con los proyectores pueden ser ajustados a diferentes distancias de manera que el tamaño de las imágenes es directamente proporcional al conjunto de optotipos de la misma línea e inversamente proporcional a la distancia que se presentan. Podemos expresarlo en unidad métrica (mts) o pies, donde 6 mts = 20 pies. En la AV Snellen, el tamaño mínimo que puede ser discriminado (correspondiente a una AV de 20/20) será un optotipo de 5 minutos de arco. La agudeza de Snellen resulta de dividir la distancia de realización del test por la distancia a la que el carácter más pequeño leído subtende a 5 minutos de arco (medida del tamaño de la letra).

Como ejemplo: $AV = 20/40$ (pies) = $6/12$ (metros) = 0,5 (equivalente decimal)

“Distancia a 6 metros / distancia a la que el optotipo más pequeño subtiende a 5´ arco, o dicho de otra manera, la mínima letra que es capaz de reconocer a 6 metros sería vista a 12 metros por un sujeto con una AV estándar”.

Como vemos en el ejemplo anterior, la manera de presentación de la agudeza Snellen será en forma de fracción (metro o pies) o decimal u otras formulaciones como mínimo ángulo de resolución (MAR), su logaritmo o el valor de la agudeza visual (VAR). Tabla 6 de equivalencias de anotación.

Snellen (m)	Snellen (ft)	Decimal	LogMAR	VAR
6/3	20/10	2,00	-0,3	115
6/3,75	20/12,5	1,60	-0,2	110
6/5	20/16	1,25	-0,1	105
6/6	20/20	1,00	0,0	100
6/7,5	20/25	0,80	+0,1	95
6/10	20/32	0,63	+0,2	90
6/12	20/40	0,50	+0,3	85
6/15	20/50	0,40	+0,4	80
6/20	20/63	0,32	+0,5	75
6/24	20/80	0,25	+0,6	70
6/30	20/100	0,20	+0,7	65
6/38	20/125	0,16	+0,8	60
6/48	20/160	0,125	+0,9	55
6/60	20/200	0,1	+1,0	50

Tabla 6. Equivalencias de las diferentes anotaciones de valoración de la agudeza visual

➤ MEDIDA DE LA AV. MEJOR AGUDEZA VISUAL CORREGIDA

Podemos medir la AV sin corrección o corrección, de manera monolateral y posteriormente de manera bilateral. La AV con corrección podrá ser con la que use habitualmente (con corrección habitual) o la que proporcione una mejor AV tras refracción (con mejor AV corregida).

Con la AV solo medimos un aspecto de la función visual, la cual incluye más aspectos a tener en cuenta.

➤ FUNCIÓN VISUAL

La función visual es el sistema que nos permite percibir, transmitir, integrar y dar significado a los estímulos luminosos externos. Para ello es necesario el correcto estado anatómico y funcional de las distintas partes del ojo. Entre ellas destaca una película lagrimal (PL) estable que proporcione una buena AV en el tiempo interparpadeo y una SO íntegra y transparente para el adecuado paso de luz al interior del ojo. En un sistema óptico compuesto por varias superficies

cada una con diferentes índices de refracción, como ocurre en el ojo, será la que se encuentre entre dos medios con mayor diferencia entre índices, la de mayor poder refractivo. De este hecho se reconoce la importancia de la PL pues presenta la mayor diferencia (aire/lágrima). Se ha visto como los cambios asociados a irregularidades de la PL, en particular en la EOS, inducen más aberraciones ópticas de alto orden (HOAs)⁴⁵ (Fig.8) y contribuyen con ello a un empeoramiento en la calidad de la imagen retiniana (Fig.9). Este incremento de las HOAs parece correlacionarse bien con TFBUT⁴⁶ que se verá condicionado por la estabilidad lagrimal alterada en EOS.

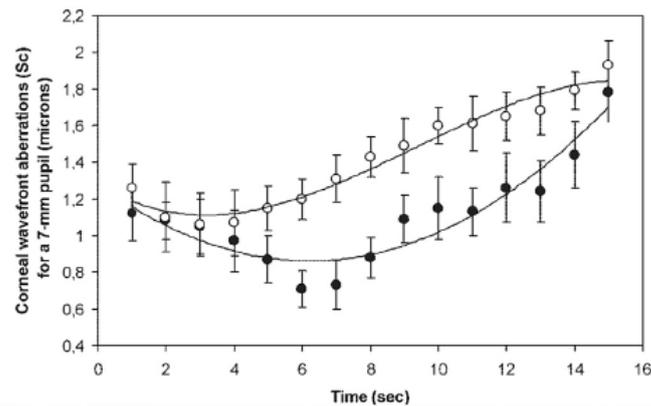


Fig. 8. Aberraciones de alto orden después del parpadeo en paciente con(○)/sin(●) ojo seco. Montes-Mico R, Alio JL, Charman WN. *Dynamic changes in the tear film in dry eyes.* Invest Ophthalmol Vis Sci 2005;46(5):1615-9

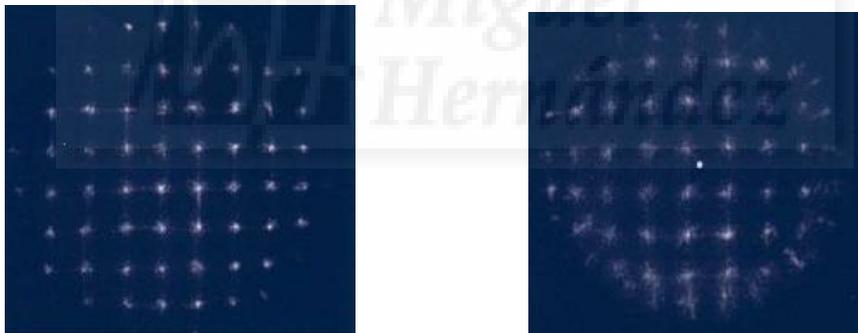


Fig. 9. Patrón de puntos tomados con el aberrómetro (pupila de 6.0 mm) en paciente normal (izq) y un paciente con EOS (drch), a los 5 segundos.

De todo ello concluimos que la valoración de agudeza visual es una prueba importante para valorar la función visual y por lo tanto debe formar parte imprescindible de la exploración clínica del paciente con EOS. A pesar de ello los pacientes con EOS a menudo presentan AV normales, sobre todo en casos leves, pese a que suelen referir mala AV y visión borrosa. Esto puede deberse a que las valoraciones no dinámicas no detectan la inestabilidad de la película lagrimal tras el parpadeo. El paciente es capaz de ver bien, siempre que no presente alteraciones en la superficie epitelial corneal⁴⁷ nada más parpadear, pero conforme pasan los segundos esta AV empeora.

Para valorar esta dinámica de la inestabilidad lagrimal en la AV se han desarrollado mediciones como la agudeza visual funcional (AVF)⁴⁸ que permite valorar la variación de la AV durante un intervalo corto de tiempo (30 segundos), en el cual el sujeto no parpadea. El test comienza estableciendo una AV base (mejor AV corregida para ese paciente). A continuación, tras

instilar anestésico tópico, se pide al paciente que no parpadee mientras identifica optotipos C de Landolt. Si identifica el optotipo se repite con el mismo tamaño pero si no, el tamaño va aumentando. De esta manera se ve como el paciente necesita aumentar el tamaño conforme pasa el tiempo tras el último parpadeo. La AVF está disminuida en EOS⁴⁹ y se mantiene estable en sanos. Una alternativa a AVF es la del *test de caída de la AV en el intervalo interparpadeo* que mide los cambios de AV entre parpadeo en milisegundos.

Otros aspecto que podemos valorar es la pérdida de sensibilidad al contraste⁵⁰, así como las alteraciones aberrométricas⁵¹ que se producen en pacientes con EOS.

2.1.7.3. CUESTIONARIO DE SÍNTOMAS (OSDI)

El uso de cuestionarios de síntomas para el diagnóstico de la EOS se ha convertido en herramienta necesaria dada la importancia de la sintomatología en esta enfermedad. Existen más de 25 cuestionarios validados de síntomas y calidad de vida aunque solo uno pocos se utilizan con frecuencia tanto para la práctica clínica como para investigación (Tabla.7).

Cuestionario	Nº Preguntas	Año
McMonnies	12	1986
Índice de enfermedad de la superficie ocular (OSDI)	12	2000
Estudio canadiense de epidemiología del ojo seco (CANDEES)	13	1997
Clasificación internacional de Sjögren	3	2002
Cuestionario del ojo seco (DEQ)	21	2003
Impacto del ojo seco en la vida cotidiana (IDEEL)	57	2005
Evaluación del ojo seco por el paciente (SPEED)	12	2005

Tabla 7. Cuestionarios de síntomas de uso habitual en la práctica clínica. (DEWS 2007)

Se describe a continuación el test empleado para este estudio:

ÍNDICE DE ENFERMEDAD DE LA SUPERFICIE OCULAR OCULAR SURFACE DISEASE INDEX (OSDI)

➤ DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA:

Este cuestionario fue desarrollado por el Outcomes Reseach Group para Allergan (Irvine, Calif.). Inicialmente se generó a partir de los comentarios de los pacientes en estudios sobre calidad de vida y con sugerencias por parte de los oftalmólogos. Inicialmente tenía 40 preguntas que finalmente se redujeron a las 12 actuales. Es uno de los cuestionarios más utilizado en la práctica clínica y en investigación. Consta de 12 preguntas agrupadas en 3 subgrupos. El primer subgrupo hace referencia a las molestias oculares que percibe el paciente y consta de 5 preguntas. El segundo subgrupo consta de 4 preguntas a cerca de la funcionalidad, de aquellas actividades diarias como conducir, leer, ver televisión, se han visto limitadas por problemas oculares. El tercer subgrupo consiste en 3 preguntas acerca de factores ambientales como viento o baja humedad, que emporan los síntomas oculares (Fig. 10).

Ocular Surface Disease Index® (OSDI®)²

Ask your patients the following 12 questions, and circle the number in the box that best represents each answer. Then, fill in boxes A, B, C, D, and E according to the instructions beside each.

Have you experienced any of the following during the last week?	All of the time	Most of the time	Half of the time	Some of the time	None of the time
1. Eyes that are sensitive to light? ..	4	3	2	1	0
2. Eyes that feel gritty?	4	3	2	1	0
3. Painful or sore eyes?	4	3	2	1	0
4. Blurred vision?	4	3	2	1	0
5. Poor vision?	4	3	2	1	0

Subtotal score for answers 1 to 5

Have problems with your eyes limited you in performing any of the following during the last week?	All of the time	Most of the time	Half of the time	Some of the time	None of the time	N/A
6. Reading?	4	3	2	1	0	N/A
7. Driving at night?	4	3	2	1	0	N/A
8. Working with a computer or bank machine (ATM)?	4	3	2	1	0	N/A
9. Watching TV?	4	3	2	1	0	N/A

Subtotal score for answers 6 to 9

Have your eyes felt uncomfortable in any of the following situations during the last week?	All of the time	Most of the time	Half of the time	Some of the time	None of the time	N/A
10. Windy conditions?	4	3	2	1	0	N/A
11. Places or areas with low humidity (very dry)?	4	3	2	1	0	N/A
12. Areas that are air conditioned? ..	4	3	2	1	0	N/A

Subtotal score for answers 10 to 12

Fig. 10. Cuestionario OSDI. (Versión en español en sección anexos)

Todas las preguntas se contestan refiriéndose a lo ocurrido en la última semana por lo que es un excelente test para monitorizar tratamientos tras su aplicación.

El paciente contesta en una escala de máximo a mínimo, de la siguiente manera:

- En todo momento----- (4 ptos)
- Mayor parte del tiempo----- (3 ptos)
- La mitad del tiempo ----- (2 ptos)

Alguna vez ---- (1 pto)
 Nunca ----- (0 ptos)

Una vez tenemos los resultados debemos sumar el total de puntos obtenidos y en el caso de que no conteste a algún ítem, no se contabilizará. Esta cifra se multiplica por 25 y se divide por el número total de preguntas contestadas.

$$\text{OSDI} = \frac{[(\sum \text{Puntuaciones preguntas respondidas}) \times 25]}{[\text{n}^\circ \text{ preguntas respondidas}]}$$

Por ejemplo, un paciente que responda a todas las preguntas: la mitad del tiempo (2 ptos)

$$\text{OSDI} = \frac{[(\sum 2 \times 12) \times 25]}{[12]}$$

Tendrá la siguiente puntuación final en el OSDI: **50**

Se establecen así un grado de severidad según la puntuación OSDI:

PUNTUACIÓN OSDI	0-12	13-22	23-32	≥33
GRADO SEVERIDAD	NORMAL	LEVE	MODERADO	SEVERO

Esta asociación se establece asociando la puntuación media obtenida en el cuestionario con otras pruebas diagnósticas de la severidad de la EOS que no resultaron tener una correlación fuerte con el OSDI⁵².

➤ CARACTERÍSTICAS:

1. Presenta una sensibilidad (0.60) y especificidad (0.83) para discriminar entre pacientes normales y con EOS (Tabla 8) .
2. Presenta una buena sensibilidad (0.92) y especificidad (0.83) para discriminar entre pacientes con EOS moderado y grave⁵².
3. Presenta una buena correlación con otros test validados de uso común en la práctica clínica e investigación como son el test de McMonnides y el NEI VFQ-25.
4. Presenta una correlación pobre-media con test diagnósticos como la prueba de Schirmer I, FTBUT, tinción con fluoresceína y tinción con verde lisamina⁵³.
5. Presenta una alta fiabilidad con una consistencia interna y una repetibilidad de buena a excelente (Tabla 9)⁵².

	Based on Physician Rating		
	TH	Sensitivity	Specificity
Normal vs all dry eye			
OSDI total score	15.0	0.60	0.83
Vision-related function	12.5	0.47	0.77
Ocular symptoms	33.3	0.39	0.93
Environmental triggers	12.5	0.71	0.76
Normal vs severe dry eye			
OSDI total score	17.0	0.92	0.83
Vision-related function	13.0	0.92	0.77
Ocular symptoms	17.0	0.92	0.67
Environmental triggers	17.0	0.92	0.79

Tabla 8. Sensibilidad, especificidad y área bajo la curva del cuestionario OSDI⁵².

Table 2. Reliability of the Ocular Surface Disease Index			
	Internal Consistency: Cronbach α (95% Confidence Interval)		Test-Retest: Intraclass Correlation (95% Confidence Interval)
Ocular Surface Disease Index total score	0.92	0.89-0.94	0.82 (0.73-0.88)
Vision-related function	0.88	(0.84-0.92)	0.70 (0.56-0.80)
Ocular symptoms	0.92	(0.89-0.94)	0.74 (0.62-0.83)
Environmental triggers	0.78	(0.71-0.84)	0.81 (0.71-0.87)

Tabla 9. Fiabilidad del OSDI⁵².

➤ CONCLUSIONES

El OSDI ha demostrado ser un cuestionario de síntomas validado y fiable para valorar la calidad de vida en pacientes con EOS⁵⁴. Este cuestionario es una herramienta válida para establecer el diagnóstico de EOS en base a los síntomas y factores que los influyen. También es una herramienta para distinguir entre niveles de gravedad, pero no es suficiente para establecer el diagnóstico definitivo por sí solo ni para distinguir entre las diferentes etiologías. En nuestra experiencia es importante explicar al paciente las preguntas, sin condicionarlo, ya que hay ítems que pueden causar confusión como son: diferencia entre visión borrosa y baja visión. Estas dos preguntas pueden responderse de manera altamente positiva asociada a patologías que afecten a la AV sin tener asociación con EOS, como las cataratas.

Este cuestionario ha demostrado tener una pobre correlación con otros test diagnósticos como SCH, TFBUT o TFC por lo que la escala de clasificación basada en la puntuación OSDI presenta limitada correlación con estos criterios diagnósticos.

2.1.7.4. MEDICION DE LA OSMOLARIDAD DE LA PELÍCULA LAGRIMAL

Como se ha descrito en el apartado de fisiopatología, el aumento de la osmolaridad (OSM) lagrimal es uno de los procesos vitales que acontecen en la EOS y parte de la definición de dicha enfermedad establecida en el DEWS 2017.

La medición de la osmolaridad lagrimal es la técnica diagnóstica para EOS que más interés está despertando, si nos fijamos en el aumento de la bibliografía al respecto en los últimos años. Desde su inclusión como método diagnóstico han sido varios los métodos empleados para valorarla, desde cuantificar el punto de congelación de la lágrima, la presión de vapor o su capacidad de transmisión eléctrica en base a su impedancia.

Los osmómetros de congelación como el osmómetro Clifton se basan en valorar la OSM de una solución en base a su punto de congelación. Por su parte los osmómetros de presión de vapor como el osmómetro Vapro se basan en el cambio de presión de vapor que experimenta una solución respecto a los cambios de concentración de la misma a igual temperatura.

Por su parte los osmómetros de impedancia se basan en la resistencia al paso de una tensión eléctrica a través de un circuito, en este caso una solución (muestra de lágrima) y que está condicionada por la mayor o menos presencia de solutos disueltos en ella.

De estos diferentes métodos de medición, el último es el que ha generalizado su uso desde la aparición de aparatos portátiles que facilitan la recogida, transporte y medición de la osmolaridad. Dentro de este tipo de osmómetros, el TearLab™ ha demostrado la misma sensibilidad que el Cifton pero con una mejor especificidad y valor predictivo positivo.

➤ CARACTERÍSTICAS

El TearLab (Ocusense, TearLab Corp, San Diego, CA, USA) es un osmómetro portátil basado en la impedancia como método de valoración de la osmolaridad lagrimal. Para ello necesita una cantidad de muestra lagrimal (50 nL) directamente del menisco lagrimal del paciente en el borde palpebral temporal. La toma de muestra se realiza del menisco lagrimal por capilaridad pasiva, mediante tarjetas estériles de un solo uso. Según las recomendaciones del fabricante deben usarse a temperaturas entre 15°-30°. Se recomienda realizar una prueba de calibración cada vez que es encendido el aparato con la tarjeta verificadora electrónica. También es recomendable comprobar el correcto funcionamiento del osmómetro/tarjetas mediante comprobaciones con soluciones de control. Estas son soluciones con una osmolaridad conocida que nos permiten conocer el correcto funcionamiento. Tras tomar una muestra, se coloca la sonda en el lector y se marca en este el número de la tarjeta utilizada. La lectura de la osmolaridad aparece automáticamente en la pantalla. El rango de medición está entre 275- 400mOsm/L. Cuando la medición está por debajo o por encima de ese rango se informará como: > rango medible o < rango medible.

La medición de la osmolaridad comparada con otros test diagnósticos ha demostrado tener una sensibilidad mayor comparada con tinciones corneo-conjuntivales o la valoración de las glándulas de meibomio. También ha demostrado ser más específico que el TFBUT y SCHAT⁵⁵. Respecto al OSDI, TFBUT y tinción corneal y conjuntival, la OSM es mejor prediciendo la severidad de la EOS. A mayor gravedad, mayor es la correlación entre OSM y el resto de test nombrados⁵⁶.

El principal problema que encontramos es el entrecruzamiento que se produce entre las curvas de distribución de la osmolaridad en sujetos normales y con EOS (Fig 13)⁵⁷. Por lo que definir un punto de corte será importante para la calidad de la prueba.

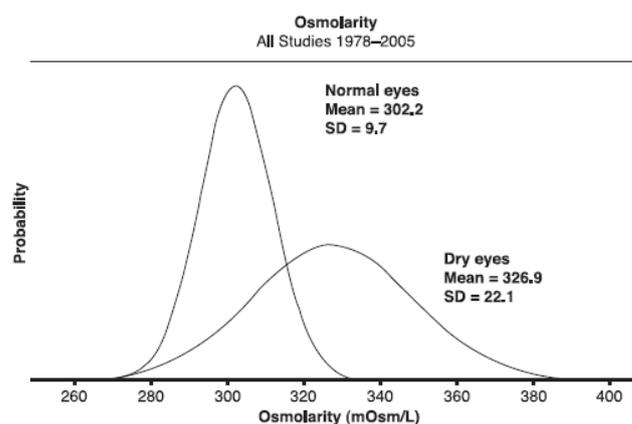


Fig. 13. Existe un gran solapamiento entre las curvas de normalidad y de EOS.

Encontramos diferentes puntos de corte según el estudio y características a valorar:

En el meta-análisis de Tomlinson⁵⁷ en que se revisó la bibliografía referente a la medición de la osmolaridad lagrimal de 27 años. Encontraron que era el test diagnóstico, que usado de manera aislada, presenta el nivel más alto de precisión (90%) para diferenciar entre sano y con EOS. Estableciendo un rango de corte entre 312-322 mOsm/L. Establecieron el valor de corte de 316 mOsm/L como el de mayor equilibrio entre sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo. Destacar que la mayoría de los estudios analizados en éste meta-análisis estaban medidos mediante la técnica de punto de congelación. El resto de estudios que se nombran, están basados en la tecnología del Tear Lab.

Versura⁵⁶, establece como valor para diagnóstico de ojo seco leve, un valor de 305 mOsm/L con un valor predictivo positivo de 98.4%. Para EOS moderado lo establece en 309 mOsm/L y de 318 mOsm/L para EOS severa (área bajo la curva 0.737, 0.759, y 0.711, respectivamente).

Jacobi C⁵⁸ establece un punto de corte para EOS moderada-severa en 316 mOsmol/L (301-324 mOsmol/L) con una sensibilidad del 87% y especificidad del 81%

Lemp MA⁵⁵ en un estudio multicéntrico, encuentran que la osmolaridad es el mejor test diagnóstico usado en solitario tanto para establecer el diagnóstico como para su clasificación. Con un punto de corte más sensible para diferenciar entre normal y EOS leve de 308 mOsm/L. Y el punto de corte más específico era de 315 mOsm/L. Los niveles de osmolaridad que establecen según gravedad de la EOS son:

	Normal	Leve/Moderado	Grave
OSM media (mOsm/L)	300.8 ± 7.8	315.5 ± 10.4	336.7 ± 22.2
Variabilidad Interojo (mOsm/L)	6.9 ± 5.9	11.7 ± 10.9	26.5 ± 22.7

Observando estas mediciones por severidad se aprecia que la variabilidad aumenta con la severidad de la enfermedad. Por su parte la OSM resulta ser poco variable en sanos⁵³.

En otro estudio, Sullivan et al⁵⁹ encontraron que la OSM presenta la correlación más fuerte con la severidad de la EOS comparados con otros test como OSDI, SCHT, TFBUT y tinciones corneo-conjuntivales.

Una excepción la encontramos en el estudio de Szalai et al en el que comparó diferentes test en pacientes sin EOS y con EOS Sjögren y no Sjögren. Encontró diferencias estadísticamente significativas entre EOS y sanos en TFBUT, SCHT, tinciones corneo-conjuntivales y valoración de las glándulas de meibomio. Sin embargo no las encontró entre la media de OSM en EOS no Sjögren ($296 \pm 16,48$ mOsm/L), EOS Sjögren (303.36 ± 17.22 mOsm/L) y sanos (303.52 ± 12.92).

Gran parte de la variabilidad de los diferentes valores reportados se debe a la propia inestabilidad de la PL según el nivel de gravedad. También hay una serie de factores que influyen en esta variabilidad y sobre los que no existe consenso como los factores ambientales, el uso de tratamientos tópicos, el uso de LC, determinadas condiciones oculares y sistémicas:

- **Condiciones ambientales:** se ha encontrado una gran variabilidad en individuos sanos expuestos a humedad del 20% por 10 min⁶⁰ mientras que en otro estudio no se encontró dicha variabilidad ni aumento de la OSM tras exposición a humedad del 5% por 2 horas⁶¹. En cualquier caso y con fines de investigación es interesante conocer o controlar estos factores a la hora de realizar las mediciones.
- **Lentes de contacto:** se ha visto que los pacientes con EOS que usan LC presentan una OSM mayor que los no usuarios⁵², mientras que esta relación no se ha visto en usuarios sanos.
- **Enfermedades sistémicas:** se ha encontrado un aumento de la OSM en diabéticos⁶², fibromialgia⁶³ e hipertiroidismo⁶⁴.
- **Enfermedades oculares:** se ha reportado aumento de la OSM en el síndrome pseudoexfoliativo⁶⁵, mientras que en las queratitis herpéticas⁶⁶ la OSM se ve aumentada en el ojo afectado y en el sano. Mientras que en pacientes con obstrucciones conducto nasolagrimal no se aprecian diferencia respecto al control por la posible reducción de la producción lagrimal⁶⁷. Por su parte tras la cirugía de catarata se aprecia un aumento de la OSM⁶⁸. En la EOS por SS se han encontrado dos resultados contradictorios, cuando relacionamos OSM y OSDI: por un lado se vio una relación inversamente proporcional entre ambos test que se relacionaba con una pérdida de la sensibilidad en casos severos⁶⁹, mientras que en otro estudio la relación fue directamente proporcional entre OSM y OSDI⁷⁰.

➤ CONCLUSIONES :

Diferentes estudios han demostrado que la medición de la osmolaridad mediante el Tear Lab es una técnica repetible y fiable con una buena sensibilidad y especificidad⁷¹. Su correlación con otros test diagnósticos es limitada.

La osmolaridad presenta una variabilidad escasa en pacientes sanos mientras que aumenta con la severidad de la enfermedad.

La medición de la osmolaridad lagrimal se ha definido como el mejor marcador para EOS⁷² por encima del resto de test diagnósticos interpretados de manera individual, sobre todo en fases iniciales de la enfermedad.

Se han propuesto diferentes puntos de corte para diferenciar entre sano y EOS, siendo >308 mOsm/L, el que presenta la mayor sensibilidad diagnóstica con una buena especificidad.

2.1.7.5. VALORACIÓN DEL GRADO DE LA HIPEREMIA OCULAR (HPR)

➤ DESCRIPCIÓN

ANATOMÍA:

La arteria palpebral periférica y las arterias ciliares anteriores son las encargadas de aportar la sangre a la conjuntiva. De la primera salen ramas que forman las arterias conjuntivales posteriores. De las ciliares anteriores parten dos grupos de arterias, uno que penetra en la esclera y otro más superficial que continua por la epiesclera hasta formar el círculo epiescleral. De este círculo parten las arterias recurrentes conjuntivales para irrigar la conjuntiva bulbar superficial y pequeñas arteriolas hacia el limbo. La sangre se drena desde la conjuntiva bulbar y limbar hacia la venas epiesclerales y de ahí hacia los vasos en los músculos rectos.

HIPEREMIA CONJUNTIVAL:

La conjuntiva es un tejido ricamente vascularizado con rápida respuesta frente a agresiones de la SO. Su aspecto macroscópico se debe a la dilatación de los vasos conjuntivales con aumento de flujo sanguíneo y se asocia a una respuesta vasodilatadora de origen inflamatorio. Esta respuesta es común a múltiples patologías, entre las que destaca, por su alta frecuencia, la EOS. El ojo rojo en la EOS se asocia a la hiperemia conjuntival (HPR) observada principalmente a nivel bulbar que suelen respetar vasos conjuntivales 1-2 mm que rodean al limbo. También podemos encontrar hiperemia conjuntival en otras zonas como en la conjuntiva tarsal. En caso de afectación corneal se asocia a hiperemia ciliar con vasodilatación de los vasos que rodean a la córnea.

➤ CARACTERÍSTICAS

La gran cantidad de causas que pueden provocar HPR, la variabilidad en la respuesta interindividual a estas causas así como el estado previo de la SO hacen difícil una valoración normalizada de este parámetro biomédico. Podemos usar escalas de valoración:

- **Escalas graduadas descriptivas**, en las que el observador cuantifica la HPR en una serie de grados que abarcan el mínimo y el máximo valor:

0= no HPR, 1= mínima 2= leve, 3= moderado, 4= severo*

*Como la Slit Lamp Classification Scale desarrollada por la "Food and Drug administration"(FDA)

Este tipo de escalas tienen un rango estrecho, son poco objetivas incluso para el mismo observador (alta variabilidad inter/intra-observador), además de ser poco sensibles a los cambios.

- **Escalas graduadas ilustradas**, en las que el observador cuantifica en base a una serie fotográfica de HPR y debe elegir la que más se parece a su observación. Aquí la objetividad es mayor al proporcionar referencias objetivas de cuantificación⁷³. La primera escala fotográfica fue introducida por McMonnies en 1987.

Existen diferentes escalas ilustradas que intentan mejorar la variabilidad inter-observador e intra-observador como son:

- McMonnies and Chapman-Davies scale (**MC-D**)
- Brien Holden Vision Institute(**IER**) Scales ó CCRU (Cornea and Contact Lens Resch. Unit)
- **Efron** scales
- Validated Bulbar Redness system(**VBR**)

Todas son series fotográficas, excepto la de Efron que son dibujos (Fig. 14). La escala VBR tiene una versión con 5 rangos (10-30-50-70-90) y otra más extensa con rangos de 10 en 10 del 10 al 100. Por su parte, la IER presenta 4 niveles de HPR, mientras que la de Efron y MC-D tienen 5. Todas ellas son comparables entre sí. Para facilitar la comparación interescalas existen tablas de conversión⁷⁴ (Tabla 10).

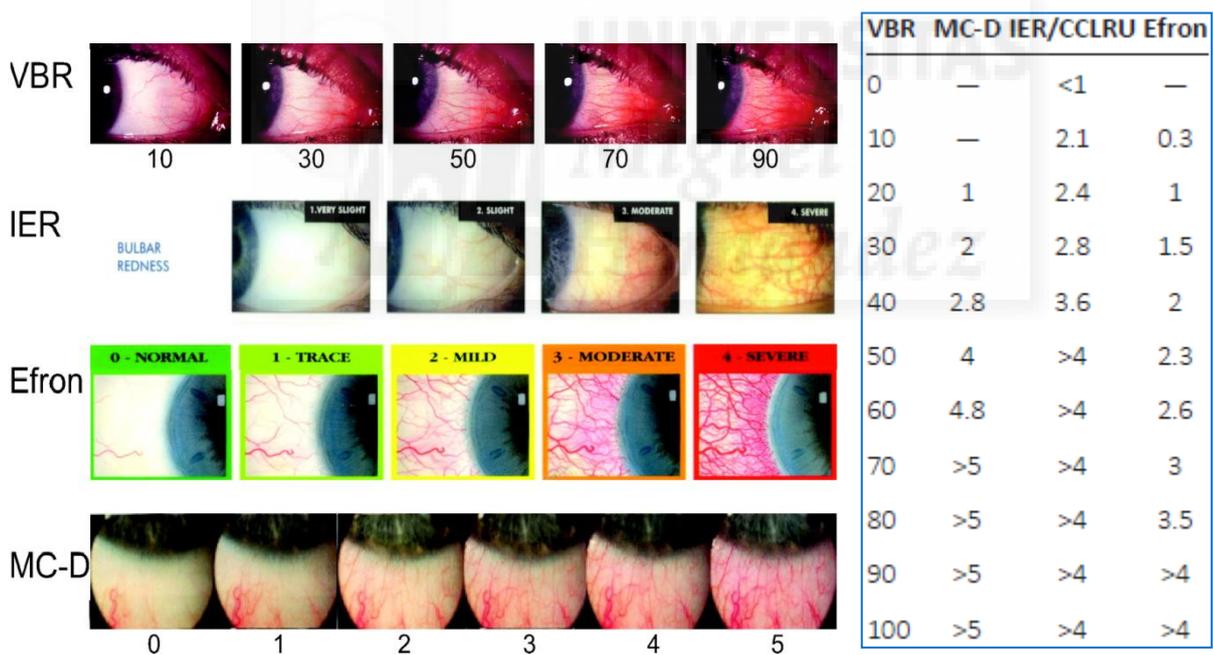


Fig. 14. Escalas Graduadas Ilustradas

Tabla 10. Tablas de conversión

- **Escalas Graduadas por ordenador**, en donde las imágenes tomadas son procesadas y valoradas por programas informáticos. Gracias al desarrollo de los morphing software que permiten el tratamiento de imágenes separadas como proceso continuo, de manera que pequeños cambios en la severidad de la HPR son detectados y cuantificados. Para ello se valora no solo el color⁷⁵, mediante colorimetría, sino la forma de los vasos⁷⁶, mediante el análisis fractal. EL desarrollo del Ocular Redness Index⁷⁷ promete ser un método objetivo y de cuantificación continua tanto para uso clínico como de investigación.

Las diferentes escalas ofrecen diferencias en los niveles de gravedad y en la continuidad de los intervalos entre niveles, haciendo difícil la comparación entre ellos, pese a las tablas de conversión. Un ejemplo es que el grado 3 de M-CD equivale al 4 de IER⁷⁸. Además, la valoración de la HPR depende del rango de severidad cubierto por cada escala. Tanto la escala de MC-D y la de IER presentan un rango corto para la severidad respecto a VBR y Efron, de manera que dan puntuaciones más altas que estas últimas.

Actualmente el uso de escalas sigue siendo el método más común aunque el desarrollo de sistemas informatizados como el Ocular Redness Index supondrá una herramienta más objetiva y sensible a cambios.

El valoración de marcadores de inflamación como la MMP-9, HLA-DR, citoquinas y quimioquinas han sido propuestos como herramientas diagnósticas de EOS aunque más bien son marcadores inespecíficos de inflamación.

➤ CONCLUSIONES

La inflamación se considera factor fisiopatológico junto a la osmolaridad en la EOS y forma parte de la definición de esta.

El uso de escalas de HPR es una forma de valorar la inflamación de la SO en la práctica clínica de manera no invasiva y muy asequible pero resulta muy poco específico sobre la causa que lo produce.

Como respuesta aguda es un marcador fiable de inflamación pero en el caso de patologías crónicas como la EOS puede no ser de gran utilidad en las fases iniciales de la enfermedad.

2.1.7.6. TEST DE SCHIRMER

➤ DESCRIPCIÓN

Se trata de una de las pruebas diagnósticas más utilizadas en la EOS desde que en 1903 Otto Schirmer publicase su estudio⁷⁹ y posteriormente Halberg y Berens lo estandarizaron en 1961⁸⁰. Proporciona una estimación del flujo lagrimal reflejo. Por lo tanto es una técnica de especial interés en el ADDE. Para ello cuantifica la cantidad de lágrima producida tras el estímulo provocado por las tiras de Schirmer. Estas tiras son papel filtro Whatman N°1 (de 5 mm de ancho x 35 mm de largo). Se posiciona para evitar el estímulo de la córnea, entre el tercio medio y el externo del párpado inferior, entre con la conjuntiva palpebral y bulbar inferior (Fig. 15). El paciente permanecerá 5 minutos con los ojos cerrados⁸¹ para evitar estímulos externos y tras 5 minutos se mide la longitud del papel empapado por la lágrima.

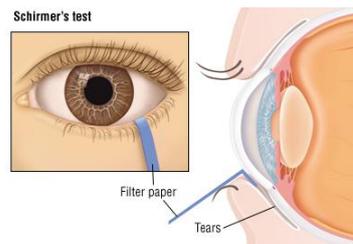


Fig. 15. Colocación tira Schirmer

Existen varias versiones de esta técnica:

Schirmer I: Ojo **no anestesiado** para valorar producción basal y refleja. Estima la producción basal y refleja provocada por la irritación de la conjuntiva por el papel.

Schirmer I modificado: Ojo **anestesiado** para valorar producción basal. En la práctica no se pueden anular todos los estímulos sensoriales y psicológicos.

Schirmer II: Ojo **no anestesiado con estímulo de la mucosa nasal**. Estima la producción basal y refleja máxima provocada con el reflejo nasolagrimal + la provocada por la irritación de la conjuntiva por el papel.

Pese a que el Test de Schirmer (SCHT) I es la variante más utilizada, hay estudios que sugieren que la variante modificada presenta un mayor valor diagnóstico en la ADDE⁸². Existen otros métodos de valorar la producción lagrimal como son el SCHT de 1 minuto⁸³, similar al SCHT I pero donde el tiempo de espera es de 1 minuto. Otro test es la prueba del rojo fenol, donde en vez de tiras de SCHT se usa un hilo de algodón de 70 mm impregnado de rojo fenol, colocado en el tercio externo del párpado inferior durante 15 segundos⁸⁴. Por ser poco invasivo, no queda establecido si se trata de una medición del volumen lagrimal o de su producción.

➤ CARACTERÍSTICAS

Dependiendo del punto de corte que tomemos encontramos unas características de sensibilidad y especificidad para la prueba. Para un punto de corte ≤ 5.5 mm/5 minutos la sensibilidad es de 85% y la especificidad de 83%⁸⁵. Mientras que en el estudio de ECSGSS⁸⁶ se encontró que con un punto de corte de 10 mm/5 minutos, la sensibilidad era del 83.6% pero con una especificidad del 69.8% (Tabla 11). En este estudio sobre los criterios del Síndrome de Sjögren se encontró una pobre correlación entre los diferentes test diagnósticos que emplearon como SCHT, test de lactoferrina, TFBUT o la tinción con rosa Bengala. Tan solo se encontró un nivel de concordancia aceptable (Cohen's Kappa > 0.4) entre SCHT y la tinción con rosa Bengala. Otro factor que influye en su resultado es la edad ya que se relacionan de manera inversamente proporcional. Por su parte la repetibilidad⁸⁷ de esta prueba es moderada cuando los valores medidos son menores de 10mm, empeorando al aumentar esta cifra. De esto se deduce que es más repetible en fases avanzadas de la enfermedad cuando las reservas lagrimales se ven más afectadas.

Un aspecto importante en esta técnica es el tipo de papel empleado ya que su grosor, características absorción y longitud pueden influir en el resultado final. Se recomienda que posea unas dimensiones de 5mm de ancho por 35 mm de largo desde la marca, pero hay estudios en los que se emplearon tiras de 3x35mm⁸⁸ o en otros como el ECSGSS que se habla de tiras estandarizadas sin especificar sus características. Además no hay un claro consenso sobre las dimensiones de la tira desde el margen inicial hasta la marca. Esta porción de la tira que queda entre ambas conjuntivas absorbe gran cantidad del volumen lagrimal y puede condicionar el resultado final.

TEST	PUNTO CORTE	SENSIBILIDAD (%)	FRP (%)	ESPECIFICIDAD (%)	PPV*
Schirmer I ⁸²	≤5,5mm/5min	85	17	83	47
Schirmer I ⁸³	≤5.0mm/5min	76.9		72.4	
Schirmer I ⁸³	≤10mm/5min	83.6	32	69.8	31

Tabla11. Sensibilidad y especificidad según punto de corte.*Asumiendo una prevalencia de EOS del 15 %

➤ CONCLUSIONES

Se trata posiblemente de la técnica de diagnóstico en EOS más utilizada ya que nos ayuda a estimar el flujo lagrimal, condición importante en esta enfermedad particularmente en ADDE. En los EDE, debido a que la producción se mantiene hasta etapas finales, esta prueba no se ve tan alterada. Por lo tanto no solo nos ayuda en el diagnóstico de EOS sino que también aporta información etiológica.

Se trata de una prueba con gran variabilidad en los pacientes sanos pero que en los ADDE, donde la producción está comprometida, dicha variabilidad se reduce más aún al aumentar la gravedad.

De las diferentes variedades de esta técnica, la I sin anestesia es la que valora la capacidad de producción refleja y por lo tanto orienta más hacia la gravedad del proceso. Además, pese a la anestesia tópica, no se pueden inhibir todos los mecanismos de reflejo de manera que el Schirmer con anestesia no valora solo la producción basal.

Presenta una correlación aceptable con las tinciones como rosa Bengala pero escasa frente a otras como el TFBUT.

Se relaciona de manera inversamente proporcional a la edad y a la gravedad de los síntomas.

Es importante, a nivel investigación, describir las características de las tiras empleadas y la técnica de realización.

2.1.7.7 TINCIONES TISULARES (TFC Y TVL)

➤ DESCRIPCIÓN

Se basa en poner de manifiesto defectos de las capas más externas (glicocalix y/o epitelio) de la SO mediante el uso de colorantes. De entre estos se destaca la fluoresceína sódica (FS) por su implicación en este estudio y como método de test diagnóstico (TFC). La aplicación de la FS se realiza de manera controlada mediante pipeta y no controlada mediante aplicación de tiras de fluoresceína. La tira se humedece con una gota de suero y se aplica tras eliminar el líquido rebosante sobre la conjuntiva bulbar inferior. A continuación se pide al paciente que parpadee y se observa la tinción tanto de la córnea como de la conjuntiva nasal, haciendo al paciente mirar hacia temporal como de la conjuntiva temporal haciéndole mirar hacia nasal. Esta valoración se realiza a los pocos segundos de aplicada la FS por su tendencia a la difusión intercelular como se verá a continuación. Los patrones de tinción serán cuantificados en base a su semejanza con unos patrones estandarizados

➤ CARACTERÍSTICAS

COLORANTES TISULARES

Los colorantes utilizados con frecuencia tanto en la práctica clínica diaria como para investigación son tres: fluoresceína sódica, verde lisamina y rosa de Bengala.

Fluoresceína sódica (FS):

Es un colorante orgánico de la familia de las xantinas cuya sal sódica sí es soluble en agua. Aplicada tópicamente al 2%, se disuelve en la PL y se distribuye por la SSO. Ayuda a revelar defectos epiteliales pero no puede penetrar las membranas celulares intactas. Sí es capaz de alcanzar los espacios intercelulares epiteliales como los defectos de las zonas ocludens intercelulares (espacios intercelulares) dando la imagen típica de tinción punteada. Se postula que estas erosiones epiteliales puntiformes pudiesen ser células epiteliales llenas de fluoresceína⁸⁹. Una vez penetra en el interior celular puede difundir entre las células contiguas por las uniones intercelulares, de manera que si dejamos difundir los límites de la fluorescencia serán menos nítidos, de ahí que su lectura no deba demorarse en el tiempo.

La principal característica de la FS es su capacidad de absorber luz a una longitud de onda entre 465-490 nm y de emitir fluorescencia con longitudes de onda entre 520-510 nm. Para estimular a la FS en su pico de emisión se utiliza la luz azul cobalto de las lámparas de hendidura o bien el uso de filtro azul 47 Kodak Wratten. Para facilitar la visualización del pico de emisión se recomienda el uso de filtros barrera 12 Kodak Wratten o el filtro realzador de fluoresceína Alstom.

Rosa de Bengala:

Se trata de un colorante peor tolerado por su acción irritante sobre la conjuntiva por lo que se suele aplicar tras instilar anestésico tópico. Su intensidad de tinción depende de su

concentración por lo que al usar tiras impregnadas diluidas con suero su intensidad se reduce. Se recomienda el uso de cantidades mayores que de fluoresceína, de 25 µl al 1% en conjuntiva bulbar superior. Para facilitar su visualización se usa la luz verde aneritra (libre de rojo).

Este colorante es capaz de penetrar en membranas de células sanas siendo las mucoproteínas del glicocalix las que impedirían su difusión⁹⁰. Así que este colorante es capaz de revelar no solo defectos epiteliales manifiestos sino alteraciones del glicocalix. Su tiempo de permanencia en la superficie es mayor que el de la FS dando más tiempo a la exploración.

Puede presentar dificultad de visualización en córnea sobre iris oscuros por lo que se utiliza principalmente para teñir la conjuntiva.

Verde lisamina:

Comparte características similares con el rosa Bengala con la salvedad de ser mejor tolerado por los pacientes y no necesitar anestésico previo. Se aplica mediante tiras impregnadas, siendo suficiente con una gota de 25 µl al 1%. Se puede mejorar su visualización con luz blanca + filtro Kodak Wratten 92.

Por los mismos motivos que el rosa de Bengala se prefiere para teñir la conjuntiva.

PATRONES DE TINCIÓN

Tras la visualización del patrón de tinción, debemos cuantificarlo comparándolo con esquemas prediseñados. Estos esquemas son pueden ser: esquema Oxford, esquema CLEK y el esquema van Bijsterveld (por interés de la actual publicación solo se comentará el primero):

Esquema Oxford:

Los patrones de tinción a comparar se representan en 5 paneles clasificados de la A a la >E, cada uno con una gradación del 0-V (Fig. 16). Se puntúa el patrón de tinción en la córnea-conjuntiva temporal y conjuntiva nasal según el parecido con la imagen del panel más similar. Así cada una de estas tres zonas tendrá una puntuación del 0-V. La suma de ellas dará una puntuación de 0 -15. Esta observación se recomienda con una magnificación de x16.

Según el resumen de Hardman Lea y col. (1986) reflejado en los apéndices del DEWS 2007, el estudio intra-observador del esquema Oxford era de bueno a excelente. El estudio inter-observador era excelente para la córnea y regular para la conjuntiva.

PANEL	Grado	Criterios
A 	0	Igual a o menor que panel A
B 	I	Igual a o menor que panel B, mayor que A
C 	II	Igual a o menor que panel C, mayor que B
D 	III	Igual a o menor que panel D, mayor que C
E 	IV	Igual a o menor que panel E, mayor que D
>E	V	Mayor que panel E

Fig.16. Esquema Oxford. Grados de tinción.

➤ CONCLUSIONES

La monitorización del estado de la SO mediante tinciones tisulares y con la ayuda de escalas de graduación⁹¹, son una buena manera de valorar “in vivo” los defectos de las capas más superficiales de la superficie ocular.

El uso de filtro excitación y/o barrera suponen una ayuda importante a la hora de valorar estas tinciones.

La repetibilidad de las tinciones tanto con FS como con rosa de Bengala de la córnea o la conjuntiva de manera aislada, es baja⁸⁴. Esta repetibilidad es moderada al sumar la puntuación corneal y conjuntival.

2.1.7.8. TIEMPO DE ROTURA LAGRIMAL CON FLUORESCÉINA (TFBUT)

➤ DESCRIPCIÓN

El tiempo de rotura lagrimal con fluoresceína (TFBUT) es una medida de la estabilidad de la capa lipídica de la PL. Se valora midiendo el tiempo que transcurre entre un parpadeo completo y la observación de la primera disrupción de la capa lipídica. Esta disrupción se hace visible al teñir la PL con fluoresceína y aplicar los filtros adecuados para su excitación y observación.

La metodología estandarizada para su realización es la siguiente:

1. Aplicación de FS: Se pueden aplicar cantidades pequeñas de 0,5-2 μl de fluoresceína sódica al 2% de manera controlada mediante pipetas o aplicando cantidades mayores la conjuntiva bulbar inferior mediante pipeta o mediante tira de fluoresceína (Fluo-Plus®). La tira se humedece con una gota de suero y se aplica tras eliminar el líquido rebosante de manera que se aplique entre 2-3 μl ⁹². La instilación de cantidades mayores como una gota afecta al resultado de la prueba⁹³, aumentando el TFBUT y disminuyendo su

- repetibilidad. La aplicación de la fluoresceína se hará de manera sutil para no estimular reflejo del lagrimeo.
2. El paciente parpadeará normalmente sin apretar los párpados varias veces durante 10 segundos para que la fluoresceína se extienda sobre la PL.
 3. Se pide al paciente que no parpadee mientras mira al frente.
 4. Se estimula la fluoresceína con un haz difuso de luz azul cobalto fijo no oscilante, que ilumine toda la PL a intensidad constante. La observación se realiza con un filtro amarillo Wratten 12 o el filtro Aston que disminuya la superposición de los espectros de excitación y emisión, facilitando su visualización.
 5. Se registra el tiempo desde el último parpadeo completo y la aparición de las primeras micelas indicadoras de rotura de la PL mediante un cronómetro.
 6. Diremos al paciente que parpadee normalmente al parar el cronometro para evitar inducir el reflejo de lagrimeo y alterar los resultados de pruebas posteriores.

Hay que tener en cuenta a la hora de detectar las roturas de la PL que estas se observan en toda la superficie y no solo a nivel central, ya que la zona en la que suele iniciarse esta rotura con más frecuencia es en la zona inferior⁹⁴

➤ CARACTERÍSTICAS

Se trata de una prueba en la que múltiples factores pueden influir en su variabilidad. La cantidad de FS aplicada, una homogénea distribución de la FS sobre la PL, la correcta identificación de las zonas de rotura de la PL así como la propia estabilidad de la PL.

La cantidad instilada es importante porque contribuye a alterar la propia estabilidad de la PL. De manera que cuando la cantidad de FS aplicada sea 1-5 μL , encontramos que en la población normal el TFBUT medio fue de 7,1 segundo⁹⁵ (4,7-11,4 segundos) y para pacientes con EOS 2,2 segundos (0,9-5,2 segundos). En base a ello se toma como punto de corte ≤ 5 segundos para diferenciar entre EOS y sano (> 5 segundos)⁹⁶. Cuando se aplican cantidades mayores 25-50 μL (como al aplicar una gota directamente), se utiliza como punto de corte ≤ 10 segundos para diferenciar entre EOS y sano (> 10 segundos).

El estudio de Vitali⁸⁶ (1994) se aplicaron 25 μL de FS al 1% y estima que la sensibilidad es del 77.8 % y su especificidad del 38.9 % para un punto de corte de ≤ 10 seg (Tabla. 12). En este estudio se considera que existe demasiada superposición de los valores registrados entre sano y con Síndrome de Sjögren que repercute en la interpretación de los resultados (Fig.17) condicionado entre otras cosas al volumen de FS. En otro estudio se considera que la repetibilidad de esta técnica es moderada⁸⁴ (ICC 0.65).

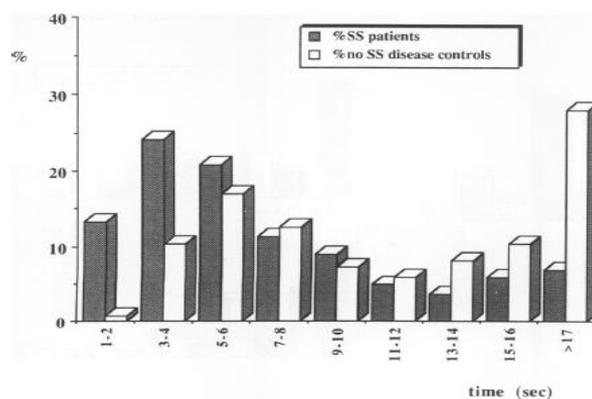


Fig.17. Distribución del TF BUT en pacientes sanos y con S. de Sjögren. (Vitali C. *European Community Study Group on diagnostic criteria for Sjögren's syndrome. Sensitivity and specificity of tests for ocular and oral involvement in Sjögren's syndrome*).

PRUEBA	VOLUMEN FS	PUNTO CORTE	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD
TFBUT	25 μ L	\leq 10mm	77.8	38.9

Tabla 12. Valores de la sensibilidad/especificidad de TFBUT según pto corte/volumen de FS (Vitali C. *The European Community Study Group*).

Un inconveniente de esta técnica es la intervención sobre el estado de la PL que supone la instilación de fluoresceína. Para ello Mengher y cols. describieron el Tiempo de Ruptura Lagrimal No Invasivo o NIBUT (*Non Invasive Break-Up Time*). Calcula el tiempo de rotura registrando el tiempo que pasa entre la deformación de una imagen proyectada sobre la superficie corneal y el último parpadeo. Existen diferentes proyectores y tipos de imagen proyectada como anillos de plácido o proyecciones más exhaustivas como el Tearscope. El NIBUT presenta menor variabilidad así como una mejor sensibilidad y especificidad (para un punto de corte de 10 segundos: sensibilidad 82% y especificidad 86%)⁹⁷.

Otra alternativa es la videoqueratoscopia como forma más dinámica de registro del tiempo de rotura lagrimal. Permite según el software empleado registrar como en el caso del Tear Stability Analysis System (TSAS), 10 topogramas/seg durante 10 segundos y analizar índices de regularidad y simetría de la superficie corneal (SRI/SAI). Estos índices se encuentran aumentados en EOS y disminuyen tras la implantación de tapones no perforados⁹⁸.

El estudio de la capa lipídica mediante interferometría así como el desarrollo de programas específicos para su interpretación, como Lipidview suponen un avance en la comprensión de la estabilidad de la PL de manera no invasiva.

➤ CONCLUSIONES

Es una técnica que nos da información sobre la estabilidad de la PL, característica que se afecta principalmente y en estadios más tempranos en EDE. Por lo tanto puede ser de ayuda en el diagnóstico etiológico.

Hay que tener en cuenta que la cantidad de fluoresceína aplicada influye en el resultado por lo que debemos estandarizarlo. Realizar varias mediciones y tomar su promedio ayuda a disminuir

su variabilidad. Esta variabilidad aumenta con la longitud registrada, a mayor TFBUT mayor variabilidad.

Algunos autores consideran que la interpretación de los resultados registrados mediante TFBUT es limitada por la alta superposición de los valores registrados entre sano y SS y por la alta variabilidad entre los rangos de normalidad.

2.1.7.9. CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL (CIC)

➤ DESCRIPCIÓN

La citología de impresión conjuntival es una técnica diagnóstica que aporta información sobre características anátomo-patológicas de la SO. Consiste en tomar una muestra de las capas más superficiales del epitelio conjuntival mediante la impresión de papel de celulosa. Este papel se aplica sobre el epitelio de la zona a analizar tras instilar lidocaína 5% sin conservantes y se presiona suave pero firmemente durante 5-10 seg. Al retirar el papel, las capas externas epiteliales quedan adheridas a este obteniendo una “fotografía” por impresión. Estas células son sometidas a un proceso de fijación-tinción para poder visualizarlas. Las muestra pueden ser sometidas a análisis histológico, inmuno-histológico o molecular.

Egbert et⁹⁹ al describieron en 1977 una forma de estudiar las células caliciformes (CC) a las que teñía con ácido peryódico Schiff (PAS). Con los años se han introducido variantes en la forma de recogida y procesado de la muestra, siendo una de las más significativas y utilizadas la descrita Tseng¹⁰⁰. En ella modifica la toma de muestra y la tiñe con una combinación de PAS y Papanicolau:

Toma de muestra:

Aplicar el papel filtro de acetato de celulosa HAWP 304 FO de Milipore en diversas áreas de la SO (Fig.D) durante 5-10 seg.

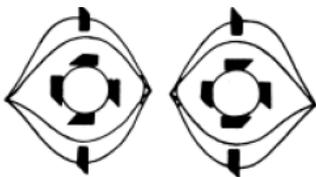


Fig.18. El papel filtro se puede aplicar sobre diferentes zonas de la SSO para obtener información más exhaustiva

Fijar con:

Ácido acético 5 ml
Formaldehído 37% 5 ml
Alcohol etílico 70% 100 ml

Tinción:

1. Rehidratación 70% alcohol etílico 2 min
2. PAS :
 - a) Ácido Peryódico 0.5% 2 min
 - b) Medio Schiff 1:3 diluido con agua destilada 2 min

c) Sodio metasulfito 0.5%	2 mm
3. Gill's hematoxilina	1 min
4. Solución sustitutiva del agua Scott's	2 min
6. Deshidratación con alcohol etílico 95 %	3 min
7. Deshidratación con alcohol	5 min.
8. Fijar con Xylene	15 min
9. Montar sobre portaobjetos de cristal	

➤ CARACTERÍSTICAS

Diversas patologías que afectan a la SO, inducen modificaciones en sus células, de manera que comparando con un patrón de normalidad, podremos valorar los efectos de enfermedades como EOS sobre la SO. En la EOS, estas modificaciones inducen cambios metaplásicos de los epitelios no secretores, como son los cambios en la proporción núcleo-citoplasma o la presencia de cromatina con “forma de serpiente”¹⁰¹. Pero el hallazgo histológico más determinante sobre la fisiopatología de EOS es la reducción del número de células caliciformes secretoras de mucoproteínas. Esta reducción afectará a la estabilidad de la PL contribuyendo al círculo vicioso que perpetúa la EOS. Nelson¹⁰² clasificó en tres grados el nivel de metaplasia basándose en la densidad de CC y aspecto de las células epiteliales (Tabla 13). El recuento de CC/mm² que describe en la CIC de la conjuntiva interpalpebral es de 443(+/- 266 [+/- SD]) mientras que a nivel palpebral inferior es de 1,972 (+/- 862). Otros autores también encuentran una diferencia en la densidad de CC entre zona conjuntival interpalpebral¹⁰³ (427 +/- 376 células/mm²) y las cubiertas por los párpados (973 +/- 789 células/mm²). Comparado con pacientes sanos, en pacientes con EOS⁷⁷ existe una reducción del 17% de los recuentos de CC de la conjuntiva interpalpebral respecto a nivel palpebral inferior. Mientras que en pacientes con Sdro. Stevens-Johnson la pérdida de CC es del 95%. Esto se explica por la mayor exposición de las células epiteliales a la deshidratación y luz UV.

Grados

0	> 500 CC/mm ² + células epiteliales redondeadas pequeñas y núcleo grande
1	500-350 CC/mm ²
2	350-100 CC/ mm ²
3	≤100 CC/ mm ² + células epiteliales poligonales y núcleo pequeño

Grados ≥ 2 no son considerados como normales

Tabla 13. Clasificación de Nelson de la metaplasia escamosa

Según la metodología de recogida de muestra, procesado y visualización¹⁰⁴, podemos obtener diferentes apreciaciones de la misma muestra. Así, depende del papel filtro que apliquemos obtendremos una muestra de diferentes características. Filtros con poros grandes captarán más muestra pero con peor calidad de detalles. Así mismo, las diferentes tinciones mejorarán la visualización de los diferentes tipos celulares a estudio, principalmente CC y epitelio.

La CIC ha sido utilizada para el análisis de diversas enfermedades de la SO, a demás de en la EOS como: penfigoide cicatricial, déficit de vitamina A, queratocojuntivitis límbica superior,

queratoconjuntivitis vernal¹⁰⁵, mucopolisacáridosis, efecto de terapias tópicas en la SO¹⁰⁶, queratitis infecciosas¹⁰⁷, tumores¹⁰⁸...

➤ CONCLUSIONES

La CIC es una herramienta útil para conocer “in situ” el estado de las capas superficiales de la SO en diversas enfermedades. Conocer las preferencias de recogida de muestra y procesado es importante para obtener unos resultados más precisos por lo que una buena coordinación entre oftalmólogo y anatomopatólogo es importante. Una de sus principales limitaciones es la variabilidad¹⁰⁹ que encontramos entre las diferentes zonas de muestra, aunque tiene gran utilidad para comparar los cambios postratamiento de una misma zona.

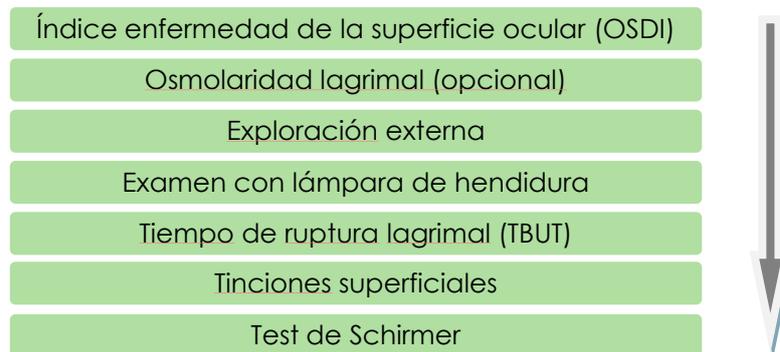
2.1.7.10. SECUENCIA DE EXPLORACIÓN

A la hora de realizar la exploración de un paciente en el que sospechemos de EOS, deberemos tener en consideración que el efecto que la técnica diagnóstica que realizamos sobre la PL o la SO puede provocar un reflejo que influya en el resultado de la siguiente técnica a aplicar. Así debemos conocer agresividad de cada prueba (Fig.19) para establecer un orden de realización a fin de minimizar el efecto de unas sobre otras. En alguna prueba, este efecto solo puede ser minimizado dejando transcurrir un tiempo (15 min) hasta la siguiente prueba con el fin de recuperar estado basal.

Grupo	Evaluación	Técnica
A	Historia clínica	Cuestionario
	Síntomas, por ejemplo, ojo seco	Cuestionario de síntomas
B	Índice de evaporación	Evaporimetría
C	Estabilidad lagrimal	TFBUT no invasivo (o NIBUT)
	Grosor de la película lipídica lagrimal	Interferometría
	Radio/volumen del menisco lagrimal	Meniscometría
D	Osmolaridad; proteínas lisozima; lactoferina	Análisis lagrimal
E	Estabilidad lagrimal	BUT (Tiempo de ruptura) de fluoresceína
	Daño de la superficie ocular	Graduación de la tinción con fluoresceína; verde lisamina
	Menisco, altura, volumen	Perfil de corte del menisco
	Producción de secreción lagrimal	Fluorimetría
F	Nivel eventual de grasa en el margen del párpado	Meibometría
G	Índice de volumen lagrimal	Prueba del rojo fenol
H	Secreción lagrimal	Schirmer I con anestesia
	Secreción lagrimal	Schirmer I sin anestesia
	Secreción lagrimal “refleja”	Schirmer II (con estimulación nasal)
I	Signos de MGD (Disfunción de la glándula meibomiana)	Párpado (morfología de la glándula meibomiana)
J	Función de la glándula meibomio	Expresión de MG (Glándula meibomio)
		Expresabilidad de las secreciones
		Volumen
		Calidad
	Psicoquímica meibomiana	Química del aceite
K	Daño de la superficie ocular	Tinción con rosa de bengala
L	Masa de tejido meibomiano	Meibografía

Fig. 19. Secuencia de pruebas según categoría y en orden de agresividad (DEWS 2007)

Una secuencia adecuada para la realización de test diagnósticos asumibles en una exploración oftalmológica no especializada sería:



2.1.8 TRATAMIENTO DE LA EOS

EL enfoque que debe guiar el tratamiento de la EOS debe basarse en restaurar la fisiología natural de la SO alterada por factores intrínsecos y/o extrínsecos. Debemos tener en cuenta los procesos fisiopatológicos que desestabilizan la homeostasia de esta superficie. Para ello nos ayudaremos con las diferentes valoraciones diagnósticas de las que hablamos en el apartado anterior, incluyendo una adecuada historia clínica que oriente qué factores personales y ambientales predisponen a su aparición.

El objetivo del tratamiento debe ser mejorar la calidad de vida del paciente y ello implica mejorar no solo la sintomatología que padece sino restablecer la correcta agudeza visual. Conseguir esto pasa por restablecer la adecuada homeostasis que equilibra cada uno de sus componentes: recuperar epitelios, mejorar la producción de lágrima, estabilizar la película lagrimal, eliminar el componente inflamatorio y regular la osmolaridad lagrimal, entre otros.

Las recomendaciones de tratamiento basadas en la gravedad de la enfermedad son una orientación pero el intentar recuperar, dentro de lo posible, los procesos fisiológicos alterados nos ayudará a una solución más eficaz y duradera en el tiempo:

1. Explicar al paciente su proceso ayuda a tranquilizarlo y facilita el cumplimiento terapéutico. Debe ser consciente de que por lo general se trata de un proceso crónico con períodos de remisión/ exacerbación sin cura absoluta, pero que un buen control puede reducir los síntomas y mejorar el resto de la clínica.

2. Debemos tratar en la medida de lo posibles factores sistémicos propios o inducidos, como patología reumatológica, alteraciones hormonales o medicación sistémica asociada a EOS derivando al profesional más adecuado. Y en el caso de alteraciones propias de los ojos como alteraciones de la dinámica y estática palpebral, blefaritis entre otros, deberemos tratarlos. Las alteraciones de las glándulas de meibomio son la principal causa de EOS en el mundo por lo que su diagnóstico y tratamiento es esencial para mejorar dicha enfermedad. Para ello indicaremos, según gravedad, una correcta higiene palpebral, dieta equilibrada con aporte suficiente de omega-3, antiinflamatorios tópicos, azytromicina tópica y tetraciclinas orales.

3. Ayudaremos a tratar mediante estrategias ambientales los **factores etiológicos externos**. Ayudaremos a identificar qué situaciones ambientales empeoran los procesos fisiopatológicos como el aumento del tiempo interparpadeo en actividades como leer, ver la televisión o usar pantallas de visualización. Aconsejar en el uso adecuado de las lentes de contacto o valorar el riesgo/beneficio de cirugías que alteren la superficie ocular en pacientes predispuestos a padecer EOS. Enseñar a conocer y protegerse de ambientes con flujos de aire elevado o con niveles de humedad relativa bajos como la exposición a aire acondicionado o calefacción. Debemos modificar en la medida de lo posible tratamientos tópicos oculares que empeoren o sean causa de EOS y descritos en la tabla 5.

Tras esta valoración global de factores que pueden contribuir a la EOS, valoraremos los diferentes tratamientos que podemos aplicar. Estos solo serán nombrados porque no se encuentran entre los objetivos de esta obra a excepción de la lágrimas artificiales:

- I. Lágrimas artificiales
- II. Sistemas de retención lagrimal
 - a) Oclusiones puntales
 - b) LC
 - c) Cámaras de humedad
- III. Estimulación lagrimal: Secretagogos
- IV. Terapia antiinflamatoria
 - a) Corticoides
 - b) Ciclosporina
 - c) Tetraciclinas
- V. Ácidos grasos esenciales
- VI. Dispositivos estimulación de las glándulas de Meibomio
- VII. Sustitutos biológicos de las lágrimas
 - a) Trasplante de glándula salivar
 - b) Derivados hematológicos: SA y PRP

2.1.8.1 LÁGRIMAS ARTIFICIALES

Las lágrimas artificiales (LA) siguen constituyendo la base actualmente del tratamiento de la EOS. El término LA es poco apropiado dada la escasa similitud que presentan en su composición respecto a la lágrima. Este término se emplea para incluir las diferentes composiciones que existen y para diferenciarlas de tratamientos más fisiológicos como los derivados hematológicos .

A continuación se describirán algunos de los aspectos que debe cumplir las LA:

1. Buena biodisponibilidad y alta tolerancia:

Es una de las condiciones imprescindibles para una LA ya que sus dos principales finalidades serán mejorar una SO alterada y la sintomatología que refiere el paciente.

2. Largo período de retención o residencia :

Hace referencia a las cualidades físicas que prolongan la permanencia de la LA sobre la superficie ocular y con ello su efecto mejorando el confort percibido por el paciente.

3. Composición electrolítica y pH similar a la lágrima:

Deben presentar una composición lo más similar a la lágrima, lo cual es complicado dada la riqueza de componentes que presenta. Las que presentan bicarbonato y potasio entre otros han resultado ser beneficiosas para tratar el daño de la SO. El bicarbonato contribuye a recuperar la función barrera del epitelio mientras que el potasio ayuda en el mantenimiento del espesor corneal¹¹⁰ y ambos ayudan al mantenimiento la capa de mucina¹¹¹.

Respecto al pH deben ser similares al de la lágrima o ligeramente alcalinos.

4. Hipoosmolar respecto a la lágrima:

Deberán presentar una osmolaridad inferior a la que presente la lágrima para compensar la hiperosmolaridad que suele estar presente en la EOS. Su efecto hipoosmolar apenas dura 20 segundos sobre la SO por lo que la mayoría de las LA son isoosmolares.

Algunas LA intentan compensar esa hiperosmolaridad aportando solutos compatibles u osmoprotectores que intentan proteger a nivel intracelular el efecto deletéreo de un ambiente hiperosmolar. Entre estos solutos se encuentran: eritritol, carnitina, glicerina y trehalosa entre otros.

5. Buena viscosidad que no altere la AV:

Si bien la propiedades viscosizantes son positivas para mejorar la SO, estas no deben repercutir en la calidad de la AV, sobre todo en EOS leve ya que no compensará su efecto secundario al beneficio aportado.

6. Sin conservantes:

La presencia de conservantes para asegurar la esterilidad puede tener un efecto negativo sobre una SO alterada. Los diferentes conservantes como lo amonios cuaternarios (cloruro de benzalconio o BAK, mercuriales, compuestos alcohólicos, amidinas o el EDTA han demostrado ser tóxicos para el epitelio. Los conservantes que han demostrado ser menos tóxicos son los complejos oxiclora (Purite® y Oxid®), perborato de sodio (Gen aqua®), oxidativo iónico amortiguado (SofZia®), policationicos (Polyquad®). Aún así la no presencia de conservantes tendrá un efecto menos agresivo sobre la SO.

Así las LA sin conservantes pueden ser comercializadas en monodosis o multidosis con diferentes sistemas que intentan reducir la contaminación (ABAK® (dura 2 meses una vez abierto)-MDO® (3 meses)- COMOD® (6 meses).

7. Capacidad mucoadhesiva/lubricante/humectante:

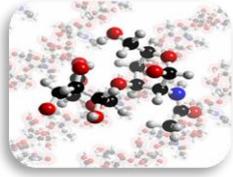
La mucoadhesividad hace referencia a la capacidad de interactuar e imitar el comportamiento de las mucoproteínas de membrana sobre el epitelio de la SO. La propiedad lubricante se asocia a la capacidad de disminuir la fricción que se produce durante el parpadeo.

Otra característica a imitar por las LA es la tensión superficial que ayuda a que la lágrima quede correctamente extendida sobre la superficie ocular sin separarse de esta antes de tiempo. De esta manera se consigue una película lagrimal correctamente extendida sobre el epitelio pero que a su vez se mantenga paralela a éste durante la apertura ocular. En el ojo es la capa lipídica y las mucoproteínas quienes ejercen este efecto principalmente.

Las LA son principalmente agua con electrolitos y estabilizadores de pH y una molécula principal o principio activo. Este es el responsable de la cualidad principal por la cual intenta mejorar la SO. En base a este principio activo podemos hablar de los diferentes tipos de LA:

Soluciones salinas	NaCl 0.9%
Lípidos	Petrolatum , vaselina, parafina
Mono- y Disacáridos	Trehalosa Sorbitol
Polisacáridos naturales (Derivados de los ésteres de celulosa)	Metilcelulosa Carboximetilcelulosa (CMC) Hidroximetilcelulosa (HMC) Hidroxiopropilmetilcelulosa (HPMC)
Polisacáridos sintéticos: (Derivados vinílicos) (Derivados del etilenglicol)	Alcohol polivinílico (PVA) Polietilenglicol Propilenglicol Polividona (polivinil pirrolidona) Polietilenglicol (PEG)
Mucopolisacáridos	Acido hialurónico

- I. **Sueros salinos:** solución de agua con electrolitos con muy bajo tiempo de residencia.
- II. **Lípidos:** aumentan el componente lipídico de la PL, disminuyendo la evaporación. Principalmente indicados en EOS evaporativa.
- III. **Monosacáridos y disacáridos:** molécula de cadena corta como la trehalosa.
- IV. **Polisacáridos sintéticos :** Pueden ser derivados del vinilo como alcohol polivinílico o el polietilenglicol(ayudan a estabilizar la PL) o derivados del etilenglicol (con propiedades surfactantes).
- V. **Polisacáridos naturales:** Son macromoléculas de cadena larga (uniones de monómeros). Esta característica junto a su composición química, le permite aumentar la retención de agua mejorando la humectación y su viscosidad. Como ejemplo, nombrar a los polisacáridos derivados de celulosa como la carboximetilcelulosa. Esta ha demostrado estimular la reepitelización tanto “in vitro” como “in vivo”. También ha demostrado estimular la migración celular pero no así la proliferación del epitelio.
- VI. Otro tipo de polímeros serían los **mucopolisacáridos** como el AH.



ACIDO HIALURÓNICO :

El ácido hialurónico (HA) fue descubierto por un oftalmólogo alemán al estudiar el gel vítreo en ojos de vaca, de ahí el nombre de hialurónico (hialodes). Es un mucopolisacárido o glicosaminoglicano de alto peso molecular que consta de largas cadenas no ramificadas de moléculas de N-acetil-D-glucosamina y ácido D-glucurónico distribuidas de forma alternante. Su estructura varía con el pH y temperatura¹¹².

Se comporta como un fluido no newtoniano con propiedades viscoelásticas con una alta resistencia a bajas tasas de cizallamiento. A mayores tasas de cizallamiento, las moléculas se alinean en la dirección de las fuerzas de cizallamiento disminuyendo su resistencia. Esto se traduce en que aplicado sobre la SO mantiene una estructura tridimensional con viscosidad alta pero durante el parpadeo ésta se reduce permitiendo que se extienda y sin generar molestias al paciente. Su estructura con radicales hidroxilo y el carácter aniónico de su grupo amino acetilado le confiere unas propiedades higroscópicas que le permiten altas tasas de retención de agua. Su tiempo de permanencia es elevado¹¹³ con una gran adhesión al epitelio corneal.

Dentro de las moléculas de adhesión celular se encuentran los receptores de ácido hialurónico o isoformas de CD44. Estos receptores con gran afinidad por el AH se ven incrementados ante traumatismos del epitelio celular expuesto. Esto explicaría que su tiempo de permanencia sea elevado¹¹⁴ con una gran adhesión al epitelio corneal y que este aumente en SO dañadas como ocurre en EOS. También contribuye a explicar porque el AH ayuda a la migración celular.

Como resumen de sus características diremos que el AH presenta:

1. Alta viscosidad con elevado tiempo de residencia.
2. Pseudoplasticidad con comportamiento diferente durante el parpadeo y apertura ocular.
3. Alta hidratación de los epitelios por sus características químicas y por disminuir la tasa de lavado por su viscosidad.
4. Buena adherencia al epitelio
5. El uso de AH en soluciones hipotónicas mejora la clínica referida por los pacientes con EOS¹¹⁵.
6. El AH solo ha demostrado mejorar las tinciones tisulares en paciente con EOS sin cambios estadísticamente significativos en FTBUT, SCH, cuestionario de síntomas o hiperemia¹¹⁶.

En la actualidad, el ácido hialurónico es el componente principal de la mayoría de las lágrimas artificiales comercializadas para el tratamiento de la enfermedad de ojo seco. Pese a ello, en un meta-análisis del 2016, que reconoce el efecto beneficioso del AH para aliviar los síntomas en la EOS, no encuentra evidencia científica de su superioridad sobre otros tratamientos con LA¹¹⁷.

Otro aspecto a destacar es la relevancia del peso molecular del ácido hialurónico y su efecto en la EOS. A mayor longitud de cadena de AH se atribuye mayor efecto hidratante y

favorecedor de la reparación epitelial. Esta longitud se cuantifica indirectamente mediante el peso molecular. Por lo general se considera cadena de alto peso molecular a partir de 1MDa.

➤ **CONCLUSIONES DEL TRATAMIENTO CON LA:**

La principal limitación del tratamiento mediante LA radica, como se ha explicado al principio de esta sección, en la dificultad para simular los componentes naturales de la película lagrimal. Los diferentes tipos de LA aportan componentes aislados que intentan mimetizar los efectos de la PL pero con unos resultados limitados.

Existe gran variedad de formulaciones con diversos principios activos que han demostrado ser beneficiosos sobre los síntomas y hallazgos objetivos pero con resultados dispares y limitados. Esta limitación del efecto es mayor cuanto mayor es el grado de afectación. En un reciente metanálisis no se encuentran diferencias significativas en cuanto a la remisión de síntomas al comparar tratamiento con colirio de hialuronato sódico vs otros colirios¹¹⁸. Tampoco es posible establecer qué principio activo es superior a otro¹¹⁹ en cuanto a mejoría de los diferentes signos oculares, por lo que se hace necesario más ensayos clínicos bien conducidos para establecer estas diferencias.

2.2 PLASMA RICO EN PLAQUETAS

2.2.1 MEDICINA REGENERATIVA: Conceptos generales

La arquitectura tisular está íntimamente relacionada con la función que desempeña dicho tejido. Por lo tanto, tras una pérdida de la integridad morfológica secundaria a un daño tisular, la función se verá afectada. Tras una agresión tisular se ponen en marcha una serie de mecanismos para restaurar el tejido afectado. Estos mecanismos (Fig.20) pueden dar lugar a un tejido con distinta arquitectura y función (REPARACIÓN) o a un tejido similar tanto morfológica como funcionalmente (REGENERACIÓN). La capacidad de regeneración/repación está íntimamente ligada al daño sufrido y a la capacidad intrínseca del tejido dañado para regenerarse.

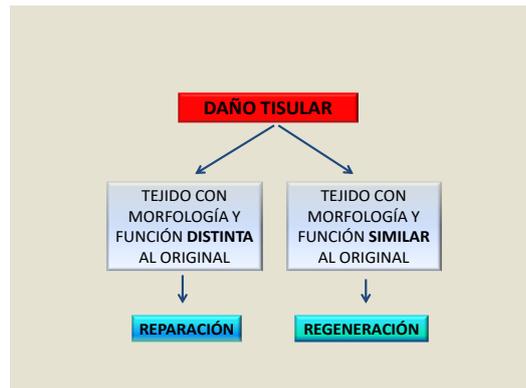


Fig. 20. Mecanismos de restauración tisular tras una agresión.

Los elementos que conforman la respuesta de regeneración son similares, prácticamente en todos los tejidos: generación de *estructura de anclaje* (matriz extracelular), *células* que ocuparán esta estructura y un *microambiente tisular*, encargado de ordenar los fenómenos de proliferación, diferenciación y migración de estas células.

De estos tres elementos, la *matriz extracelular* será la encargada de conformar la estructura de soporte para las células. Los fibroblastos son las células más importantes en la generación de la matriz extracelular. Producen el principal elemento de sostén: colágeno. También generan otras proteínas como fibronectina, laminina, proteoglicanos y glucosaminoglicanos. Junto a estos elementos fibrilares serán necesarios otros relacionados con la adhesión celular como catherinas, selectinas, integrinas y ácido hialurónico que favorecen la unión a la sustancia básica y elementos celulares.

El *microambiente tisular* es particular de un tejido. Hace referencia a unas proteínas cuya función es favorecer la comunicación intercelular de manera que la regeneración se lleve a cabo conforme los parámetros propios de dicho tejido. Lo componen, factores de crecimiento (FC), interleuquinas (IL), citoquinas, hormonas y neurotransmisores. De ellos, los FC son los más decisivos durante la regeneración.

Las **células** que ocuparán la matriz extracelular pueden tener su origen a partir de células madre no diferenciadas y adultas ya diferenciadas.

De este modo, ante un daño tisular, las células con el estímulo de los FC se replicarán para regenerar los tejidos de tres maneras conocidas hasta el momento (Fig.21):

- I. **Hiperplasia compensadora** (aumento de la mitosis)
- II. **Activación de células madre**
- III. **Generación de células madre por dediferenciación de células adultas**

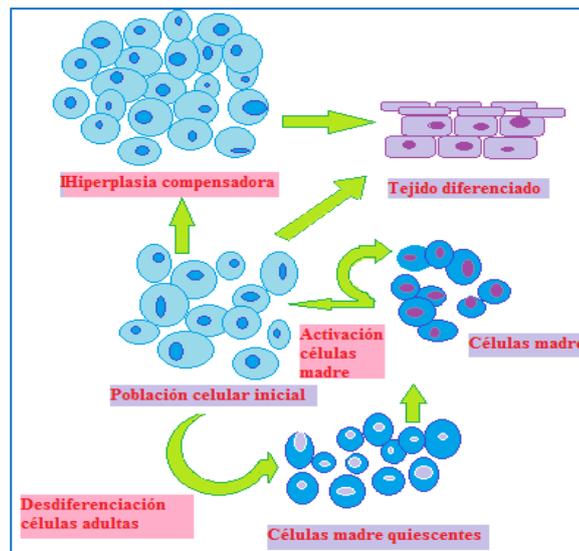


Fig. 21. Mecanismos de regeneración tisular

La **medicina regenerativa** (MR) es la rama de la bioingeniería que se fundamenta en simular los mecanismos biológicos propios del organismo para regenerar los tejidos morfológica y funcionalmente. Para ello se sirve de diversas estrategias que simulan estos mecanismos:

I. Trasplantes celulares

Se basan en la capacidad de proliferación y diferenciación de las células madre. Éstas, al tratarse de células no diferenciadas ni especializadas, pueden renovarse de manera ilimitada y diferenciarse hacia estirpes celulares con fenotipos definidos según el microambiente tisular que les influya. Hay diferentes tipos de células madre según su capacidad de diferenciación y origen (adultas, totipotenciales, pluripotenciales, multipotenciales, embrionarias y gonadales). Las células madre adultas son las que se utilizan con más frecuencia en medicina regenerativa por ser las más disponibles y con menor capacidad cancerígena aunque por otro lado son las que presentan menor capacidad regenerativa.

II. Trasplantes tisulares o de órganos artificiales

La aportación de tejidos u órganos completos puede ser de manera autóloga (del propio paciente) o alogénica (a partir de células de donante). El desarrollo de tejidos artificiales combina el desarrollo de biomateriales, que imitarían la matriz de anclaje y el estímulo regenerador capaz de inducir la replicación y diferenciación de las células madre.

III. Inducción biológica /química

Se basa en utilizar factores conocidos que actúan como mediadores en el microambiente tisular para inducir la regeneración tisular guiada¹²⁰. De ellos, los más destacados son los FC. Actúan como mediadores biológicos principales entre las células.

2.2.2 FACTORES DE CRECIMIENTO

La primera descripción de un FC (NGF) fue publicada por Rita Levi Montalcini y Stanley Cohen en 1956¹²¹ quienes fueron premiados con el Premio Nobel en 1986. En ellos indicaban que la presencia de unas proteínas denominadas FC eran las inductoras para que las células comenzasen a reproducirse.

Los FC son polipéptidos sintetizados como precursores. En condiciones basales, pero especialmente ante procesos de destrucción tisular, los FC estimulan a las células para que entre en un ciclo de crecimiento y división que favorezca la regeneración.

Las células más activas en la producción de FC son los fibroblastos, plaquetas, macrófagos, leucocitos y células endoteliales, quedando almacenados principalmente en los gránulos α de las plaquetas (PLQ) (Fig. 22) y en la matriz ósea de los huesos. Sus funciones son conocidas solo en parte, debido a su gran actividad. Regulan procesos que van desde la proliferación, migración y diferenciación celular, quimiotaxis, regulación del metabolismo celular y la creación de matriz extracelular.

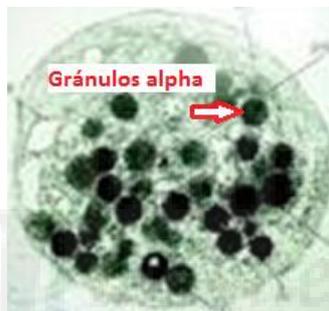


Fig. 22. Gránulos α en interior de una plaqueta. Las PQL son fragmentos anucleares derivados de los megacariocito con forma discoide. En condiciones normales se encuentran en una cantidad que oscila de 150.000-350.000/ μ l. Deben activarse (degranularse) para que liberen el contenido de sus gránulos, de varias maneras: estímulo mecánico, por adhesión al colágeno expuesto tras una lesión o por la unión a trombina. La vía común de la degranulación es la activación de fosfolipasas de la membrana celular que liberan Ca^{++} . Este es capaz de producir la agregación y degranulación plaquetaria por si solo en las concentraciones adecuadas.

La intensidad y el tipo de efecto que inducen los FC depende de su concentración (picogramos), la cantidad / tipo de receptores específicos sobre los que interactúe y de la presencia de agonistas que interactúen con mismo receptor. De manera que un mismo FC puede ejercer diferente efecto según las circunstancias del entorno, por lo que se les califica como “multifuncionantes”¹²². Desde el punto de vista funcional, pueden actuar de dos maneras según el área de acción: paracrino (actúan sobre células adyacentes) y autocrino (actúan sobre la propia célula), aunque en ocasiones actúan a distancia (Fig. 23).

La manera de ejercer su influencia es mediante la unión de estos FC a receptores específicos de la membrana celular diana¹²³. Estos receptores se componen de una porción externa (extracelular), una transmembrana y un dominio interno. La activación de la porción externa específica, se traducirá en la unión de dos ligandos tirosín kinasas adyacentes, que se activan fosforilándose e iniciado la propagación de las señales intracelulares que inducen un efecto determinado (Fig. 24).

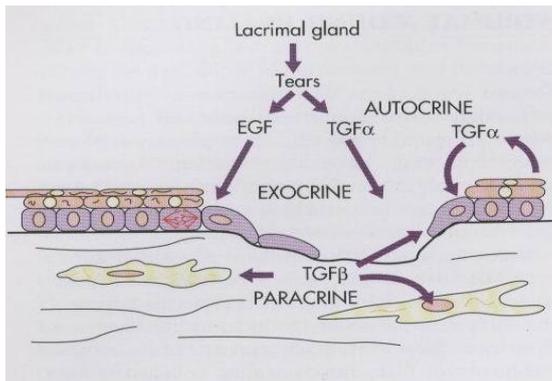


Fig. 23. Área actuación de lo FC

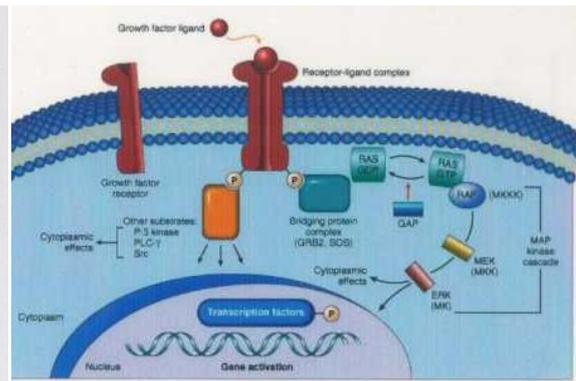


Fig. 24. Sistema receptor transmembrana

A continuación se exponen los principales FC (Tabla 14) y otras sustancias (Tabla 15) presentes en las plaquetas y en el plasma, que actúan a nivel de la SO.

FC	Célula productora	CÉLULAS DIANA	FUNCIÓN
EGF	Plaquetas Macrófagos Neutrófilos Osteoblastos	Epitelio Endotelio Estroma	+Síntesis de matriz extracelular (fibronectina y ácido hialurónico) +Estimula la proliferación, migración y diferenciación celular +Inhibe la diferenciación epitelial terminal +Efecto antiapoptótico +Aumenta la producción de mucina 1
PDGF	Plaquetas Macrófagos Neutrófilos Fibroblastos	Estroma Endotelio	+Estimula la proliferación y migración de células endoteliales y fibroblastos, modulando la respuesta de estos últimos a TGF-β +Regula la interacción entre epitelio y estroma durante reparación, modulando la expresión y acción de otras FC
TGF- β	Plaquetas Macrófagos Neutrófilos Osteoblastos	Epitelio Estroma Endotelio	+Inhibe el crecimiento de células epiteliales y endoteliales +Estimula la proliferación, migración y diferenciación de fibroblastos y su diferenciación a miofibroblastos +Favorece la síntesis de matriz extracelular(↑ heparan y dermatan sulfato y ↓ keratan sulfato) y neovascularización +Inhibe la actividad de metaloproteinasas +Potencia la actividad del EGF sobre el crecimiento de queratocitos
KGF		Epitelio	+Síntesis de DNA y en la promoción del crecimiento celular
HGF		Epitelio Endotelio	+Proliferación, motilidad y cambios morfológicos en células epiteliales y endoteliales
FGF	Fibroblastos Macrófagos Neutrófilos Plaquetas Endotelio	Epitelio Estroma Endotelio	+Mitosis en epitelio, estroma, endotelio +Favorece la migración de los queratocitos +Aumenta:proliferación, diferenciación y quimiotáxis sobre fibroblasto
IGF-1	Plaquetas Macrófagos Osteoblastos	Epitelio Estroma	+Proliferación y diferenciación del epitelio +Efecto antiapoptótico y Efecto quimiotáctico para fibroblastos +Aumenta la expresión de integrinas
NGF		Epitelio corneal y conjuntival	+Promueve la proliferación y diferenciación epitelial +Liberación de neuropéptidos y otros factores de crecimiento +Favorece la regeneración de los nervios y neovascularización corneal

EGF: Factor de crecimiento epidérmico, **PDEGF:** Factor crecimiento derivado de plaquetas.**TGF- β:** Factor crecimiento transformante β, **KGF:** Factor crecimiento de queratinocitos, **HGF:** Factor de Crecimiento de Hepatocitos, **FGF:** Factor de crecimiento de fibroblastos, **IGF-1:** Factor de crecimiento similar a insulina. **NGF:** Factor de crecimiento nervioso

Tabla 14. FC presentes en plasma y plaquetas que actúan a nivel SO (adaptado de López G. ¹²⁴)

SUSTANCIA	ACCIÓN SOBRE LA SO
Vitamina A	+Antibacteriana y antioxidante. +Efecto epiteliotrófico, favoreciendo la reparación del epitelio corneal y conjuntival y previene la metaplasia escamosa
Fibronectina	+Matriz extracelular +Favorece la migración celular en procesos de reparación
Albúmina	+Efecto antiapoptótico +Reduce la degradación de citoquinas y factores de crecimiento
α2- macroglobulina	+Neutraliza enzimas proteolíticas (anticolagenasa)
Anexina 5	+Efecto similar a al interactuar con integrinas +↑producción de urokinasa, favoreciendo la migración celular en los procesos de reparación
Sustancia P	+Favorece la migración-proliferación de células epiteliales y queratocitos
Inmunoglobulinas	+Efecto antimicrobiano
Lisozima	+Efecto antimicrobiano
Complemento	+Efecto antimicrobiano

Tabla15. Principales sustancias presentes en plasma y plaquetas que actúan a nivel SO (adaptado de López⁸⁷)

2.2.3 ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL USO DE PRP EN OFTALMOLOGÍA (EOS)

La primera cita que encontramos referente al uso del uso de sangre en los ojos es en el Papiro de Ebers, 1534 AC. Más actual, en 1975, Ralph and col¹²⁵ describen el uso de SA sobre la SO y más tarde Fox y asociados demuestran la eficacia del SA en la queratoconjuntivitis sicca¹²⁶. Tsubota y col. publicaron dos artículos en 1999 mostrando los beneficios del SA en la EOS por SS¹²⁷ y en los defectos epiteliales persistentes¹²⁸.

El interés en el uso de derivados hematológicos para uso tópico en la SO ha crecido en los últimos años así como la bibliografía al respecto¹²⁹ (Fig.25).

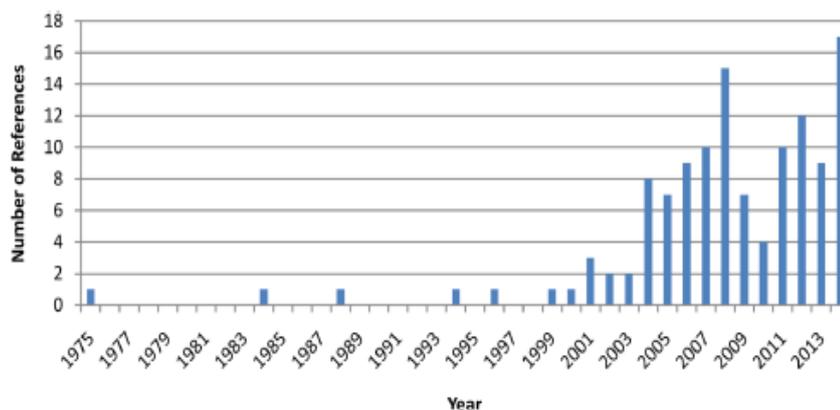


Fig.25. Publicaciones en Pub-Med desde 1975-2014 sobre derivados hematológicos para uso tópico en la SO¹²⁹

Hasta diciembre de 2014 encontramos 122 referencias sobre derivados hematológicos para uso tópico en la SO.

En una búsqueda más concreta sobre de “PRP” asociado a “eye” u “ocular surface”, hasta febrero 2016, se realizó una búsqueda con los siguientes términos en *Pub-Med*:

("platelet-rich plasma"[MeSH Terms] OR "platelet rich plasma"[All Fields]) OR ("platelet-rich"[All Fields] AND "plasma"[All Fields]) OR "platelet-rich plasma"[All Fields] OR ("platelet"[All Fields] AND "rich"[All Fields] AND "plasma"[All Fields]) AND ("eye"[MeSH Terms] OR "eye"[All Fields] OR "ocular surface"[All Fields])

Se encontraron 81 artículos:

0 ensayo clínico sobre EOS

2 ensayo clínico sobre quemaduras químicas^{130, 131}

1 ensayo clínico sobre regeneración nerviosa tras LASIK¹³²

4 artículos de revisión^{133, 134, 135, 136}

3 estudios observacionales en EOS^{137, 138, 139}

(Los tres estudios son comentados en el apartado de indicaciones clínicas 2.2.6. El resto eran desde series de casos, estudios retrospectivos u observacionales o estudios de ciencias básicas)

Ante la falta de otros ensayos clínicos con PRP en la EOS, se buscó referencias a ensayos clínicos de SA en EOS hasta febrero de 2016. Se encontraron 6 estudios^{140, 141, 142, 143, 144, 145}.

En ellos se aplicaba SA frente a placebos como suero salino o lágrimas artificiales (LA), durante un período de tiempo entre 1-6 meses. La mayoría de los SA estaban diluidos al 20% y en uno al 50%. En 4 de ellos el enmascaramiento era simple ciego por las diferencias de color y textura entre SA y placebo, con dudas sobre la efectividad del enmascaramiento en los de doble ciego por los mismos motivos. La frecuencia de instilaciones varía de 4 a 6 al día.

Tananuvat y col. no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Noble y col. si encontraron diferencias estadísticamente significativas en la mejoría de la CIC. Kojima y col. trataron a 20 pacientes con EOS y encontraron mejoría estadísticamente significativas en el TFBUT, tinciones con rosa Bengala(RBS) y TFC en el grupo tratado con SA. Urzua y col. encontraron en un grupo de 12 pacientes una mejoría estadísticamente significativa en el OSDI pero no así en TFBUT ni en TFC. Por su parte Celebi y col. encontraron también una mejoría estadísticamente significativas en el OSDI.

En la Tabla 15 se muestran los 6 ensayos clínicos de SA en EOS y los 3 observacionales que valora la eficacia del PRP/PRGF en EOS. En ninguno se reportaron complicaciones importantes.

Estudio	Pacientes /ojos	EM	Control/ Placebo	Dosis /día	Duración en días	Test valorados	Mejoría objetiva	Complicaciones
Tananuvat	12/24	S	SA/salino	6	60	TFBUT, RBS, TFC, CIC, ST	36% ST	N/A
Noble	31/16	S	SA/LA	DM	180	RBS, FCT, CIC, ST	48% CIC 75% ST	No
Kojima	20/37	S	SA/LA	6	15	TFBUT, CIC RBS, TFC,	En todos los test	No
Noda	27/54	S	SA/LA	5	180	TFBUT, RBS, TFC	En todos los test	N/A
Urzua	12/24	D	SA/LA	4	15	TFBUT, TFC, OSDI	51% OSDI No en resto	No
Celebi	20/40	D	SA/LA	4	30	TFBUT, SCH, TFC	54% OSDI No en resto	No
Alió ¹³⁸	36/18	no	PRP/LA	4-6	30	TFBUT, AV, TFC, CIC, ST	50% BUT 72% TFC 86% HPR CIC	No
López P ¹³⁹	32/16	no	PRGF			ST, CIC, niveles FC	CIC, ST	No
Avila ¹³⁷	4	no	PRP	1 inyección a las 0,4,8,12 semanas		TFBUT, SCH, TFC	En todos los test	No

Tabla 15. Ensayos clínicos de SA y observacionales de PRP en EOS. AV: agudeza visual; CIC: citología impresión conjuntival; D: Doble; DM: a demanda; EM: Enmascaramiento; FCT: aclaramiento fluoresceína; LA: lágrimas artificiales; OSDI: cuestionario síntomas ;PRP: Plasma enriquecido plaquetas; RBS: tinción rosa Bengala; S: Simple; SA: suero autólogo; ST: cuestionario de síntomas modificado ; TBUT: tiempo rotura lagrimal; TFC: tinción fluoresceína; SCH: test de Schirmer

“Una característica común en todos estos estudios observacionales es el tamaño muestral, siendo el mayor de 20 pacientes. Además se valoran diversos test subjetivos y objetivos pero en ninguno se incluye la medición de la osmolaridad como el indicador más fiable de los cambios en la SO asociada a EOS. Es necesario la realización de ensayos clínicos que aporten evidencia sobre su eficacia en su aplicación oftalmológica, particularmente en EOS.”

2.2.4 FORMULACIÓN Y COMPONENTES DEL PRP

La sangre esta está compuesta en un 55% de plasma y el resto son células (eritrocitos, leucocitos y plaquetas). El plasma es la porción líquida y se compone en un 96% agua y 4% proteínas y otros materiales: aminoácidos, lípidos, hormonas, enzimas, vitaminas, metabolitos orgánicos, compuestos de desecho, urea , gases en disolución, componentes inorgánicos como sodio, globulinas , albúmina, fibrinógeno, lipoproteínas, sales minerales y nutrientes. Cuando dejamos que se active la cascada de la coagulación y se forme un coágulo en el plasma obtenemos suero. El suero es el plasma sin plaquetas ni fibrinógeno.

Cuando centrifugamos un tubo de sangre no coagulada, dependiendo de la fuerza *g* ejercida, conseguimos separar el plasma de los elementos celulares. Por su peso, lo eritrocitos quedan sedimentados al final del tubo seguidos por la serie blanca y a continuación las plaquetas que quedan suspendidas principalmente en las porciones más distales del plasma. Seleccionando estas fracciones del tubo, obtenemos un plasma rico en plaquetas (PRP). Por lo tanto, dependiendo del método empleado las concentraciones de PLQ, leucos, y FC serán distintas y por lo tanto se obtienen distintas fracciones, que podemos distinguir entre:

- PRGF ----- Plasma Rico en Factores de Crecimiento
- PRPGF ----- Plasma Rico en Plaquetas y Factores de Crecimiento
- PRP ----- Plasma Rico en Plaquetas
- PPP ----- Plasma Pobre en Plaquetas
- LR-PRP ----- Plasma Pobre en Plaquetas y Leucocitos
- LP-PRP ----- Plasma Pobre en Plaquetas y Pobre en Leucocitos

Bajo la nomenclatura PRP se enumeran las diferentes fracciones citadas.

La única definición defendida en la literatura, define el PRP como: **Un volumen de plasma autólogo que contiene una concentración de plaquetas superior al nivel basal (150.000-350.000/ μL ¹⁴⁶).**

En muchas publicaciones se hace un uso indistinto de dicha terminología dificultando la protocolización de las diferentes técnicas y sus resultados. En ella encontramos una gran cantidad de métodos de preparación del PRP¹⁴⁷ (Tabla 16). Encontramos diferencias en la cantidad de sangre extraída, su velocidad-temperatura de centrifugación, forma de activación y concentración final de PLQ.

Estudio	Tipo PRP	Extracción	Centrifugación	Pipeteado	Activación	Conservación	Concentración plaquetas
Anitua E.	PRGF	Tubos de 9 ml con ct 3,8%.	580 g, t ^a ambiente, 8 min.	Plasma sin leucocitos	CaCl ₂ 10%, 5 $\mu\text{l}/\text{ml}$.	-80°C	x 1,7 (386x10 ³ / μl)
Ronci, Ferraro	PRP	16 ml de sangre en tubos de 8 ml con ct y gel .	1500 g, t ^a ambiente, 5 min	N/A	Congelación/ descongelación ctr:10000 g.	-20°C	x 1,3 (339x10 ³ / μl)
Panda	PRP	100 ml sangre Tubos de 10 ml con 1 ml ct 3,2%	1400 rpm, 5°C 10 min	90% del plasma.	N/A	7 días 4°C	x 4 (800.000)
Alio, Abad M	PRP	80-100 ml sangre Tubos de 10 ml con 1 ml ct 3,2%	1400 rpm, 5°C, 10 min.	90% de la columna de plasma	No	7 días 4°C	x 4 (800.000)
Freire	PRP	N/A	460 g, 8 min.	1/3	N/A	-20°C	N/A
Ávila	PRP	10 ml de sangre Tubos con 0,5 ml de ct.	1 ^a)160 g, 10 min 2 ^a) 160g, 10 min	1 ml fracción inferior del plasma	0,1 ml de CaCl ₂	Inyección	N/A

Tabla 16. Métodos de procesado de PRP en la bibliografía. ct:citrato sódico; CaCl₂:Cloruro cálcico; ctr:centrifugación

2.2.4.1 FORMULACIÓN DEL PRP

El proceso se basa en la sedimentación de los diferentes tipos celulares mediante la centrifugación diferencial de cada uno de ellos. La formulación comienza con la extracción de sangre en tubos recolectores con anticoagulantes. A continuación la mayoría de los métodos describen dos centrifugaciones, el primero para separar a los eritrocitos del resto y el segundo para concentrar las plaquetas. Tras el primer centrifugado se recogen las fracciones por encima de la serie roja, incluyendo serie blanca y el plasma. En la segunda centrifugación se concentran las PQL (PRP) en el tercio distal del tubo mientras que los 2/3 superiores será plasma pobre en PLQ(PPP).

Se recogerá la fracción de PRP concentrada suspendida en una pequeña cantidad de plasma (3-4 ml). También hay descritos métodos de un solo ciclo¹⁴⁸ en los que tras un único ciclo de centrifugación se recoge la fracción inmediata por encima de la serie roja. Por último, según el método, se activarán o no las plaquetas para que liberen los FC.

Además de esta formulación manual o “abierta” para la que son necesarios una serie de requisitos acordes con la legislación vigente (apartado 2.2.5), existe la opción de utilizar kits comerciales en los que el proceso es “cerrado” (mínima manipulación).

Por lo general se asocia que concentraciones más elevadas de PQL presentan mayor disponibilidad de FC y por ende, mayor efecto. Lo que buscamos es el efecto de los FC del interior de los gránulos plaquetarios. Para que sean liberados, las plaquetas deben activarse mediante diversas técnicas, de esta manera obtenemos plasma rico en factores de crecimiento (PRGF). Diversos autores no consideran que inducir la activación sea necesario ya que se produce de manera natural al contacto con los tejidos.

Veamos aspectos de cada fase por separado reportados en la bibliografía hasta febrero 2016:

- **Obtención sangre:**

Se realiza de sangre venosa en tubos con anticoagulante, referiblemente citrato sódico ya que el EDTA parece alterar las membranas de las PLQ. No es deseable la rotura forzada de las PLQ pues lo que se busca es la liberación activa de los FC mediante la activación plaquetaria.

Para la extracción se recomiendan agujas de un calibre mayor de 22G pues el menor diámetro parece activar a las PLQ¹⁴⁹. El tiempo de extracción largo también se asocia con menor tasa de recogida de PLQ.

- **Centrifugación:**

La separación de los diferentes componentes de la sangre se basa en el diferente desplazamiento que sufren las células al aplicarles una fuerza g determinada. Esta fuerza se expresa en múltiplos de la fuerza gravitacional terrestre y depende de la velocidad de centrifugación (revoluciones por minuto o rpm) aplicada y el radio del rotor sobre el que gira. Es importante que en los diferentes estudios se hable de g y no de rpm para poder establecer comparaciones. Existen muchos protocolos de centrifugación en los que varía el volumen de sangre procesada, las rpm, el tiempo de centrifugación y el rango de aceleración/deceleración de la centrifugación. En la Tabla 16 se comparan los diversos métodos.

Respecto al tiempo de centrifugación parece que períodos largos favorecen una mayor concentración de PQL y menor de leucocitos. Respecto a la fuerza g existe gran disparidad de métodos pero parece ser por lo general menor que la fuerza aplicada para elaborar SA pues se busca mantener íntegras las PQL.

En el estudio de Amable et al. Se compararon diferentes variantes como tiempo, g de centrifugación y temperatura para optimizar el proceso y se analizó la concentración de diversos FC y otras sustancias. Encontraron que la formulación para la primera centrifugación con mayor proporción de PLQ era de 300 x g por 5 min y 12°C con una tasa de recuperación de PLQ del 87.7%. Para la segunda centrifugación fue de 700 x g por 17 min con tasa de recuperación de PLQ del 97.4%. Sin embargo Dugrillon et al. afirman que la cantidad de FC no siempre es proporcional

a la de PLQ y que se debe prestar más atención a la calidad del PRP que a la concentración de PLQ¹⁵⁰.

- **Temperatura:**

La temperatura es crucial para evitar la activación de las PLQ. Se recomienda en la formulación manual o abierta una temperatura entre 21°C-16°C¹⁵¹. Hay autores que lo reducen entre 12-16°C.

- **Activación plaquetaria:**

Otro parámetro a dilucidar es si es necesaria la activación antes de la aplicación del PRP. Ésta se puede realizar con trombina, cloruro cálcico y ciclos de congelación-descongelación, entre otros.

Burmeister et al. registraron concentraciones diferentes de FC según la forma de activación mediante frío y trombina. Con ambos métodos las concentraciones de EGF, TGF-beta1, and PDGF eran mayores que en plasma fresco. A pesar de ello, el uso de trombina está en desuso por riesgo de coagulopatías¹⁵². La mayor parte de artículos describen procesos de congelación /descongelación y otros mediante la aplicación de $ClCa_2$.

Existe varias publicaciones en las no se considera necesario la activación, sobre todo si se aplica en tejidos blandos pues el contacto con el colágeno es causa de activación y no olvidemos que la concentración de calcio en lágrima es de $0,80\text{ mOsm/L}$ ($0,2\text{-}3\text{ mOsm/L}$).

- **Estabilidad:**

Anitua et al. valoraron los diferentes parámetros de conservación como tiempo o temperatura y su efecto sobre los niveles de TGF-B1, EGF, PDGF, VEGF e ILGF, así como la capacidad de estimular la proliferación y migración celular del colirio de PRGF. Ésta se mantuvo constante tras 3 y 6 mese a -20°C y tras 1-3 días en nevera o temperatura ambiente.

En el estudio de Freire¹⁵³ se valoró la concentración de diversos FC entre colirios de SA, PRP y PRGF (Tabla 17). Las concentraciones de EGF fueron mayores en PRGF favoreciendo la proliferación epitelial. El HGF fue mayor en SA lo cual puede favorecer la neovascularización, mientras que el PDFG y la fibronectina fueron similares en los tres preparados. Por su parte el PRFG parece inducir mayor respuesta proliferativa en los cultivos celulares. Por su parte, Scherer¹⁵⁴ encontró que el PRP no activado era más eficaz en la regeneración de tejidos dañados en animales que el PRP activado con trombina.

Derivado Hematológico	PDGF (pg/ml)	EGF (pg/ml)	VEGF (pg/ml)	HGF (pg/ml)	FGF (pg/ml)	Fibronectina (µg/ml)
SA	17360±3730	417,94± 82,62	160,06±89,9	275,83±101,65	58,55±54,64	31,1± 6,7
PRP	18260± 6440	279,83±78,18	60,31±42,50	84,6±63,87	57,04±44,44	30,5± 5,1
PRGF	15580± 4650	489,12±95,48	124,6±79,64	83,74±79,42	58,27±41,25	31,8± 3,5

Tabla 17. Concentraciones de FC en tres derivados hematológicos del mismo autor

Además de su uso como colirio, si estimulamos la coagulación poco antes de su aplicación mediante cloruro cálcico o trombina, obtenemos un adhesivo tisular o un coágulo (dependiendo del tiempo de espera). El primero se utiliza como bioadhesivo para reconstrucciones conjuntivales,

entre otros. La forma de coágulo se emplea como injerto dada su consistencia, que permite incluso suturarlo a la zona de aplicación.

Por último nombrar que existen concentrados de plaquetas de sangre obtenida de cordón umbilical. Su forma de preparación es similar con unas tasas de regeneración similares y sin efectos secundarios reconocibles¹⁵⁵.

2.2.4.2 COMPOSICIÓN DEL PRP

La composición muestra la riqueza del PRP. La concentración de los diferentes elementos puede variar según el método de procesado. En la siguiente tabla (Tabla 18) se muestran los diferentes compuestos presentes en PRP. Adaptada de Anitua E.¹⁵⁶

CATEGORÍA	PROTEÍNAS	FUNCIÓN
Proteínas Adhesivas	Factor Von Willebrand+Pro-péptido, Fibrinógeno, Fibronectina, Vitronectina, TSP-1, laminina-8 (subunidades de laminina alpha4- y alpha5-), SCUBE1	Interacción celular, hemostasia y coagulación, composición de la matriz extracelular.
Factores de coagulación y proteínas asociadas	Factor V/Va, proteína del tipo factor XI, multimerina, proteína S, quininógeno de alto peso molecular, antitrombina III, inhibidor de la vía del factor tisular (TFP1)	Producción de trombina y su regulación
Factores fibrinolíticos y proteínas asociadas	Plasminógeno, PAI-I, u-PA, alfa 2 antiplasmina, glicoproteína rica en histidina, TAFI, alfa 2 macroglobulina	Producción de plasmina y modelado vascular
Proteasas y antiproteasas	Inhibidores de metaloproteasas 1-4(TIMPs 1-4), metaloproteasas -1, -2, -4, -9, ADAMTS 13, TACE, inhibidorplaquetario de FIX, proteasa nexina 2, inhibidor C1, inhibidor 8 de la proteinasaserpina, alfa 1 antitripsina	Angiogénesis, modelado vascular, regulación de la coagulación, regulación del comportamiento celular
Factores de crecimiento	PDGF, TGF-beta 1 y 2, EGF, IGF-1, EGF(A,C), bFGF (FGF-2), HGF, BMP-2, -4, -6, TGF	Quimiotaxis, Proliferación y diferenciación, angiogénesis
Quimioquinas, citoquinas y otros	RANTES, MIP 1-alfa, ENA 78, NAP-2, MCP-3, IL8, alfa GRO, FasL, angiopoietina 1, IGF-BP3, IL-6sR, PF4, proteína básica plaquetaria, péptido III activador del tejido conectivo, HMGB1, LIGHT, TRAIL, alfa SDF 1, endostatinas, osteonectina, sialoproteína ósea	Regulación de la angiogénesis, modelado vascular, interacciones celulares, formación ósea
Proteínas antimicrobianas	Trombocidinas	Bactericidas y fungicidas
Glicoproteínas de membrana	α IIb β 3, α v β 3, GPIb, PECAM-1, la mayoría de los constituyentes de la membrana plasmática, receptores de los agonistas primarios, CD40L, factor tisular, P-selectina, TLT-1	Agregación y adhesión de plaquetas, endocitosis de las proteínas, inflamación, generación de trombina, interacción entre plaquetas y leucocitos
Otros	Sulfato de condroitina 4, albúmina, inmunoglobulinas, disabled-2, semaforina	Promueve la angiogénesis la regeneración del cartílago, la fibrosis y adhesión plaquetaria

Tabla 18. Elementos presentes en PRP

2.2.5 CONSIDERACIONES LEGALES

Según el informe/V1/23052013 de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas: “ La Directiva 2001/83/CE, de 6 de noviembre, establece un código comunitario sobre medicamentos de uso humano y la Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios definen medicamento de uso humano como *«toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades para el tratamiento o prevención de enfermedades en seres humanos o que pueda usarse en seres humanos o administrarse a seres humanos con el fin de restaurar, corregir o modificar las funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico médico»*.

De este modo, y atendiendo a la composición del plasma rico en plaquetas, el mecanismo de acción postulado así como a sus fines o indicaciones, cabe considerar la aplicación del PRP como un **medicamento de uso humano**.

Sin embargo, siendo un medicamento de uso humano, no cabe considerarlo como un medicamento de producción industrial ni como un medicamento de terapia avanzada de acuerdo con la definición dada por el Reglamento (CE) nº 1394/2007 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 13 de noviembre de 2007, sobre medicamentos de terapia avanzada.

La Directiva 2001/83/CE, de 6 de noviembre, establece, en su artículo 5, que los Estados miembros podrán, de acuerdo con la legislación vigente y con vistas a atender necesidades especiales, excluir de las disposiciones de dicha Directiva a los medicamentos elaborados de acuerdo con la prescripción de un facultativo reconocido y que los destine a un paciente individual bajo su responsabilidad personal directa.

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios considera, por lo tanto, que el PRP es un medicamento de uso humano que se puede utilizar al amparo del artículo 5 de la Directiva 2001/83/CE, de 6 de noviembre, y las disposiciones legales que transponen dicha Directiva en nuestro país”.

De lo anterior se derivan varias consecuencias:

- El PRP sólo podrá prescribirse por médicos, odontólogos o podólogos con la cualificación adecuada, en el ámbito de sus competencias respectivas, con experiencia en el tratamiento, con el equipamiento o instrumentación adecuada y en establecimientos y centros sanitarios que estén debidamente autorizados de acuerdo a la normativa vigente en las respectivas comunidades autónomas.
- Queda prohibido cualquier tipo de publicidad destinada al público en general, como cualquier otro medicamento sujeto a prescripción médica.

En la autorización de cualquier medicamento se deben cumplir unas condiciones de garantía de calidad, seguridad, eficacia, trazabilidad e información.

Garantía de calidad:

Debido a que todavía no existen protocolos unificados de procesado de PRP, será el facultativo prescriptor el responsable de garantizar el correcto cumplimiento de la metodología usada del PRP, aunque haya sido realizada por terceros.

En el caso de preparaciones con técnica abierta (procesado manual) el método empleado deberá ser evaluado desde el punto de vista de calidad. Por ello se deberá solicitar una inspección a la autoridad competente que verifique las instalaciones, control de calidad y producción, teniendo como referente las Normas de Correcta Fabricación de la Unión Europea.

En el caso de preparaciones con técnica cerrada (procesado con kit desechables comercializados) el método empleado deberá seguir las instrucciones descritas en cada sistema comercial, no siendo necesaria la obtención de un certificado de adecuación de las instalaciones y de las actividades de preparación efectuadas, tomando como referencia lo establecido en las Normas de Correcta Fabricación de la Unión Europea y con marcado CE.

Garantía de eficacia:

La AEMPS desarrollará un listado de indicaciones sobre las que hay evidencia científica del beneficio de la aplicación de PRP, animando a los investigadores a realizar ensayos clínicos que así lo demuestren.

Garantía de trazabilidad:

Por tratarse de productos hemoderivados y aún siendo autólogos, el prescriptor deberá adoptar medidas de control, trazabilidad y vigilancia que impidan la transmisión de enfermedades infecciosas según la Orden SCO/322/2007, de 9 de febrero. Se aplicará el Capítulo V sobre donación autóloga y autotransfusión del Real Decreto 1088/2005, quedando excluidas de forma permanente o temporal, de estos procedimientos las personas del grupo que se describe en el Anexo II, punto C, del Real Decreto 1088/2005. Éstas son:

1. Exclusión permanente.

1.1 Enfermedad cardíaca grave, depende de las circunstancias clínicas en el momento de la extracción.

1.2 Personas con antecedentes de:

- a) Hepatitis B, excepto negativas a AgHBs, cuya inmunidad haya sido demostrada.
- b) Marcadores positivos para el VHC.
- c) Marcadores positivos para VIH- I/II.
- d) Marcadores positivos para HTLV I/II.

2. Exclusión temporal.

2.1 Infección bacteriana activa.

Pruebas analíticas que se realizan a las donaciones de sangre incluidas las autólogas son:

1. Donantes con historia de transfusión previa o embarazo, escrutinio de anticuerpos irregulares antieritrocitarios mediante métodos que detecten anticuerpos clínicamente significativos.
2. Pruebas para la detección de agentes infecciosos:
 - a) Sífilis: pruebas serológicas.
 - b) Hepatitis B: AgHBs.
 - c) VIH I/II: Anti-VIH I/II.
 - d) Hepatitis C: Anti-VHC y amplificación genómica del ácido nucleico (NAT)

Se excluye de estas condiciones su aplicación en el contexto de un ensayo clínico autorizado por la AEMPS, así como para su uso compasivo.

Garantía de farmacovigilancia:

Los profesionales sanitarios tiene el deber de comunicar la sospecha de reacciones adversas por el uso de medicamentos, según el artículo 53.2 de la Ley 29/2006, de 26 de julio.

Garantía de información:

Será responsabilidad del prescriptor que el paciente reciba información sobre el uso del producto para mantener los requisitos de calidad, aspectos sobre la eficacia, la ventaja sobre otros tratamientos así como los riesgos y posibles reacciones adversas.

2.2.6 APLICACIONES EN OFTALMOLOGÍA. EOS

Son múltiples las aplicaciones que se han dado al PRP en oftalmología, principalmente en SO. A continuación se comentan estas aplicaciones :

- **Enfermedad de ojo seco:**

Como se ha comentado en el apartado de tratamiento en EOS, la terapia central del tratamiento de esta enfermedad siguen siendo los sustitutivos artificiales de las lágrimas. Las LA han demostrado mejorar algunos de los parámetros diagnósticos que empleamos en la EOS pero con resultados dispares y limitados.

Pero su principal limitación es que no presentan una composición similar a las lágrimas. Sin embargo éstas, al tratarse de un filtrado de plasma producido por las glándulas lagrimales, sí presentan una composición similar (Tabla 19).

	LÁGRIMA	SA	PRP
pH	7.4 ¹²⁴	7,45 ¹²⁴	7.42 [*]
Osmolaridad (mOsm/L)	298 ¹²⁴	295 ¹²⁴	316 [*]
EGF (ng/ml)	0,2-0,3 ¹⁵⁷	0,5 ¹²³	280 ¹¹⁹
TGF-β (ng/ml)	2-10 ¹²³	6-33 ¹²³	
Vit A (mg/ml)	0,02 ¹²³	46 ¹²³	
Fibronectina (µg/ml)	21 ¹²³	205 ¹²³ /31 ¹³¹	31 ¹³¹
Lisozima (mg/ml)¹²³	1,4 ¹²³	6 ¹²³	
IGF-I (ng/ml)	157 ¹⁵⁸		93 ¹⁵⁹
TSP (ng/ml)	0,157 ¹²⁴	0,071 ¹²⁴	
NGF (pg/ml)	468 ¹²⁴	54 ¹²⁴	

Tabla 19. Comparación composición lágrima-SA-PRP. *Datos propios pendientes de publicación

En los tres estudios observacionales encontrados en la revisión bibliográfica que estudian el efecto del PRP en la EOS se aprecian mejorías estadísticamente significativas:

1. En el estudio observacional de Ávila y col.¹³⁷ se trató a 4 pacientes con EOS severo por disfunción de la glándula lágrima mediante inyección de 1 ml de PRP a las 0, 4, 8 y 12 semanas. En todos los casos hubo mejoría del SCH de $3,3 \pm 0,8$ mm a $1,1 \pm 2,3$ mm $p=0,002$, de la Tinción con Verde de lisamina (Escala Oxford modificada): de $8 \pm 0,61$ a $2,8 \pm 0,5$. $<0,005$ y del TFBUT: de $4,3 \pm 0,4$ s a $12,3 \pm 0,7$ s. $p < 0,005$.

2. Alió y cols¹³⁸ realizó otro estudio observacional en el que se trataba a 18 pacientes con diferentes grados de EOS con PRP de 4-6 veces al día por 1 mes. De los diferentes test que se valoraron, encontraron una mejoría de 1 o más líneas de AV en el 28% sin empeoramiento del resto. Una mejoría de 2 segundos en el 50% del TFBUT sin empeoramiento del resto, una mejoría en la HPR en el 86% y una mejoría en la CIC postratamiento estadísticamente significativa.

3. En el estudio observacional de López-Plandolit S¹³⁹ se trataron 16 pacientes con EOS moderado –severo que no habían respondido a otros tratamientos anteriores con PRFG. Hubo una mejoría significativa en los cuestionarios de síntomas ($P < 0.001$) y una reducción no estadísticamente significativa en el grado de metaplasia en las CIC.

- **Defectos epiteliales persistentes :**

Se trata de defectos de más de 2 mm de diámetro en su eje mayor que persisten más de 2 semanas y no responden a tratamiento habitual. En su tratamiento se han utilizado LA, lentes de contacto terapéuticas (LC), tarsorrafia, membrana amniótica t trasplante de limbo. EOS severa y queratitis neurotrófica son dos de las causas más frecuentes. En la primera existe déficit de gran cantidad de crecimiento por producción insuficiente por parte de la glándula principal y en la neurotrófica predomina el déficit de sustancia P y acetilcolina. Se han tratado estos defectos con PRP con alta concentración de PLQ y otro grupo con PRP de menor concentración. En todos los casos hubo cierre de las lesiones independientemente de la concentración de PLQ¹⁶⁰. Estos resultados se asocian al efecto de aumento de la migración epitelial por parte del EGF, Vit.A y IGF-1¹⁶¹.

- **Enfermedad injerto frente a huésped (EIFH):**

La enfermedad injerto contra huésped es la principal complicación de los trasplantes alogénicos de células hematopoyéticas y de órganos que contienen células linfoides. Ocurre entre el 30 y 50% de los alotrasplantes y en una proporción aún mayor en pacientes trasplantados de donantes no relacionados.

Las consecuencias más comunes de esta patología a nivel oftalmológico suele ser una forma de EOS severa como consecuencia de la infiltración linfocítica de la glándula lagrimal así como queratopatía en banda, queratitis filamentosa y peroraciones oculares. EL tratamiento habitual es con LA, ciclosporina, corticoides y tapones lagrimales.

En un estudio¹⁶² se trató a 23 pacientes con EIFH grados II-IV y refractario a otros tratamientos con PRGF 4 veces al día por 6 meses. El 84% mejoró su fotofobia y el 80% mejoró el TFBUT, sin efectos adversos significativos.

- **Quemaduras químicas:**

Suponen una urgencia oftalmológica por la importancia del inicio rápido de tratamiento y por sus consecuencias. El tratamiento empleado en estos casos incluye lavado y desbridamiento de las lesiones, antiinflamatorios, profilaxis antibiótica, lentes terapéuticas. Uno de las complicaciones más temidas es la efectación limbar y su relación con un futura insuficiencia limbar. EL PRP ha demostrado ser útil en el tratamiento de esta urgencia tanto en ensayos con ojos de conejo como en estudios prospectivos, en los que la inyección de PRP subconjuntival aceleraba la resolución del proceso⁹⁹. Se trataron 20 pacientes con quemaduras grado III-IV con tratamiento habitual + PRP o LA. El PRP resultó ser más efectivo y sin efectos secundarios.

- **Úlceras y perforaciones corneales:**

Las úlceras pueden tener numerosas causas aunque las de origen neurotrófico y las asociadas a enfermedades reumatológicas suelen ser más refractarias al tratamiento. En su evolución pueden llegar a alcanzar todo el espesor corneal perforando la córnea. Su tratamiento pasa por proteger la úlcera con lentes terapéuticas, LA, profilaxis antibiótica, antiinflamatorios según la causa y en algunos casos con el uso de membrana amniótica u otro tipo de parche¹⁶³. Hay estudios en el que el PRP solo o en combinación con membrana amniótica ha resuelto estas lesiones que no respondían a otras terapias¹⁶⁴.

- **Síndrome post-LASIK:**

Se trata de un efecto secundario a la sección de los plexos nerviosos en cirugías como LASIK, queratoplastias penetrantes o cirugías de gran incisión. Se caracteriza por epitelopatía difusa que puede llegar a ulcerarse si no responde a tratamiento. Se asocia con alteraciones de la estabilidad lagrimal y de su producción, lo cual refleja el papel primordial del sistema nervioso en el mantenimiento de la SO. Su tratamiento se basa en aportar LA hasta la recuperación de las terminaciones nerviosas pero a veces puede necesitar tratamiento adyuvante.

En un estudio prospectivo se trataron 54 pacientes con PRP y otros tantos con suero salino en pacientes tras LASIK miópico. Se observó una mejoría en las TFC pese a que no se evidenció cambios en la sensibilidad ni aspecto del plexo nervioso subbasal.

- **Tratamiento estético piel periocular:**

Se ha estudiado el efecto coadyuvante de blefaroplastias¹⁶⁵ sin que suponga una diferencia en el dolor durante el postoperatorio y con un leve descenso no estadísticamente significativo del edema postquirúrgico.

Han sido usados en su forma de coágulo como injerto tras reconstrucciones de piel palpebral, estabilizando en área del injerto a diferencia de lo que ocurre con las suturas.

Existen además numerosos estudios de los efectos sobre la piel periocular en pacientes tratados con PRP. Se estima que la activación de los fibroblastos cutáneos serían los responsables en el engrosamiento y mejora de la turgencia de la piel¹⁶⁶.

- **Agujero macular:**

Se trata de la única patología oftalmológica que no afecta a la SO descrita en la literatura, cuyos resultados se han visto beneficiados tras el uso de PRP. En un estudio multicéntrico¹⁶⁷ se trataron 110 paciente con agujero macular grado III-IV de menos de 3 años de evolución. Todos se trataron con VPP + pelado de hialoides + gas. Al grupo de tratamiento (53 pacientes) se aplicó una inyección de PRP tras el intercambio liquido –gas mientras que al grupo control (57 pacientes) no. Hubo una clara mejoría anatómica estadísticamente significativa en el grupo tratado 52 frente a 53 (98%; 95% intervalo confianza, 0.90-1.00) frente al control 47 of 57 (82%; 95% intervalo confianza, 0.70-0.91) en el grupo control (p = 0.009) aunque no hubo diferencias en la AV final.

- **Desprendimiento de retina:**

A propósito de un caso aparecido en enero del 2016 en el que se trata un desprendimiento seroso macular asociado a fosea papilar tras vitrectomía + láser peripapilar previa y que fue reintervenido con pelado de membrana limitante interna+ PRP sobre fosea+ gas. Se describe la reabsorción del líquido subretiniano con mejoría de agudeza visual¹⁶⁸.

- **Maculopatía hipotónica por ampollas filtrantes:**

Se ha utilizado concentrados de plaquetas en inyección subconjuntival como estímulo para cicatrizar ampollas avasculares o adelgazadas.

- **Reconstrucciones conjuntivales:**

En su forma de coágulo a modo de injerto o como adhesivo tisular se han utilizado en cirugías de reconstrucción conjuntival.

- **Erosiones corneales recidivantes(ECR):**

La principal causa de estas ECR son traumatismos mientras que la presentación espontánea se asocia a distrofias como la de Cogan. En su tratamiento se emplean LA, ungüentos, oclusión, pomadas hipertónicas, LC, doxiciclina y corticoides tópicos. En casos refractarios se puede optar por punciones anteriores estromales, desepitelización con pulido de la membrana basal e incluso fotoqueratectomía terapéutica (PTK). Se ha comprobado el efecto beneficioso del SA¹⁶⁹, pero no se ha encontrado referencias en Pub-Med al tratamiento con PRP.

Al igual que en las ECR, a continuación se exponen una serie de patologías se la SO que han demostrado beneficiarse de DH como el SA pero que no se encuentran referencias bibliográficas asociadas a PRP.

- **Úlcera de Mooren¹⁷⁰**
- **Queratoconjuntivitis límbica superior¹⁷¹**
- **Queratopatía neurotrófica¹⁷²**
- **Queratopatía por exposición¹⁷³**

2.2.7 EFECTOS ADVERSOS, CONTROVERSIAS Y CONTRAINDICACIONES

2.2.7.1 EFECTOS ADVERSOS

Por su carácter autólogo y su composición fisiológica, el PRP es un tratamiento biocompatible y biodegradable que no produce reacciones a cuerpo extraño. Presenta unas tasas de tolerancia altas, en las que la presencia de efectos secundarios o reacciones adversas es muy baja.

- **Transmisión infecciosa:**

Pese al carácter autólogo y para reducir el riesgos de transmisión o reactivación de enfermedades infecciosas se aplica la normativa legal relativa a las hemodonaciones en el Anexo II, punto C, del Real Decreto 1088/2005 vista en el apartado 2.2.5. En el caso de usos homólogos desde un banco de tejidos o la aplicación de trombina de origen humana homóloga o animal el riesgo de transmisión infecciosa es mayor.

- **Contaminación de los envases:**

La principal complicación que encontramos con el uso de DH, ya sea SA o PRP, es la contaminación de los frascos que lo contienen. No se ha encontrado referencias bibliográficas al respecto en PRP. En el caso del SA se ha visto que en ambiente hospitalario se produce una tasa de contaminación del 7-8%¹⁷⁴ a los 7 días de manipulación, principalmente por *S. Epidermidis*. A nivel domiciliario aumenta hasta el 30% a los 5 días de manipulación, también principalmente por *S. Epidermidis*. Estas contaminaciones suelen ser en su mayoría por gran negativos de la flora saprófita del propio paciente. Están asociadas a una incorrecta manipulación del recipiente, por lo que instruir al paciente de cómo hacerlo correctamente, disminuye las cifras de contaminación:

1. Lavado de manos
2. No contacto con extremo del dosificador con las manos ni pestañas
3. Cerrar el envase adecuadamente
4. Mantener en nevera tras su uso
5. Desechar el envase a los 7 días de abierto

Por otro lado, estos preparados tienen un pH y similar a la lágrima, y contienen inmunoglobulinas, lisozima y factores del complemento que les aportan un efecto bactericida y bacterioestático.

El uso de envases de sistema con filtros o monodosis puede ayudar a reducir la tasa de contaminación.

- **Respuesta nula o insuficiente:**

Otra circunstancia a tener en cuenta es cuando la respuesta a estos tratamientos es nula o insuficiente. Se estima que tras 4 semanas sin respuesta favorable o suficiente será necesario buscar otras alternativas terapéuticas.

Otras complicaciones halladas en la bibliografía relacionadas al tratamiento con PRP son :

- Exceso de **neovascularización corneal** en un paciente tratado con PRP¹⁷⁵ por defecto epitelial persistente con antecedentes de 8 meses de queratouveítis postterpética. El cuadro se resolvió con la retirada del PRP y añadiendo corticoides tópicos.

- **Ojo rojo e inflamación palpebral** en 2 pacientes tratados con PRGF¹⁷⁶ por patologías de la SO refractarias a otros tratamientos. Ambos casos fueron clasificados como leves y desaparecieron en pocos días.

- En el estudio sobre síndrome de SO tras LASIK¹⁷⁷ de 13 pacientes tratados con PRP, uno desarrolló **intolerancia** a las 4 semanas.

- En el estudio sobre defectos epiteliales persistentes de 18 pacientes, uno refirió molestias tipo **picor y ojo rojo leve**¹⁷⁸.

2.2.7.2 CONTRAINDICACIONES Y CONTROVERSIAS

Las contraindicaciones principales que presentan los DH en general son las derivadas de la propia extracción de sangre como estados de insuficiencia cardíaca grave que pueda desestabilizarse y enfermedades infecciosas activas transmisibles para uso homólogo. El embarazo y la lactancia no son contraindicación si la extracción no genera más complicaciones que el beneficio del propio tratamiento. En estas situaciones, otras alternativas como fármacos y cirugía pueden generar mayores riesgos siendo el PRP una buena alternativa.

3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO



La importancia y justificación de este estudio se basa en cuatro premisas:

1. La relevancia de la enfermedad a estudio (enfermedad de ojo seco).
2. El uso de técnicas válidas para su diagnóstico.
3. El estudio de tratamientos alternativos para dicha enfermedad.
4. El uso de técnicas válidas para la monitorización del tratamiento a estudio.

1. LA IMPORTANCIA DE LA ENFERMEDAD A ESTUDIO (EOS)

La enfermedad del ojo seco supone la principal causa de demanda de atención del paciente a los especialistas en oftalmología. Esta gran demanda se debe a la elevada prevalencia de la enfermedad, que puede oscilar entre el 5-35% según el estudio. Pero tan importante como su elevada prevalencia es la evolución en los últimos años de su incidencia. Ésta aumentó un 57,4%, en el período entre 1991 y 1998 según los datos del Medicare/Medicaid de EE.UU.

Una de las razones que justifican la elevada prevalencia y el aumento de su incidencia son las múltiples causas que la pueden provocar. Esta multifactorialidad es una de las características principales de la enfermedad. Una gran cantidad de etiologías que pueden provocar o desencadenar la enfermedad de ojo seco no son evitables por ser intrínsecas al individuo, como edad avanzada o el sexo femenino, enfermedades hormonales o del tejido conectivo. Por su parte, las que sí pueden ser controladas forman parte de una tendencia en aumento en nuestra sociedad y que podría explicar el incremento de la incidencia: los cambios dietéticos, el aumento de procedimientos quirúrgicos de la superficie ocular y el incremento del consumo de fármacos tópicos y sistémicos, entre otros. Estos factores, sumados al uso imparable de sistemas de visualización mediante pantallas, el incremento del empleo de lentes de contacto y los ambientes de trabajo que no favorecen la adecuada hidratación de la superficie ocular, están contribuyendo a que individuos cada vez más jóvenes presenten síntomas de ojo seco.

Se trata además de una enfermedad con consecuencias importantes para la calidad de vida del paciente, no sólo por la repercusión en la agudeza visual en los casos graves sino por los síntomas que genera y por las limitaciones en el desempeño de actividades diarias.

Las repercusiones de la enfermedad de ojo seco en la calidad de vida de los pacientes ha sido objeto de múltiples estudios. En ellos se aprecia como los pacientes ven limitada la realización de tareas básicas como la lectura, la conducción o el uso de pantallas de visualización. Esta merma en la calidad de vida del paciente es mayor cuanto mayor es el grado de ojo seco. Los pacientes con un grado severo de esta enfermedad equiparan su calidad de vida a la de pacientes con diálisis o con los que han padecido angina de pecho.

Otro aspecto a tener en cuenta son las repercusiones económicas directas sobre la economía del paciente y de los sistemas de salud de cada país, así como de los costes indirectos derivados de la pérdida de productividad que se asocia a esta enfermedad y que dada su elevada prevalencia, son elevados.

2. EL USO DE TÉCNICAS VÁLIDAS PARA SU DIAGNÓSTICO

El carácter multifactorial de esta enfermedad así como la variabilidad de la clínica, hacen de ésta una enfermedad difícil de diagnosticar, sobre todo en fases iniciales. La ausencia de una prueba de oro y el hecho de que los test diagnósticos de que disponemos, aunque numerosos, no presenten una buena correlación entre ellos, y con la sintomatología referida por el paciente, complica el diagnóstico.

Disponemos de cuestionarios de síntomas validados que no siempre se correlacionan de manera adecuada con los test de signos oculares que podemos utilizar. Éstos miden aspectos aislados de los diversos mecanismos etiopatogénicos y sus repercusiones, pero no existe ningún método diagnóstico integral. Además, existen dudas sobre su repetibilidad, así como una falta de consenso sobre los valores de corte de algunas de estas pruebas que condicionan su sensibilidad y especificidad.

Recientes estudios han mostrado que hasta un 42% de los pacientes con signos de EOS estaban asintomáticos. Sin tratamiento en fases iniciales, la tendencia a la cronificación se acelera, resultando en mayor afectación de la función visual y calidad de vida. La necesidad de desarrollar test diagnósticos validados y repetibles, independientes de la causa de EOS se hace más necesaria tanto para la detección como para la monitorización de tratamientos.

La búsqueda de pruebas diagnósticas que orienten a su diagnóstico sigue suponiendo una gran parte de la investigación que rodea a esta enfermedad. El incremento de bibliografía a este respecto ha aumentado en los últimos años con la aparición de un sistema de medición portátil de la osmolaridad de la película lagrimal. Esta osmolaridad se ha visto que se encuentra aumentada en los pacientes con enfermedad de ojo seco y que aumenta con su severidad. La cuantificación de la osmolaridad lagrimal empleada de manera aislada parece ser el mejor marcador diagnóstico de EOS. Además nos puede orientar sobre el nivel de severidad y en la respuesta a tratamientos.

Para este estudio se han empleado algunos de los test diagnósticos más habituales en la práctica clínica, junto al registro de la osmolaridad lagrimal, para tener una visión más integral de los procesos que concurren en la superficie ocular de los pacientes a estudio.

3. ESTUDIO DE TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS PARA EOS

Actualmente la base del tratamiento de la enfermedad de ojo seco son las lágrimas artificiales. Dentro de éstos, los compuestos de ácido hialurónico suponen con diferencia la mayoría de los tratamientos comercializados y prescritos en los pacientes con esta enfermedad.

Pese a que las lágrimas de ácido hialurónico han demostrado una mejoría de la sintomatología y de alguno de los parámetros medibles de esta enfermedad, ningún estudio lo suficientemente potente ha demostrado la superioridad de un componente sobre el resto. Las lágrimas artificiales basadas en ácido hialurónico parecen aportar una buena hidratación de los epitelios de la superficie ocular, aliviando los síntomas y permitiendo la regeneración de éstos. Como su nombre indica, son lágrimas artificiales porque intentan simular a las naturales pese a que su composición es muy pobre comparadas con éstas últimas. No aportan elementos activos en la

regeneración tisular, más allá de favorecer la hidratación y la adherencia epitelial sobre superficies dañadas, así como reducir la fricción durante el parpadeo.

Estos efectos pueden ser suficientes en una fase inicial de la enfermedad, en la que los mecanismos de compensación son capaces de mantener un equilibrio sobre los procesos que contribuyen al mantenimiento de la superficie ocular. En fases más graves, el sistema de la superficie ocular se encuentra dañado y los mecanismos de compensación no consiguen recuperarlo, empeorando a su vez la inestabilidad lagrimal. En esta fase, no parece que la aportación de las lágrimas artificiales sea suficiente. Se hace necesario aportar tratamientos que actúen sobre diferentes fenómenos fisiopatológicos que coinciden sobre la superficie ocular de los pacientes con EOS. El plasma rico en plaquetas aporta, además de hidratación y reducción de la fricción palpebral, una serie de factores de crecimiento que estimulan la regeneración tisular tanto a nivel de los epitelios corneal y conjuntival como de las células caliciformes.

La presunción del mayor beneficio del PRP sobre los colirios de AH se basa en que presenta una composición más similar respecto a la lágrima natural, sumado el efecto regenerativo de su concentración de factores de crecimiento.

4. EL USO DE TÉCNICAS VÁLIDAS PARA LA MONITORIZACIÓN DEL TRATAMIENTO A ESTUDIO

De la misma manera que necesitamos técnicas diagnósticas validadas y reproducibles para el diagnóstico de la EOS, necesitamos que estas técnicas nos ayuden en la monitorización del tratamiento a estudio. La combinación de diversas técnicas, como el cuestionarios de síntoma OSDI, el test de Schirmer, la citología de impresión conjuntival, tinciones tisulares o la medición de la osmolaridad, nos ayudan a mejorar la comprensión de los parámetros que somos capaces de valorar y que reflejan en parte los procesos que acontecen en la superficie ocular del paciente a estudio. La inclusión de la osmolaridad de la película lagrimal, parámetro no utilizado todavía para la valoración de esta terapia, mejora la monitorización del tratamiento de la EOS.



4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



HIPÓTESIS:

En la actualidad el principal tratamiento de la enfermedad de ojo seco sigue siendo los colirios conocidos erróneamente como lágrimas artificiales. Llamadas así en un intento de evocar lo que intentan suplir, la película lagrimal, y cuya alteración es la base de la enfermedad de ojo seco y sus consecuencias. Pero tanto su composición como propiedades distan mucho de la lágrima natural y esto se refleja en su limitado efecto beneficioso, sobre todo en fases moderadas o graves de la enfermedad.

La composición de los colirios de PRP presentan una composición similar a la de la película lagrimal por su origen común. Además han demostrado en ensayos clínicos su efecto beneficioso sobre la regeneración del epitelio corneal en úlceras corneales. Por su composición y sus propiedades regenerativas hipotetizamos con un mayor efecto en la *regeneración de los epitelios* de la superficie ocular tanto corneal, conjuntival y de las células caliciformes, así como sobre los procesos fisiopatológicos que se dan en esta enfermedad, como son la hiperosmolaridad y la inflamación. Actualmente se considera a la hiperosmolaridad como la principal causa de daño epitelial en la enfermedad del ojo seco.

Según nuestra hipótesis, el colirio de PRP comparado frente al colirio de hialuronato sódico debería tener un efecto superior reduciendo la hiperosmolaridad lagrimal, favoreciendo una mayor regeneración sobre los defectos epiteliales, la clínica que generan, en pacientes con enfermedad de ojo seco hiposecretor.

OBJETIVOS:

OBJETIVO GLOBAL:

Comparar el efecto del colirio plasma enriquecido con plaquetas (**PRP**) frente al colirio de hialuronato de sodio (**AH**) en pacientes con ojo seco hiposecretor. Para ello se mediarán una serie de parámetros que se describen en los objetivos concretos.

OBJETIVOS CONCRETOS:

1. Comparar el efecto PRP vs AH en los **síntomas** referidos por el paciente con EOS y medido mediante cuestionario validado **OSDI**.
2. Comparar el efecto PRP vs AH en la **agudeza visual** del paciente con EOS, valorando la mejor agudeza visual corregida (**BCVA**)
3. Comparar el efecto PRP vs AH en la hiperemia conjuntival (**HPR**) mediante escalas de hiperemia bulbar validadas (Brien Holden Vision Institute(**IER**) Scales).
4. Comparar el efecto PRP vs AH sobre la **osmolaridad (OSM)** de la película lagrimal mediante el osmolarímetro Tear LAb.
5. Comparar el efecto PRP vs AH sobre la **producción lagrimal** mediante el test de Schirmer (**SCHT**).
6. Comparar el efecto PRP vs AH sobre la **estabilidad lagrimal**, mediante el tiempo de ruptura lagrimal con fluoresceína (**FTBUT**).
7. Comparar el efecto PRP vs AH en los **defectos epiteliales conjuntivales** del paciente con EOS mediante tinción con fluoresceína (**TFCn**) y valoración con escala Oxford.
8. Comparar el efecto PRP vs AH en los **defectos epiteliales corneales** del paciente con EOS mediante tinción con fluoresceína (**TFCo**) y valoración con escala Oxford.
9. Comparar el efecto PRP vs AH en las **células caliciformes** del epitelio conjuntival mediante citología de impresión conjuntival (**CIC**).
10. Buscar la correlación entre las diferentes variables pre y postratamiento.
11. Buscar la correlación entre las diferentes variables diagnósticas.
12. Valorar la seguridad del PRP sobre la superficie ocular

5. MATERIAL Y MÉTODO



5.1 MATERIAL

5.1.1 POBLACIÓN DEL ESTUDIO

La población a estudio la componen los pacientes valorados en la Sección de córnea y superficie ocular del H.U. San Juan de Alicante por ojo seco hiposecretor. Estos pacientes son remitidos principalmente desde tres puntos de reclutamiento : Servicio de oftalmología del Centro de especialidades Santísima Faz, consultas externas del servicio de oftalmología del Hospital Universitario San Juan de Alicante y desde el servicio de reumatología del Hospital Universitario San Juan de Alicante.

Inicialmente se incluyeron en el estudio un total de 90 pacientes. Se excluyeron al final del estudio 7 pacientes por diferentes motivos, principalmente por falta de seguimiento de las visitas y aplicación del tratamiento, quedando al final 44 en grupo PRP y 39 en grupo AH. El período de inclusión fue desde el 1 de febrero de 2013 hasta noviembre de 2014.

En la tabla 20 se describen algunas de las características epidemiológicas de los pacientes incluidos, como edad, distribución por sexos, así como algunos de los factores de riesgo reconocidos para EOS según su nivel de evidencia. Destaca la elevada proporción de mujeres incluidas frente a los hombres. Esto es debido al tipo de paciente con EOS incluido en este estudio, que se explica a continuación.

	TOTAL	Grupo PRP	Grupo AH
EDAD MEDIA (DE)	64,7 (11.2)	62.1 (11.2)	66.2 (11.0)
	Nº Pacientes (%)		
<50 años	8 (9,6%)		
51-70 años	57 (68,7%)		
71-90 años	18 (21,7%)		

	Nº Pacientes (%)	Grupo PRP (%)	Grupo AH (%)	
SEXO H/M	3/80	1/43	2/37	
LA previas	72 (86%)	39 (88%)	33 (84%)	
FACTORES DE RIESGO:				
A {	S.SJÖGREN 1º	4	3	1
	S.SJÖGREN 2º	26	15	11
	THSE	3	2	1
	Rd	10	2	0
B {	ADT	10	6	4
	DM	3	2	1
	Qt	10	5	5

Tabla 20. Características epidemiológicas de la población: **EDAD, SEXO, FACTORES DE RIESGO.** Según nivel de evidencia: A ó B (tabla 5). THSE: tratamiento hormonal sustitutivo Rd: radioterapia Qt: quimioterapia DM: diabetes mellitus ADT: antidepresivos tricíclicos. DE: Desviación estándar. **LA previas:** pacientes con tratamiento mediante lágrimas artificiales antes del estudio

Como se comentó en la introducción, uno de los retos que presenta la EOS es su heterogeneidad. Incluye una variedad de etiologías que pueden tener, sobre todo al inicio, un comportamiento diferente. Estas diferencias se verán reflejadas no solo en la clínica y los resultados de las diferentes pruebas diagnósticas sino también en el tratamiento.

Por este motivo, definir el tipo de EOS que incluimos en este estudio es una parte muy importante para comprender mejor los resultados. Se **incluyeron pacientes con ojo seco hiposecretor tanto Sjögren como no-Sjögren** y se intentó excluir aquellos cuya principal causa fisiopatológica de EOS fuese evaporativa. Como se verá en los criterios de aceptación, se excluyeron los pacientes con SCHAT > 5,5mm y aquellos con FTBUT < 10 segundos. Este fue uno de los motivos por el que el período de reclutamiento fue más largo de lo esperado inicialmente.

Como se aprecia en la tabla 20, el 80% de los pacientes incluidos presentaban etiologías que son causa principalmente de ojo seco hiposecretor. Pese a este intento de acotar los procesos fisiopatológicos que pueden afectar a la SO con los criterios de aceptación, la coexistencia de múltiples causas suele ser común. Es importante destacar que el 86% de los pacientes ya habían recibido uno o varios tratamientos con lágrimas artificiales, previo al estudio.

5.1.1.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Edad comprendida entre los 18-90 años
- Comprensión y firma del consentimiento informado
- Test de Schirmer ≤ 5.5 mm*
- Presencia de síntomas de ojo seco valorado con cuestionario OSDI ≥ 13
- Presencia de tinción corneal o conjuntival ≥ 1 valorado mediante escala Oxford

* Dada la dificultad en establecer un límite de 5,5 en la lectura del test de Schirmer, se aceptaron aquellos pacientes que no llegasen a 6. Para la tabla de recogida de datos, los pacientes entre 5 y menor de 6 mm se registraron con una puntuación 6.

5.1.1.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Cirugía refractiva
- Cirugías de superficie ocular
- Cirugía de cataratas en los 5 años previos
- Cirugía extra/intracapsular de cataratas
- Patología de superficie ocular activa diferente de EOS
- Alteraciones palpebrales que interfieran con el correcto parpadeo
- FTBUT <10 segundos
- Tratamiento tópico ocular distinto de lubricantes/humectantes
- Antecedentes de enfermedad mucocutánea con repercusión en la superficie ocular
- Antecedente de causticación de la superficie ocular

- Portadores de lentes de contacto
- Antecedentes de queratitis herpética
- Pacientes que no comprendan la naturaleza del estudio o no vayan a seguir el programa de visitas y tratamiento según protocolo
- Presentar alguna contraindicación absoluta para ser donante de PRP

5.1.1.3 CONSENTIMIENTO INFORMADO

Los pacientes que cumplieron los criterios de aceptación firmaron el consentimiento informado (Anexo 1), previa explicación y resolución de dudas si lo necesitaban.

5.1.2 MATERIAL EMPLEADO PARA LA EVALUACIÓN DIGNÓSTICA

A continuación se enumera el material utilizado para la valoración diagnóstica, procesado y aplicación de los colirios, con una breve descripción.

- A. **Cuestionario de síntomas OSDI** (Anexo 2). Se pedía al paciente que rellenase el cuestionario según las instrucciones. Se hacía especial atención a que limitase las respuestas a la última semana. Se pedía que no rellenase los cuadros de puntuación. Para la cuantificación final se usó una hoja Excel, siguiendo la fórmula:

$$\text{OSDI} = [(\Sigma \text{Puntuaciones preguntas respondidas}) \times 25] / [\text{n}^\circ \text{preguntas respondidas}]$$

- B. **Test de agudeza visual.** Se utilizó el proyector de optotipos ACP-7 Topcon®.



- C. **Escala de hiperemia Brien Holden Vision Institute Scales ó CRU.** Escala fotográfica con cuatro grados de hiperemia para comparar con el paciente.



- D. **Lámpara hendidura SL-3G de Topcon®.** Dispone de fuente de luz azul cobalto para estimular la fluoresceína.



- E. **Tira Schirmer-Plus®.** Tira de papel filtro Whatman estéril de 5 x 35 x 0,20mm con otros 8mm hasta la línea de doblado, con bordes redondeados y calibrado en milímetros.



- F. **Tear Lab®** (Ocusense, TearLab Corp, San Diego, CA, USA). Osmolarímetro portátil de impedancia como método de valoración de la osmolaridad lagrimal.



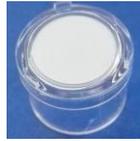
- G. **Tiras Fluo-Plus®** . Tira de papel estéril de 45x5mm. Impregnada en una sección de 15mm con fluoresceína en uno de sus extremos.



- H. **Papel filtro Kodak Wratten 12.** Filtro barrera amarillo adaptado a soporte para objetivo de cámara y adaptable a la lámpara de hendidura empleada en el estudio. Su función es bloquear parte del espectro de la luz cobalto y permitir mejor visualización de la emisión de la fluoresceína en la exploración con lámpara de hendidura.



- I. **Membranas biopore (Millipore® PICM01250)**. Membranas circulares estériles de 0,4µm de poro, empleadas para la citología de impresión.



- J. **VISMED®**. Colirio de hialuronato sódico (HS) 0,18% en formato multidosis de 10 ml, usado para tratamiento del grupo control (HS). Estéril sin conservantes, contiene además: Cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato disódico, citrato de sodio, cloruro de magnesio, cloruro de calcio y agua para inyecciones. Presenta una osmolaridad de **159** medido con The Advanced™ Micro Osmometer model 3300. Su peso molecular es de 1,2 MDa.



- K. **RegenKit® Ophthalmology PRP™ Preparation**. Kit de “manipulación cerrada” para la preparación de PRP. Se empleó para el procesamiento de la sangre extraída a los pacientes del grupo PRP. La extracción de sangre y la preparación del colirio de PRP se llevó a cabo en los laboratorios MABAD, independientes del Hospital Universitario de San Juan de Alicante.



- L. **Estación meteorológica inalámbrica AURIOL®**. Sensor para interior y exterior que permite conocer la temperatura y el grado de humedad.



5.2 MÉTODO

5.2.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio unicéntrico, aleatorizado, prospectivo de grupos paralelos, y simple ciego:

Unicéntrico: H.U. San de Alicante

Aleatorizado: La aleatorización se realizó en el laboratorio Mabad en bloques de cuatro, mediante una lista de números aleatorios generada por ordenador. Con objeto de evitar un desequilibrio en el número de sujetos asignados a cada grupo de tratamiento, tal y como podría ocurrir con un sistema simple de aleatorización, la aleatorización se realizó por bloques, que asegura una distribución mucho más homogénea de los pacientes. Los pacientes eran aleatorizados de forma estrictamente secuencial una vez que se determinaba que eran elegibles para la inclusión en el estudio. Si un paciente era aleatorizado de forma incorrecta el paciente era retirado en la siguiente visita del estudio. Si un paciente se retira del ensayo no se permitirá al paciente su re-inclusión en el mismo. En caso de fracaso terapéutico observado en la visita 3, se proporciona al paciente el tratamiento necesario para su patología.

Prospectivo: Los pacientes son incluidos en el estudio tras cumplir los criterios de aceptación y se incluyen, tras la aleatorización, en uno de los dos grupos. Se asigna tratamiento y se siguen controles según protocolo a los 14 y 28 días.

Simple ciego: Tanto la suspensión de PRP autólogo como las lágrimas artificiales se enmascaran en viales de plástico no marcados con etiquetas distintivas del contenido. El marcado se realiza con etiquetas con nombre y apellidos del paciente. Debido a que ambos viales no son totalmente iguales y que el proceso de obtención del PRP difiere de la administración simple con colirio de AH, no se pudo asegurar el estudio como doble ciego. Por lo tanto el estudio es simple ciego ya que el único explorador común a todos los pacientes y todas las exploraciones no era conocedor del grupo asignado. Los pacientes eran previamente asignados desde el laboratorio MABAD, donde se realizaba la aleatorización.

5.2.2 PROTOCOLO DE EXPLORACIÓN

Los pacientes son reclutados en la consulta de córnea y superficie ocular del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario de San Juan de Alicante. Tras cumplir los criterios de inclusión y no cumplir los de exclusión, se propone su participación en el estudio. Se explica el consentimiento informado y lo firman.

5.2.2.1 ESQUEMA DEL ESTUDIO :

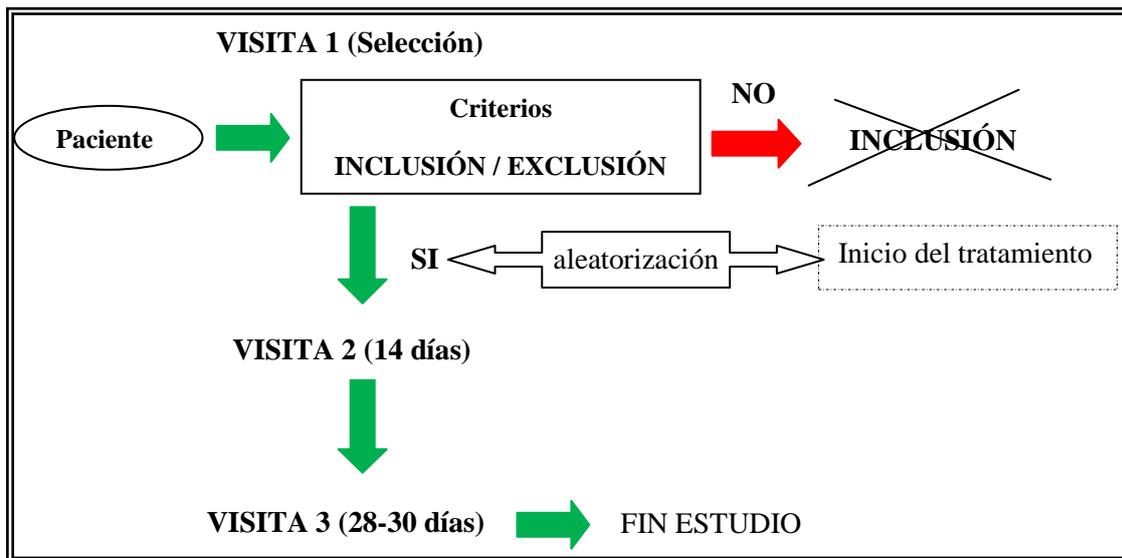


Figura 26. Esquema de flujo del estudio

5.2.2.2 CRONOGRAMA DEL ESTUDIO :

	Visita 1 ¹ (inclusión)	Visita 2 (14 ±2 días)	Visita 3 (28 ±2días)
Criterios de selección	X		
Consentimiento informado	X		
Aleatorización	X		
Extracción sangre grupo PRP	X		
OSDI	X	X	X
Agudeza Visual	X	X	X
Lámpara Hendidura(HPR)	X	X	X
TearLab	X	X	X
Test Schirmer	X	X	X
FTBUT	X	X	X
CIC	X		X
TFC	X	X	X
Acontecimientos adversos		X	X
Entrega producto colirio PRP/HA	X		
Cumplimiento tratamiento		X	X
Cambio de tratamiento			X ²

Figura 27. Cronograma del estudio. ¹En la primera visita se incluye la realizada a los laboratorios MBAD.

² Fracaso tratamiento: No mejoría en ningún parámetro de la exploración o empeoramiento del OSDI.

5.2.2.3 PERÍODO DE LAVADO:

Previa entrada en el estudio, los pacientes deben realizar un periodo de lavado de al menos 24 horas en caso de tratamientos con lágrimas artificiales o cualquier otro tratamiento tópico.

5.2.2.4 ESQUEMA DE EXPLORACIÓN:

Los pacientes eran explorados en la misma sala de exploraciones, con unas condiciones controladas de temperatura (23°C) y humedad (60 %). Su medición se realizó mediante una estación meteorológica inalámbrica al comienzo de las exploraciones.

También se controló que no hubiese corrientes de aire durante la exploración, manteniendo cerradas puertas, ventanas y salidas de aire.

Todas las exploraciones fueron realizadas por un único oftalmólogo (investigador principal).

Al inicio de cada período de exploración, se calibraba el Tear Lab mediante las tarjetas indicadas y se realizaba comprobación mediante soluciones control cada 15 días de uso del aparato.

- **PRIMERA VISITA (D1):**

En primer lugar se realizaba una medición de la osmolaridad lagrimal mediante el Tear Lab. Se tomaba una muestra del tercio externo del menisco lagrimal del párpado inferior, evitando la menor estimulación del lagrimeo. Los pacientes, al ser citados para la visita, habían sido instruidos para no utilizar tratamientos tópicos 24 horas antes, así como no acudir con maquillaje ni cremas periorbitales.

La medición se realizaba primero en el ojo derecho y después en el izquierdo. Se realizaba una medición para cada ojo. En caso de una diferencia entre ambos ojos mayor de 10 mOsm/L, se volvían a repetir las mediciones para cada ojo y se calculaba la media. Se tomó 10 como valor corte para diferencias interojo, basado en la variabilidad interojo en pacientes moderados en el estudio de Lemp M.A.⁵⁵.

En segundo paso se valoraba la mejor agudeza visual corregida (BCVA) con sus gafas o en caso de corrección insuficiente con nueva corrección para valorar su mejor agudeza visual corregida. Primero se valoraba el ojo derecho y a continuación el izquierdo. Se utilizó la escala decimal multiplicada por 10 como forma de registro para facilitar la inclusión y análisis de datos, de manera que si un paciente alcanzaba 0,1 en la escala gráfica, se registraba en la hoja de recogida de datos como 1 y si alcanzaba 1.0 se registraba como 10.

En tercer paso se procedía a la exploración macroscópica de la cara y en particular de la zona periocular en busca de alteraciones cutáneas y motilidad palpebral. Esta exploración se seguía con la exploración con lámpara de hendidura y mínima potencia lumínica. Además de detectar alteraciones que pudiesen ser causa de exclusión, se valoraba el grado de hiperemia comparándola con la escala **IER** del Brien Holden Vision Institute (Fig.14). Esta escala tiene una puntuación de 0-1-2-3 pero en el cuaderno de recogida de datos se anotó como 1, 2, 3 y 4.

El cuarto paso era la medición del FTBUT. Se instilaba una gota de suero estéril para inyecciones sobre la tira de Fluo-Plus y se aplicaba en la conjuntiva bulbar inferior. Se pedía que parpadeara libremente durante 10 segundos y se exploraba con la luz azul cobalto y con el filtro amarillo. La intensidad de la luz era constante y con la apertura máxima del haz colocado enfrente sin movilizar. Se contabilizaba el tiempo, mediante cronómetro, desde el último parpadeo efectivo hasta la aparición de la primera solución de continuidad de la capa lipídica teñida con fluoresceína.

Se registró la media de tres mediciones por ojo. Debido a que no se pudo confirmar mediante esta técnica que la cantidad de solución aplicada fuese inferior a 25µL así como la concentración de FC, se tomó como valor de corte para un FTBUT patológico: <10mm. Este valor se basa en el estudio de *Vitali C*⁸⁶.

El quinto paso consistía en la valoración del daño epitelial revelado por la tinción con fluoresceína y valorado con un filtro Kodak wratten 12. Para ello se aprovecha la tinción inmediata tras la valoración del FTBUT. Se valoraba esta tinción a nivel corneal y a nivel conjuntival temporal y nasal. Se comparaba con la escala Oxford y se daba la numeración según similitud con ella de 0-5. La tinción corneal se anotaba de manera aislada como TCo. Las tinciones conjuntival nasal y temporal se valoraban independientemente y se anotaba la media de ambas. De esta manera se obtuvo un valor para córnea (TCo) y otro para conjuntiva (TCn).

A continuación el paciente esperaba en una sala adyacente durante 20 minutos, mientras contestaba al cuestionario OSDI. Previamente se le había explicado al paciente cómo contestar al test, resaltando que las preguntas hacen referencia a síntomas y situaciones ocurridas la semana previa. Si tenían dudas podían consultarlas.

El paciente volvía a la sala de exploración para continuar con la exploración.

El sexto paso era la medición del test de Schirmer mediante una tira de Schirmer. Ésta se doblaba por la línea indicada y se colocaba atrapada entre conjuntiva bulbar y párpado inferior de ambos ojos, quedando situada entre tercio externo y medio del párpado inferior. Se dejaba al paciente con los ojos cerrados por 5 minutos y transcurridos éstos se medía los milímetros alcanzados por la línea de impregnación de la lágrima en la tira de papel. Se daba una puntuación de 1 al que no alcanzaba la línea de 1mm, 2 al que no alcanzaba la línea de 2mm y así sucesivamente hasta la puntuación 6 que eran aquellos que no alcanzaban la línea de los 6 mm. Aquellos pacientes que tenían una puntuación ≥ 6 mm quedaban excluidos en la primera visita.

El último paso era la realización de la citología de impresión. Para ello se instilaba una gota de anestésico de lidocaína al 5% estéril sin conservantes. Se retiraban los salientes de plástico de la membrana biopore (Millipore® PICM01250) con unas tijeras para no erosionar la conjuntiva. Se aplicaba sobre la conjuntiva temporal inferior lejos de la zona empleada para la tira de Schirmer (zona interpalpebral) para no coincidir con la zona de colocación de la tiras de Schirmer. Para ello se pedía al paciente que mirase hacia nasal-superior. La citología se realizó sólo del ojo con las tinciones conjuntivales de dicha zona con mayor puntuación. La CIC de la tercera visita se realizaba en el mismo lugar que se hizo en la primera visita.

Las membranas de biopore se remitían al servicio de anatomía patológica para su procesado según este protocolo:

1. Fijación con etanol 96%
2. Agua destilada 5 minutos
3. Ácido periódico 1% (carlo erba) por 5 minutos
4. Lavado con agua destilada
5. Reactivo de Schiff (carlo erba, 1:3 en agua destilada) por 2 minutos
6. Lavado con agua destilada por 5 min
7. Hematoxilina por 2 minutos
8. Agua amoniacal al 1 % por 2 minutos
9. Deshidratación con concentraciones crecientes de etanol:

70% por 2 minutos y 96% por 1 minuto

10. Aclarado con xilol por 5 minutos (3 veces)
11. Montar sobre portaobjetos de cristal con Entellan

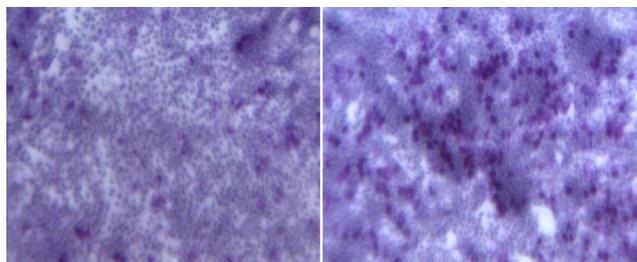


Fig. 28. Ejemplo de la citología del paciente N° 13 en el D1(izquierda) y D3 (derecha)

Finalizada la primera visita, el paciente que cumple con los criterios de inclusión y no cumple ninguno de los de exclusión es derivado al laboratorio Mabad. Este laboratorio es independiente del hospital y está especializado en la realización de plasmas enriquecidos con plaquetas. Los pacientes acuden con cita el mismo día de la primera visita por la tarde. Una vez allí se procede a la aleatorización e inclusión en alguno de los dos grupos. En caso ser incluido en el grupo de AH (control) se le proporcionan cuatro frascos de colirio de hialuronato sódico 0,18% etiquetados con los datos incluidos en el protocolo de preparación que se describirá a continuación. En el caso de ser incluido en el grupo de PRP (estudio) se procederá a la extracción y procesado de la sangre para elaborar el colirio de PRP según el siguiente protocolo:

PROTOCOLO OBTENCIÓN Y PROCESADO PRP

Se toma una muestra de sangre a los pacientes del grupo PRP que permanecerán sentados al menos 5 minutos antes de la toma de la muestra. Se aplica un torniquete para realizar la extracción, pero no durante más de 2 minutos, y se retirará inmediatamente después de la toma de la muestra. La cantidad de sangre extraída será de aproximadamente 40 ml. El procesado de la sangre se realiza siguiendo las instrucciones de uso del kit de preparación RegenKit® Ophthalmology PRP™ Preparation (Anexo 3). Una vez llenados los tubos de sangre se invierten repetidas veces con cuidado. Se equilibra la centrifugadora (LABOFUGE 400) rellenando el contrapeso y se aplica una fuerza de centrifugación de 1500 g durante 5 minutos.

Se procede a inclinar los tubos para resuspender el sedimento celular en el sobrenadante para obtener 4,5 ml de PRP por tubo. Bajo campana de flujo laminar (Nüve LN 120) se procede a transvasar el suero autólogo con el concentrado de plaquetas a los botes dispensadores de colirio.

Todas las muestras biológicas son etiquetadas con los datos del paciente: iniciales, número de paciente (número de aleatorización), fecha de visita y hora de la toma de muestra.

El procesado de las muestras se realiza en condiciones estériles en campana de flujo laminar en el laboratorio especializado. Las muestras sobrantes se desechan siguiendo los procedimientos normalizados de trabajo de laboratorio y la normativa de residuos sanitarios.

Al paciente se le proporciona un medio de transporte para mantener cadena de frío hasta llegar a casa. Mantendrá el frasco que use esa semana en la puerta de la nevera (4°C) y el resto en

el congelador. Cada semana continuará el tratamiento con un frasco nuevo que sacará del congelador y mantendrá en la puerta de la nevera.

Se instruye al paciente en la correcta manipulación y aplicación del colirio. El paciente debe aplicar al colirio cada 3 horas desde las 8:00am hasta las 23:00pm, estimando un número de aplicaciones de 6 veces al día.

De esta manera, un grupo recibía 4 botes de colirio de hialuronato sódico y el otro 4 botes de colirio PRP. La composición de ambos grupos es totalmente diferente destacando una característica común que tiene relevancia en este estudio: la osmolaridad de ambos colirios. El colirio de PRP presentaba una osmolaridad de **316,23 \pm 6,31 mOsm**, medido con el osmolarímetro The Advanced™ Micro Osmometer 3300, mientras que con el Tear Lab® marcaba por debajo de rango, es decir, menor de 275mOsm/L. Por su parte, el colirio de hialuronato sódico presentaba una osmolaridad de **159 mOsm** medido con el osmolarímetro The Advanced™ Micro Osmometer 3300, mientras que con el Tear Lab® no era posible su medición ya que no registra osmolaridades de fluidos viscosos. La osmolaridad, medida con el Tear Lab, del PRP por debajo de rango marcada en todos y cada uno de las muestras se presume sea un error de medición por la densidad del propio PRP. En la tabla 21 se muestran las características de las muestras de PRP.

OSM(μ OSM/ml)	% Plq ($10^3/\mu$ l)	Plq (10^9) total	Recuento %	↑Concentración
316,23 \pm 6,31	536,53 \pm 202,2	19,54 \pm 7,43	65,69 \pm 14,81	x2,88 \pm 0,69

Tabla 21. Datos de media y desviación estándar de la osmolaridad, (%Pql) porcentaje de plaquetas por microlitro, cantidad de plaquetas total de los recipientes, porcentaje de recuento plaquetario así como el aumento de concentración plaquetaria de la muestra, tras el procedimiento de obtención de PRP.

- **SEGUNDA VISITA (D2) (14 \pm 2 días):**

En esta visita se repiten las mismas exploraciones que en la visita 1, a excepción de la citología. Además se preguntará por la aparición de acontecimientos adversos durante el uso del colirio asignado. La aparición de estos acontecimientos quedan reflejados en el cuaderno de recogida de datos. Se preguntará por el correcto seguimiento de la aplicación del tratamiento. En caso de incumplimiento en más del 30% (\leq 4 aplicaciones/día) de las aplicaciones estimadas al día se excluirá al paciente del estudio.

- **TERCERA VISITA (D3) (28 \pm 2 días):**

En esta visita se repiten las mismas exploraciones que en la visita 1. Además se preguntará por la aparición de acontecimientos adversos durante el uso del colirio asignado. La aparición de estos acontecimientos quedan reflejados en el cuaderno de recogida de datos. Se preguntará por el correcto seguimiento de la aplicación del tratamiento. En caso de incumplimiento en más del 30% (\leq 4 aplicaciones/día) de las aplicaciones estimadas al día se excluirá al paciente del estudio. En los casos de fracaso de tratamiento (no mejoría en ningún parámetro de la exploración o empeoramiento del OSDI) se proporcionará al paciente el tratamiento necesario fuera del estudio.

5.2.2.5 ACONTECIMIENTOS ADVERSOS:

A. La definición de acontecimientos adversos se define como(AA):

Un acontecimiento adverso es el desarrollo de una condición médica no deseada o el deterioro de una condición médica preexistente, después o durante la exposición a un *producto farmacéutico*, independientemente de que se considere que tenga o no una relación causal con el producto.

Una condición médica no deseada puede manifestarse a través de síntomas (por ej. náuseas, dolor torácico), signos (por ej. taquicardia, hepatomegalia) o resultados anormales de una investigación (por ej. hallazgos de laboratorio, electrocardiograma).

En ensayos clínicos, un acontecimiento adverso puede implicar una condición médica no deseada que ocurra en cualquier momento, incluyendo los periodos de lavado, incluso si no se ha administrado el tratamiento de estudio.

B. Definición de acontecimiento adverso grave (AAG)

Un acontecimiento adverso grave (AAG), es aquel que ocurre durante cualquier fase del estudio (cribado, tratamiento, lavado, seguimiento), a cualquier dosis del producto en investigación, sea comparativo o placebo y que cumple uno o más de los siguientes criterios:

- provoca la muerte
- amenaza la vida de forma inmediata
- requiere o prolonga la hospitalización
- resulta en discapacidad persistente o significativa o incapacidad
- es una anomalía congénita o un defecto de nacimiento
- es un acontecimiento médico importante que puede poner en peligro la vida del paciente o puede requerir intervención médica para prevenir una de las condiciones anteriores

El investigador determina la causalidad del acontecimiento adverso grave (es decir, la relación con el tratamiento del estudio) completando el cuaderno de recogida de datos al contestar a la pregunta “¿Considera que existe una posibilidad razonable de que el acontecimiento haya sido causado por el producto en investigación?” respondiendo “Sí” o “No”.

C. El grado de intensidad del acontecimiento adverso se describirá como:

- 1= Leve: presencia de signos y síntomas pero fácilmente tolerados
- 2= Moderado: cuando presenta molestias suficientes para interferir con las actividades normales del paciente
- 3= Severo: incapacitante, si incapacita para realizar las actividades normales del paciente

5.2.3 CREACIÓN DE LA BASE DE DATOS

5.2.3.1 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Las variables utilizadas han sido operacionalizadas para facilitar su comprensión y análisis de la siguiente manera:

OPERACIONALIZACIÓN			
VARIABLE	TIPO VARIABLE	ESCALA	DESCRIPCIÓN
EDAD	Cuantitativa Discreta	18-90	Edad en años en momento de inclusión
SEXO	Cualitativa Dicotómica	H---Hombre M-----Mujer	Sexo biológico
OSDI	Cuantitativa Discreta	0-100	Puntuación cuestionario
AV	Cuantitativa Discreta	0-10	Valoración decimal según optotipos alcanzados
SCHT	Cuantitativa Discreta	0-30	Milímetros empapados en el papel
FTBUT	Cuantitativa Discreta	0-30	Segundos desde parpadeo hasta inicio solución continuidad
HPR	Cuantitativa Discreta	0-4	Coincidencia con escala IER
TFCo	Cuantitativa Discreta	0-5	Coincidencia con escala Oxford
TFCn	Cuantitativa Discreta	0-5	Coincidencia con escala Oxford
CIC	Cuantitativa Discreta	0-4000	Número de células caliciformes por campo

Tabla 22. Operacionalización de las variables por escala y descripción

5.2.4 CRITERIOS INCLUSIÓN DE LA EVIDENCIA CIENTÍFICA

La búsqueda bibliográfica de los diferentes apartados que incluye este estudio se realizaron de la siguiente manera:

1. Se utilizó como base bibliográfica el documento de consenso del taller internacional sobre ojo seco (DEWS) publicado en 2007.
2. Se realizó una búsqueda en PUB-MED. Se combinaron términos MeSH combinados mediante la utilización de operadores booleanos acerca de cada técnica diagnóstica y tratamiento en la EOS desarrollado en la introducción (AV, SCHT, FTBUT, CIC, OSM, TFC, OSDI, AH, PRP, EOS y SO). Se incluyeron en el filtro de tipo de artículos: *Randomized Controlled Trial*, *Meta-Analysis*, *Systematic Reviews*, *Reviews*. No se incluyó el filtro de fecha de publicación aunque se dio más peso específico a los de más reciente publicación, siempre que tuviesen mismo grado de recomendación.
3. En la biblioteca Cochrane de Revisiones sistemáticas.
4. Bases de datos de revistas de publicación de estudios trascendentes para oftalmología: *Cornea*, *Ophthalmology*, *Archives of Ophthalmology*, *American Journal Ophthalmology*.

5. Páginas de entidades relacionadas con SO: www.terafilm.org y www.theocularsurface.com

Se siguieron los criterios de la Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ) para determinar el nivel de la evidencia y el grado de recomendación. (Tabla 23 y 24).

Grado	Definición
A	Existe buena evidencia en base a la investigación para apoyar la recomendación
B	Existe moderada evidencia en base a la investigación para apoyar la recomendación
C	Recomendación en la opinión de expertos o panel de consenso
X	Existe evidencia de riesgo para esta intervención

Tabla 23. Grados de evidencia

Grado recomendación	Nivel de evidencia	Evidencia derivada de:
A	Ia	Meta-análisis de ensayos clínicos aleatorizados y controlados.
	Ib	Al menos un ensayo clínico aleatorizado y controlado, bien diseñado
B	IIa	Al menos un estudio prospectivo controlado sin aleatorizar, bien diseñado.
	IIb	Al menos un estudio cuasiexperimental, bien diseñado
	III	Estudios descriptivos no experimentales, bien diseñados, como estudios comparativos, de correlación, de casos y controles.
C	IV	Procede de documentos u opiniones de expertos, consenso de expertos, o experiencias clínicas de autoridades de prestigio.

Tabla 24. Clasificación del grado de recomendación de acuerdo al nivel de evidencia disponible.

5.2.5 ASPECTOS ÉTICOS

Para la realización de este estudio se solicitó la autorización a la Comisión de Investigación del Hospital Clínico de San Juan así como de la Agencia Española del Medicamento (AEMED).

Se solicitó el consentimiento informado a los pacientes antes de su admisión, garantizándose la confidencialidad de la información conforme a lo previsto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal.

El estudio fue llevado a cabo siguiendo las normas éticas descritas en la Declaración de Helsinki para la investigación biomédica.

5.2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

5.2.6.1 TAMAÑO MUESTRAL

Éste se determina en base a la población de estudio para pacientes con EOS hiposecretor que acuden a nuestra sección de superficie ocular para su valoración. El universo de pacientes promedio incluye aérea de influencia del H.U. San Juan de Alicante. Asumiendo un nivel de confianza del 95%, precisión del 4%, proporción del 5% y porcentaje de pérdidas del 10%, se recomendó un tamaño muestral de 92 pacientes.

Se incluyeron en el estudio un total de 90 pacientes. Al final del estudio se excluyeron 7 pacientes que no completaron alguna de las visitas programadas en el día citado o no cumplieron las pautas de tratamiento. El número final de pacientes (Tabla 25) que se incluyeron en el estudio estadístico es de 83 (44 en grupo PRP y 39 en grupo AH) y el número de ojos incluidos fue de 166. De éstos, se excluyeron 11 ojos (5 OD/ 1 OI del grupo PRP y 1 OD/4 OI del grupo AH) que no cumplieron alguno de los criterios de aceptación, principalmente un SHT >5,5. De manera que para el análisis estadístico se incluyeron en el grupo PRP 39 OD y 43 OI. En el grupo AH quedaron 38 OD y 35 OI.

	PACIENTES	Nº OJOS	OD eliminados	OI eliminados	Nº ojos incluidos	OD final	OI final
PRP	44	88	5	1	82	39	43
AH	39	78	1	4	73	38	35
TOTAL	83	166	6	5	155	77	78

Tabla 25. Número de paciente y ojos incluidos y eliminados en el estudio.

5.2.6.2 ESTUDIO DESCRIPTIVO

El análisis de datos se realizó con el software SPSS para Windows versión 19.0 (IBM, Armonk, NY, USA). La normalidad de las muestras de datos obtenidas fue evaluada mediante el test de Kolmogorov-Smirnov.

Se realizó un estudio descriptivo de los datos mostrados para ambos grupos de estudio en los diferentes días de visita, expresado como media, desviación estándar (DE), mediana y rango (Anexos 4, 5 y 6).

5.2.6.3 ESTUDIO ANALÍTICO

Para evaluar la igualdad de varianzas se empleó la prueba de Levene. Si las muestras analizadas seguían una distribución normal, se utilizó el test t de Student para datos pareados para analizar los cambios entre visitas consecutivas, mientras que el test de Wilcoxon se empleó si las distribuciones de datos no seguían la normalidad. Para la comparación entre grupos de tratamientos, se empleó el test t de Student para datos no pareados si se podía aplicar estadística paramétrica y el test de Mann-Whitney en caso contrario.



6. RESULTADOS





Se presentan a continuación los resultados del análisis estadístico, desglosados por variable diagnóstica, y se exponen las correlaciones halladas entre variables de cada grupo :

- 6.1 CUESTIONARIO DE SÍNTOMAS (OSDI)
- 6.2 AGUDEZA VISUAL (BCVA)
- 6.3 NIVEL DE HIPEREMIA CONJUNTIVAL (HPR)
- 6.4 OSMOLARIDAD LAGRIMAL (OSM)
- 6.5 TEST DE SCHIRMER (SCHT)
- 6.6 TIEMPO DE ROTURA LAGRIMAL (FTBUT)
- 6.7 TINCIÓN CONJUNTIVAL (TFC_n)
- 6.8 TINCIÓN CORNEAL (TFC_o)
- 6.9 CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL (CIC)
- 6.10 CORRELACION ENTRE VARIABLES PRE Y POSTRATAMIENTO
- 6.11 CORRELACION ENTRE VARIABLES DIAGNÓSTICAS

En una primera parte se presentan las estadísticas de grupo y las comparaciones entre grupos en los días 1 (**D1**, antes del tratamiento), 2 (**D2**, tras 15 días con tratamiento) y 3 (**D3**, tras 30 días con tratamiento).

A continuación se compara el cambio que experimenta una variable en ambos grupos (grupo **AH**, colirio de hialuronato y grupo **PRP**, colirio de plasma rico en plaquetas), entre los diferentes días de valoración. Debido a la complejidad diagnóstica de la EOS y pese a la aleatorización descrita, los dos grupos de estudio no fueron comparables para todas las mediciones diagnósticas realizadas en la primera visita antes de iniciar el tratamiento. Así, mientras que para las variables de OSDI, AV, OSM, SCHT OI y el FTBUT, ambos grupos son comparables, para las mediciones con HPR, TFC_n, TFC_o, SCHT OD y CIC ambos grupos no lo fueron. Al tratarse de grupos no comparables en parte de los parámetros medidos antes del tratamiento, las diferencias entre ambos grupos en el día 2 y/o 3, pese a ser importantes, no son estadísticamente significativas. Dicho de otra manera, para algunos test diagnósticos de EOS el grupo de PRP estaba en peores condiciones antes del tratamiento, por ello y pese a que mejoraron más que el grupo AH con el tratamiento, esta mejoría no fue estadísticamente significativa ya que ambos grupos terminaron en unos niveles similares. Por este motivo se realizó un segundo análisis en el que se compararon las diferencias encontradas entre los diferentes días de valoración. Se comparó la diferencia entre día 1 y día 2 (D1- D2), entre día 2 y día 3(D2- D3) y entre día 1 y día3 (D1-D3). Con esta comparación se pueden apreciar los cambios de cada tratamiento a lo largo de las sucesivas exploraciones,

independientemente de su situación inicial. Se decidió realizar un análisis estadístico por ojos derechos e izquierdos de cada variable excepto del OSDI y la CIC del resto de las variables para evitar el efecto de emparejamiento inter-ojo de cada paciente.

Se exponen los resultados mediante la media y su nivel de significación estadística p . Los resultados estadísticamente significativos con una $p < 0.01$ se resaltarán en color azul y con dos asteriscos (**) en las gráficas. Para valores de $p < 0.05$ (pero ≥ 0.01) se resaltarán en amarillo y con un asterisco (*) en las gráficas. Valores con $p \geq 0.05$ quedarán en blanco, sin resaltar, al no considerarlos estadísticamente significativos.

Se incluyeron finalmente 83 pacientes (Tabla 25) para el análisis: 44 pacientes en el grupo PRP y 39 en el grupo AH. Para el análisis estadístico se compararon los ojos (Tabla 25) derechos (OD) entre sí y los ojos izquierdo (OI) entre sí, en lugar de comparar pacientes. De este modo quedan dos grupos: grupo PRP con 39 ojos derechos y 43 ojos izquierdos, grupo AH con 38 ojos derechos y 35 ojos izquierdos.

6.1 CUESTIONARIO DE SÍNTOMAS OSDI

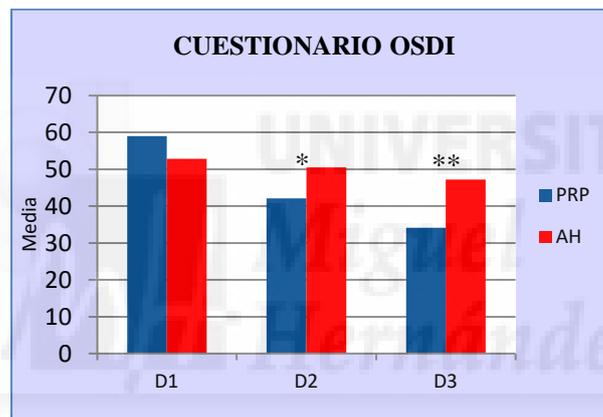
Para el análisis estadístico de esta variable se incluyeron 83 pacientes (44 en grupo PRP y 39 en el AH). Al observar la estadística de grupo (Tabla 26) se aprecia que en el primer día (D1) la media de la puntuación en el cuestionario OSDI es mayor en el grupo PRP que AH, aunque al compararlas (Tabla 27), estas diferencias no son estadísticamente significativas. Entendemos por lo tanto que ambos grupos son comparables antes del tratamiento. Esta media se reduce de manera estadísticamente significativa en el D2 y de manera más marcada en el grupo PRP. Este cambio es considerable al comparar las diferencias de media que incluso cambian de signo. En el D3, esta diferencia se mantiene de manera estadísticamente significativa en ambos grupos aunque una vez más, es mayor en el grupo PRP. El descenso de medias es mayor en el grupo PRP y sobre todo entre D1 y D2 (Gráfica 1).

	Grupo	Nº pacientes	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
OSDI D1	PRP	44	59,02	17,855	2,692
	AH	39	52,82	19,742	3,161
OSDI D2	PRP	44	42,09	18,073	2,725
	AH	39	50,54	19,231	3,079
OSDI D3	PRP	44	34,16	17,562	2,648
	AH	39	47,26	18,912	3,028

Tabla 26. Estadísticas de grupo para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3 para variable OSDI.

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	T	gl	Sig.Bilat	Diferencia de medias	Diferencia error estandar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
OSDI D1	Se asumen varianzas iguales	,231	,632	1,503	81	,137	6,202	4,127	-2,009	14,413
	No se asumen varianzas iguales			1,494	77,21	,139	6,202	4,152	-2,065	14,469
OSDI D2	Se asumen varianzas iguales	,083	,774	-2,062	81	,042	-8,448	4,096	-16,598	-,297
	No se asumen varianzas iguales			-2,054	78,35	,043	-8,448	4,112	-16,633	-,262
OSDI D3	Se asumen varianzas iguales	,324	,571	-3,271	81	,002	-13,097	4,004	-21,065	-5,130
	No se asumen varianzas iguales			-3,256	78,01	,002	-13,097	4,022	-21,105	-5,089

Tabla 27. Comparación muestras independientes para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3 para variable OSDI.



Gráfica 1. Tabla de medias de puntuación de OSDI cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

En ambos grupos, antes de iniciar tratamiento (D1) las diferencias de medias no son estadísticamente significativas y por lo tanto asumimos que son iguales. Sin embargo en otras variables esto no ocurre así, pese a la aleatorización inicial. Por este motivo, se analizó la diferencia de medias entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1), como vemos a continuación.

Se observa que la diferencia de las medias entre los diversos días es mayor siempre en el grupo PRP (Tabla 28). Vemos como la diferencia entre el D2 y el D1 en la puntuación del cuestionario OSDI disminuye 16.93 puntos en el grupo PRP mientras que en el AH desciende 2.28 y de manera estadísticamente significativa (Tabla 29). También hay un descenso entre el D3 y D2, aunque de menor magnitud, en el grupo PRP y similar en el grupo AH, de manera estadísticamente significativa. Por último, al comparar entre D3 y D1 apreciamos la notable diferencia estadísticamente significativa que hay entre ambos grupos antes y después del tratamiento, que en el grupo PRP es de 24.86 unidades y en el grupo AH es de 5,56 unidades. Esto se aprecia de manera más visual en la gráfica acompañante (Gráfica 2).

Variable	Tratamiento	Nº pacientes	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
DIF.OSDI D2-D1	PRP	44	-16,9318	12,71219	1,91644
	AH	39	-2,2821	5,49137	,87932
DIF.OSD D3-D2	PRP	44	-7,9318	7,80399	1,17650
	AH	39	-3,2821	5,41416	,86696
DIF.OSDI D3-D1	PRP	44	-24,8636	15,71045	2,36844
	AH	39	-5,5641	5,66520	,90716

Tabla 28. Estadísticas de grupo para cada tratamiento entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1) para variable OSDI.

		Prueba de Levene Igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
DIF.OSDI D2-D1	Se asumen varianzas iguales	11,454	,001	-6,663	81	,001	-14,64977	2,19856	-19,02421	-10,27532
	No se asumen varianzas iguales			-6,948	60,002	,001	-14,64977	2,10854	-18,86747	-10,43206
DIF.OSDI D3-D2	Se asumen varianzas iguales	6,677	,012	-3,114	81	,003	-4,64977	1,49296	-7,62029	-1,67924
	No se asumen varianzas iguales			-3,182	76,765	,002	-4,64977	1,46142	-7,55998	-1,73956
DIF.OSDI D3-D1	Se asumen varianzas iguales	27,064	,000	-7,260	81	,000	-19,29953	2,65816	-24,58844	-14,01063
	No se asumen varianzas iguales			-7,610	55,198	,000	-19,29953	2,53623	-24,38183	-14,21723

Tabla 29 Comparación de la diferencia de medias entre los dos días de la evaluación (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)

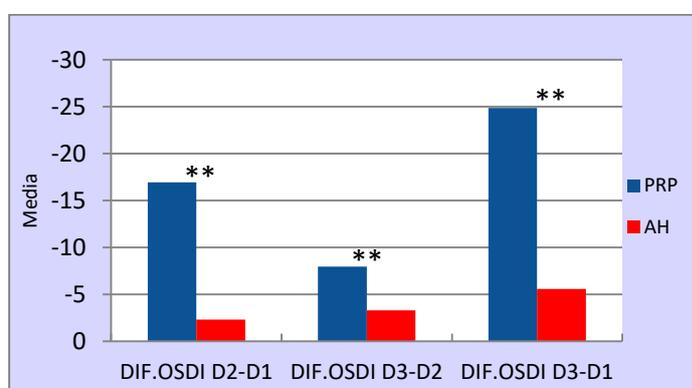


Gráfico 2. Tabla de medias de puntuación de OSDI para cada tratamiento entre los diferentes días de evaluación (D2-D1, D3-D2 y D3-D1). La variación de media, en el caso del PRP desciende más que en el grupo AH

6.2 AGUDEZA VISUAL CORREGIDA (BCVA)

Para el análisis de la BVAC y del resto de las variables, se separó por ojos (OD y OI) para reducir el efecto de emparejamiento inter-ojo de cada paciente. Para el análisis estadístico del grupo OD se incluyeron 77 ojos derechos (39 en grupo PRP y 38 en el AH) y 78 ojos izquierdos (43 en grupo PRP y 35 en el AH).

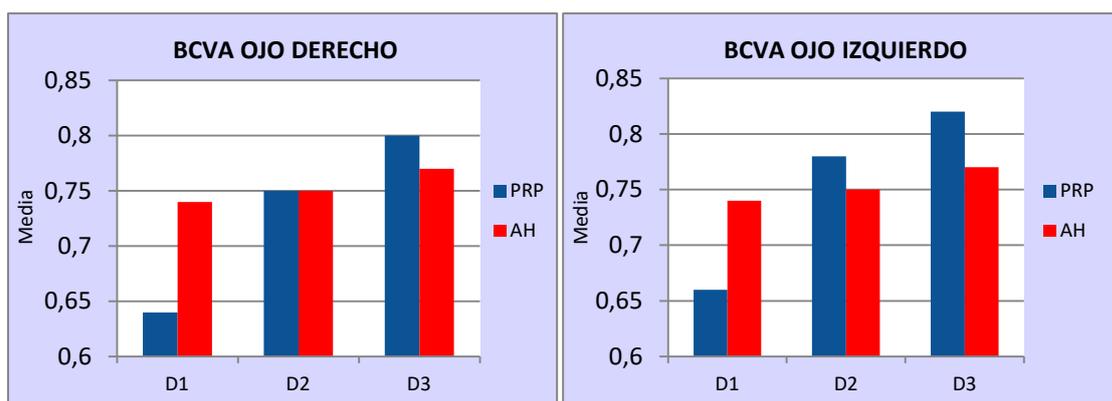
En la tabla 30 se presenta la estadística de grupo donde se ve que antes del tratamiento la media de AV es mayor en el grupo AH que PRP, tanto para OD como OI. Esta diferencia no es estadísticamente significativa (Tabla 31). Vemos como aumenta dicha media, aunque de manera no estadísticamente significativa en el D2 y de manera más marcada en el grupo PRP. Por su parte el incremento en el grupo AH es de menor magnitud. En el D3 estas diferencias se mantienen de manera no estadísticamente significativa en ambos. El aumento de medias es mayor en el grupo PRP y sobre todo entre D1 y D2. El motivo por el que estos cambios no son estadísticamente significativos es por las diferencias entre grupos en el D1. Estos cambios son más apreciables visualmente en las gráficas acompañantes (Gráfica 3)

Variable	Grupo	Nº Pacientes	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
BCVA OD D1	PRP	39	0,64	0,273	,043
	AH	38	0,74	0,226	,036
BCVA OD D2	PRP	39	0,75	0,222	,035
	AH	38	0,75	0,211	,034
BCVA OD D3	PRP	39	0,80	0,197	,031
	AH	38	0,77	0,200	,032
BCVA OI D1	PRP	43	0,66	0,255	,038
	AH	35	0,74	0,230	,038
BCVA OI D2	PRP	43	0,78	0,230	,035
	AH	35	0,75	0,211	,035
BCVA OI D3	PRP	43	0,82	0,200	,030
	AH	35	0,77	0,203	,034

Tabla 30. Estadísticas de grupo para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
BCVA OD D1	Se asumen varianzas iguales	2,482	,119	-1,722	75	,089	-,986	,572	-2,126	,155
	No se asumen varianzas iguales			-1,726	73,114	,089	-,986	,571	-2,124	,152
BCVA OD D2	Se asumen varianzas iguales	,245	,622	,022	75	,983	,011	,494	-,974	,995
	No se asumen varianzas iguales			,022	74,959	,983	,011	,494	-,973	,995
BCVA OD D3	Se asumen varianzas iguales	,010	,923	,465	75	,644	,211	,453	-,692	1,113
	No se asumen varianzas iguales			,465	74,876	,644	,211	,453	-,692	1,113
BCVA OI D1	Se asumen varianzas iguales	,310	,579	-1,304	76	,196	-,726	,556	-1,834	,382
	No se asumen varianzas iguales			-1,318	75,148	,191	-,726	,550	-1,822	,371
BCVA OI D2	Se asumen varianzas iguales	,197	,659	,581	76	,563	,294	,507	-,715	1,304
	No se asumen varianzas iguales			,586	74,864	,560	,294	,502	-,706	1,295
BCVA OI D3	Se asumen varianzas iguales	,218	,642	1,179	76	,242	,542	,459	-,373	1,456
	No se asumen varianzas iguales			1,177	72,280	,243	,542	,460	-,376	1,459

Tabla 31. Comparación de muestras independientes para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3.



Gráfica 3. Tablas de medias de **BCVA** del OD y OI para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

Analizamos a continuación los cambios en las medias entre los diferentes días para cada grupo para minimizar el efecto de la diferencia en el D1.

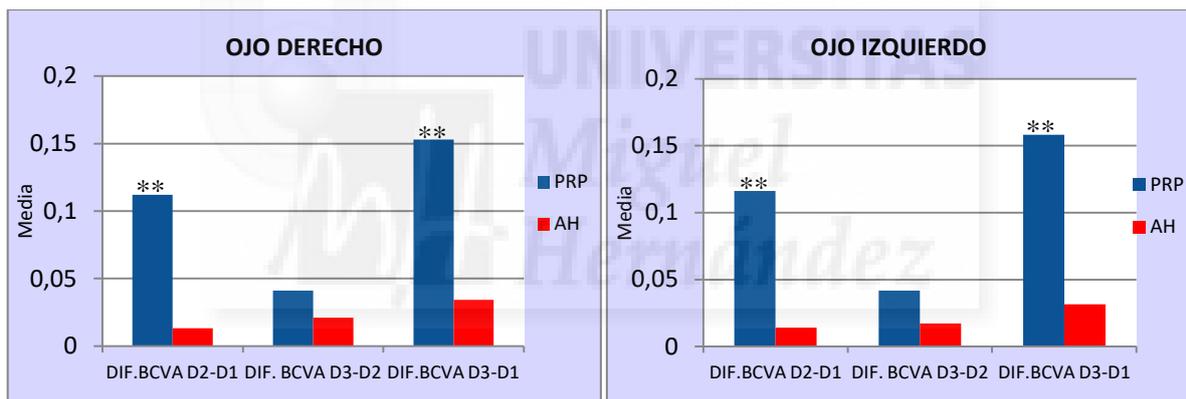
Apreciamos (Tabla 32) que para los OD, la diferencia de medias entre los diferentes días es mayor siempre en el grupo PRP. Observamos un incremento de media de 0.11 entre el D1 y D2 para el grupo PRP, mientras que el incremento de medias para el mismo período en el grupo AH es de 0.013. Vemos como las diferencias del grupo PRP entre el D2 y el D1 son mayores y estadísticamente significativas (Tabla 33). También son mayores en el grupo PRP frente al AH entre D3 y D2 aunque con menor magnitud y no estadísticamente significativas. Por último, al comparar las diferencias entre D3 y D1, observamos un incremento de media de 0.15 entre el D3 y D1 para el grupo PRP, mientras que el incremento de medias para el mismo período en el grupo AH es de 0.034, siendo ambas estadísticamente significativas. Los cambios observados en los OI siguen el mismo patrón. Esta tendencia se aprecia de manera más visual en las gráficas posteriores (Gráfica 4).

Variable	Grupo	Nº Pacientes	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
DIF. BCVA OD D2-D1	PRP	39	,1120	0,112	,0180
	AH	38	,0131	,0414	,0067
DIF. BCVA OD D3-D2	PRP	39	,0410	,0938	,0150
	AH	38	,0210	,0664	,0107
DIF. BCVA OD D3-D1	PRP	39	,1531	,1604	,0256
	AH	38	,0342	,0814	,0132
DIF. BCVA OI D2-D1	PRP	43	,1162	,1326	,0202
	AH	35	,0142	,0772	,0130
DIF. BCVA OI D3-D2	PRP	43	,0418	,0905	,0138
	AH	35	,0171	,0452	,0076
DIF. BCVA OI D3-D1	PRP	43	,1581	,1636	,0249
	AH	35	,0314	,0832	,0140

Tabla 32. Estadísticas de grupo para cada tratamiento entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
DIF. BCVA OD D2-D1	Se asumen varianzas iguales	20,316	,000	5,120	75	,003	,99663	,19467	,60883	1,38442
	No se asumen varianzas iguales			5,171	48,284	,003	,99663	,19272	,60919	1,38406
DIF. BCVA OD D3-D2	Se asumen varianzas iguales	2,054	,156	1,076	75	,285	,19973	,18565	-,17010	,56956
	No se asumen varianzas iguales			1,081	68,525	,284	,19973	,18484	-,16906	,56852
DIF. BCVA OD D3-D1	Se asumen varianzas iguales	11,166	,001	4,111	75	,004	1,19636	,29101	,61664	1,77608
	No se asumen varianzas iguales			4,143	56,712	,004	1,19636	,28876	,61806	1,77465
DIF. BCVA OI D2-D1	Se asumen varianzas iguales	5,145	,026	4,025	76	,002	1,01993	,25338	,51528	1,52459
	No se asumen varianzas iguales			4,237	69,413	,002	1,01993	,24072	,53977	1,50010
DIF. BCVA OI D3-D2	Se asumen varianzas iguales	4,953	,029	1,470	76	,146	,24718	,16810	-,08762	,58197
	No se asumen varianzas iguales			1,565	64,263	,122	,24718	,15793	-,06830	,56265
DIF. BCVA OI D3-D1	Se asumen varianzas iguales	13,201	,001	4,161	76	,001	1,26711	,30455	,66055	1,87367
	No se asumen varianzas iguales			4,423	64,841	,001	1,26711	,28646	,69499	1,83923

Tabla 33. Comparación de la diferencia de medias entre los dos días de la evaluación (D2-1, D3-D2 y D3-D1)



Gráfica 4. Tablas de medias de BCVA del OD y OI para cada tratamiento entre los diferentes días de evaluación (D2-D1, D3-D2 y D3-D1).

6.3 NIVEL DE HIPEREMIA CONJUNTIVAL (HPR)

El análisis de la HPR se separó, de nuevo entre ojos derechos (OD) e izquierdos (OI). Se incluyeron 77 ojos derechos (39 en grupo PRP y 38 en el AH) y en el OI 78 ojos (43 en grupo PRP y 35 en el AH).

La HPR se valoró con una puntuación en una escala del 1, 2, 3 y 4. En la tabla 34 se describen las medias por grupo para cada ojo antes del tratamiento (D1), a los 15 días de tratamiento (D2) y tras 30 días de tratamiento (D3). La media del D1 es mayor en el grupo PRP que en el AH para ambos ojos, siendo estadísticamente significativas por lo que asumimos que al inicio del estudio, ya había diferencias entre ambos grupos. En el D2 las medias del grupo PRP disminuyen significativamente para ambos ojos mientras que en el grupo AH el descenso es muy

limitado. En el D3 se mantiene el descenso de la media en el grupo PRP aunque en menor proporción, para ambos ojos. Por su parte el grupo AH mantiene un descenso de la media similar al observado en el período anterior. En ambos días, las diferencias son estadísticamente significativas (Tabla 35). En el D3 la media del grupo PRP es inferior al del grupo AH, pese que inicialmente era mayor.

Este descenso más pronunciado se aprecia mejor en la gráfica 5.

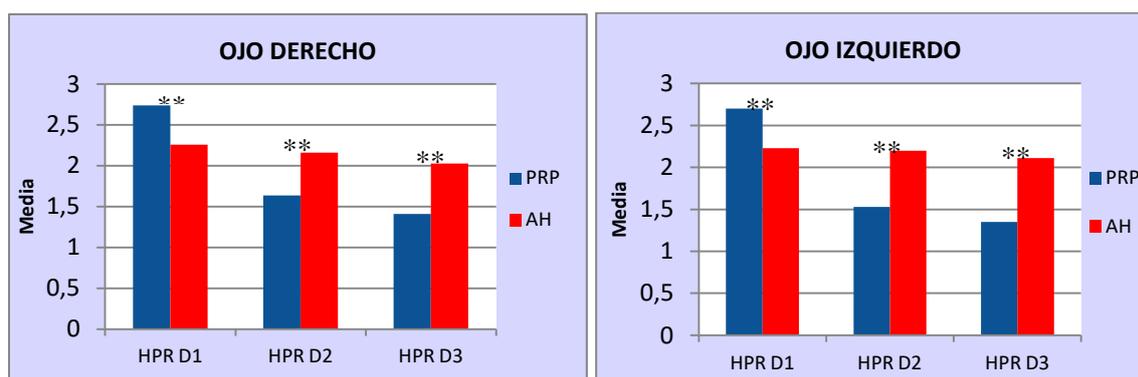
Los cambios en los ojos izquierdos son similares a los descritos en los ojos derechos.

Variable	Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
HPROD D1	PRP	39	2,74	,715	,115
	AH	38	2,26	,601	,098
HPROD D2	PRP	39	1,64	,584	,094
	AH	38	2,16	,594	,096
HPROD D3	PRP	39	1,41	,498	,080
	AH	38	2,03	,716	,116
HPROI D1	PRP	43	2,70	,599	,091
	AH	35	2,23	,598	,101
HPROI D2	PRP	43	1,53	,505	,077
	AH	35	2,20	,632	,107
HPROI D3	PRP	43	1,35	,529	,081
	AH	35	2,11	,676	,114

Tabla 34. Estadísticas de grupo para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

		Prueba Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
HPR OD D1	Se asumen varianzas iguales	1,510	,223	3,187	75	,002	,480	,151	,180	,781
	No se asumen varianzas iguales			3,194	73,433	,002	,480	,150	,181	,780
HPR OD D2	Se asumen varianzas iguales	1,272	,263	-3,849	75	,003	-,517	,134	-,784	-,249
	No se asumen varianzas iguales			-3,848	74,864	,001	-,517	,134	-,784	-,249
HPR OD D3	Se asumen varianzas iguales	,059	,809	-4,391	75	,001	-,616	,140	-,896	-,337
	No se asumen varianzas iguales			-4,371	65,873	,001	-,616	,141	-,897	-,335
HPR OI D1	Se asumen varianzas iguales	,741	,392	3,442	76	,001	,469	,136	,198	,741
	No se asumen varianzas iguales			3,442	72,853	,001	,469	,136	,197	,741
HPR OI D2	Se asumen varianzas iguales	,207	,651	-5,167	76	,002	-,665	,129	-,921	-,409
	No se asumen varianzas iguales			-5,049	64,378	,000	-,665	,132	-,928	-,402
HPR OI D3	Se asumen varianzas iguales	,695	,407	-5,609	76	,003	-,765	,136	-1,037	-,494
	No se asumen varianzas iguales			-5,471	63,576	,001	-,765	,140	-1,045	-,486

Tabla 35. Comparación de muestras independientes para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3.



Gráfica 5. Tablas de medias de HPR del OD y OI para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

Pasamos a comparar los cambios de las medias entre los diferentes días en cada grupo para minimizar el efecto de la diferencia en el D1. En la tabla 36 se muestra como se produce una reducción de la media entre el D2 y el D1, es decir, tras los primeros 15 días de tratamiento. En los ojos derechos, el descenso en el grupo PRP es 1.1 ± 0.71 , mientras que en el grupo AH es menor (0.10 ± 0.38). Al comparar este descenso (Tabla 37) vemos que las diferencias son estadísticamente significativas ($p=0.01$). Al comparar el descenso entre el D3 y el D2, tras los segundos 15 días de tratamiento, se produce un descenso, esta vez más moderado en el grupo PRP (0.23 ± 0.42), y un descenso similar al período anterior del mismo grupo, en el grupo AH (0.13 ± 0.52). Esta vez, la diferencia no es significativa ($p=0.37$). Cuando comparamos el cambio de media antes del tratamiento y al finalizarlo, es decir, entre el D1 y el D3, éste es de 1.33 ± 0.73 en el grupo PRP y de 0.23 ± 0.28 en el grupo AH. Al comparar ambas medias, la diferencia es estadísticamente significativa ($p=0.02$). Una vez más, este comportamiento se da de manera similar en los ojos izquierdos.

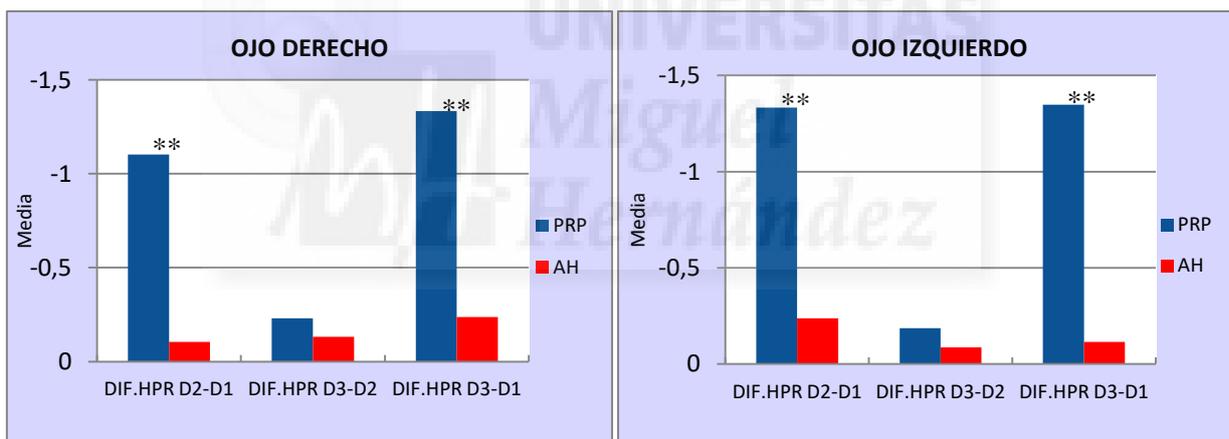
	Tratamiento	Nº Pacientes	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
DIF.HPR OD D2-D1	PRP	39	-1,1026	,71800	,11497
	AH	38	-,1053	,38831	,06299
DIF.HPR OD D3-D2	PRP	39	-,2308	,42683	,06835
	AH	38	-,1316	,52869	,08577
DIF. HPROD D3-D1	PRP	39	-1,333	,73935	,12456
	AH	38	-,2369	,28545	,05072
DIF. HPROI D2-D1	PRP	43	-1,1628	,78468	,11966
	AH	35	-,0286	,29563	,04997
DIF. HPROI D3-D2	PRP	43	-,1860	,50028	,07629
	AH	35	-,0857	,37349	,06313
DIF. HPROI D3-D1	PRP	43	-1,3488	,71991	,10979
	AH	35	-,1143	,40376	,06825

Tabla 36. Estadísticas de grupo para cada tratamiento entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
DIF. HPR OD D2-D1	Se asumen varianzas iguales	15,651	,000	-7,553	75	,001	-,99730	,13204	-1,26035	-,73425
	No se asumen varianzas iguales			-7,607	58,797	,001	-,99730	,13110	-1,25964	-,73496
DIF. HPR OD D3-D2	Se asumen varianzas iguales	,022	,881	-,907	75	,367	-,09919	,10936	-,31706	,11867
	No se asumen varianzas iguales			-,904	71,026	,369	-,09919	,10967	-,31786	,11948
DIF. HPR OD D3-D1	Se asumen varianzas iguales	27,876	,000	-5,047	75	,002	-1,4445	,17394	-1,28244	-,97303
	No se asumen varianzas iguales			-5,092	52,525	,003	-1,3524	,12152	-1,27241	-,95706
DIF. HPR OI D2-D1	Se asumen varianzas iguales	46,576	,000	-8,089	76	,000	-1,13422	,14022	-1,41349	-,85495
	No se asumen varianzas iguales			-8,746	55,828	,005	-1,13422	,12968	-1,39401	-,87443
DIF. HPR OI D3-D2	Se asumen varianzas iguales	3,410	,069	-,984	76	,328	-,10033	,10199	-,30347	,10280
	No se asumen varianzas iguales			-1,013	75,489	,314	-,10033	,09903	-,29758	,09692
DIF. HPR OI D3-D1	Se asumen varianzas iguales	23,658	,000	-9,046	76	,007	-1,23455	,13647	-1,50635	-,96275
	No se asumen varianzas iguales			-9,550	68,160	,002	-1,23455	,12927	-1,49249	-,97661

Tabla 37. Comparación de la diferencia de medias entre los dos días de la evaluación (D2-1, D3-D2 y D3-D1)

En la gráfica 6, apreciamos mejor los cambios de medias entre cada día de evaluación.



Gráfica 6. Tablas de medias de HPR para cada tratamiento entre los diferentes días de evaluación (D2-D1, D3-D2 y D3-D1).

6.4 OSMOLARIDAD LAGRIMAL (OSM)

Para el análisis de la OSM se analizó por ojos derechos (OD) e izquierdos (OI). Para el análisis estadístico de esta variable del OD se incluyeron 77 ojos derechos (39 en grupo PRP y 38 en el AH) y en el OI 78 ojos (43 en grupo PRP y 35 en el AH). Para la exposición en texto se citará como ejemplo los datos de los ojos derechos ya que los ojos izquierdos tienen un comportamiento similar. En las tablas aparecen los datos completos de ambos ojos.

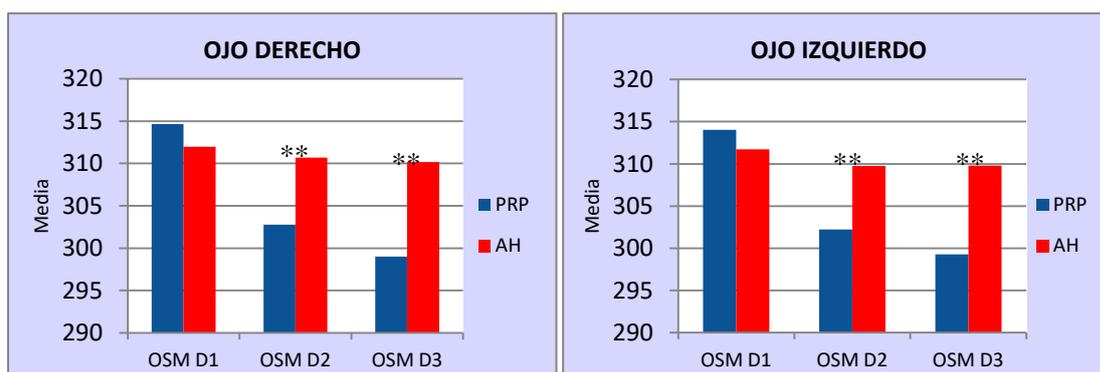
En el D1 (Tabla 38) ambos grupos presentan una media de puntuación similar (314.67 +/- 18.15 grupo PRP y 311.97 +/- 7.55 grupo AH, $p=0.4$) y comparable (Tabla 39). Observamos como disminuyen las medias en los dos días consecutivos de evaluación (D2 y D3) en ambos grupos, tanto para los OD como OI. Este descenso de la OSM media es más marcado en el D2, tras los primeros 15 días de tratamiento. Estas diferencias son estadísticamente significativas como vemos en la tabla 39. Esos cambios son más apreciables en la gráfica 7.

Variable	Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
OSM OD D1	PRP	39	314,67	18,158	2,908
	AH	38	311,97	7,557	1,226
OSM OD D2	PRP	39	302,79	12,813	2,052
	AH	38	310,68	7,715	1,252
OSM OD D3	PRP	39	299,03	12,967	2,076
	AH	38	310,16	11,010	1,786
OSM OI D1	PRP	43	314,02	17,241	2,629
	AH	35	311,71	6,793	1,148
OSM OI D2	PRP	43	302,23	12,126	1,849
	AH	35	309,77	8,437	1,426
OSM OI D3	PRP	43	299,28	11,465	1,748
	AH	35	309,80	10,304	1,742

Tabla 38. Estadísticas de grupo para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

		Prueba Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
OSM OD D1	Se asumen varianzas iguales	13,125	,001	,846	75	,400	2,693	3,185	-3,652	9,037
	No se asumen varianzas iguales			,853	51,054	,397	2,693	3,155	-3,642	9,028
OSM OD D2	Se asumen varianzas iguales	6,233	,015	-3,263	75	,002	-7,889	2,418	-12,706	-3,072
	No se asumen varianzas iguales			-3,283	62,634	,002	-7,889	2,403	-12,692	-3,086
OSM OD D3	Se asumen varianzas iguales	1,686	,198	-4,056	75	,000	-11,132	2,745	-16,600	-5,665
	No se asumen varianzas iguales			-4,065	73,635	,000	-11,132	2,739	-16,590	-5,675
OSM OI D1	Se asumen varianzas iguales	15,443	,000	,746	76	,458	2,309	3,096	-3,857	8,475
	No se asumen varianzas iguales			,805	56,989	,424	2,309	2,869	-3,436	8,054
OSM OI D2	Se asumen varianzas iguales	5,449	,022	-3,114	76	,003	-7,539	2,421	-12,361	-2,717
	No se asumen varianzas iguales			-3,228	74,334	,002	-7,539	2,335	-12,192	-2,886
OSM OI D3	Se asumen varianzas iguales	1,472	,229	-4,216	76	,000	-10,521	2,495	-15,491	-5,551
	No se asumen varianzas iguales			-4,263	75,218	,000	-10,521	2,468	-15,437	-5,605

Tabla 39. Comparación de muestras independientes para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3.



Gráfica 7. Tablas de medias de OSM del OD y OI para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

En la comparación de la diferencia de medias entre dos días de evaluación (Tabla 40), apreciamos como la reducción de la OSM tras los primeros 15 días de tratamiento (diferencia entre D2 y D1) es mayor en el grupo PRP (11.87 +/- 12.73 grupo PRP y 1.28.97 +/- 3.31 grupo AH, $p=0.02$) que en el de AH, de manera estadísticamente significativa (Tabla 41). Tras los siguientes 15 días (diferencia entre D3 y D2) esta reducción se mantiene de nuevo mayor en el grupo PRP, aunque de manera no estadísticamente significativa (3.76 +/- 8.67 grupo PRP y 0.52 +/- 5.64 grupo AH, $p=0.056$). Las diferencias entre D3-D1 reflejan el cambio de OSM desde antes del tratamiento hasta pasados 30 días de éste. De nuevo, la reducción es considerable en el grupo PRP mientras que apenas hay cambios en el grupo AH y de manera estadísticamente significativa (15.64 +/- 14.56 grupo PRP y 1.8 +/- 6.54 grupo AH). En los OI, los cambios son similares. Las reducciones de la OSM son casi cuatro veces mayores en los primeros 15 días de tratamiento que en los posteriores. En el caso del grupo AH los cambios son similares entre ambos períodos.

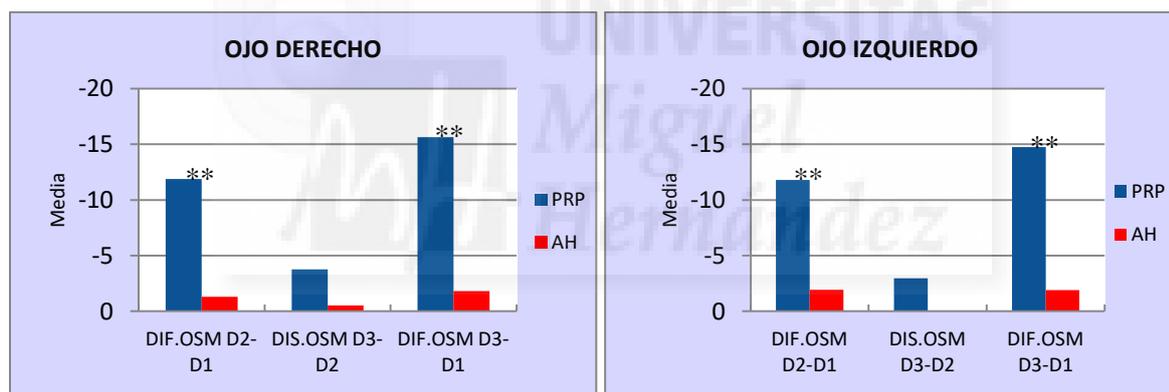
	Tratamiento	Nº Pacientes	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
DIF. OSM OD D2-D1	PRP	39	-11,871	12,73243	2,03882
	AH	38	-1,289	3,31180	,53724
DIF. OSM OD D3-D2	PRP	39	-3,769	8,67380	1,38892
	AH	38	-,5263	5,64124	,91513
DIF. OSM OD D3-D1	PRP	39	-15,641	14,5663	2,4456
	AH	38	-1,8153	6,5444	1,3341
DIF. OSM OI D2-D1	PRP	43	-11,790	12,86479	1,96186
	AH	35	-1,942	4,65860	,78745
DIF. OSM OI D3-D2	PRP	43	-2,953	7,99688	1,21951
	AH	35	,0286	6,05604	1,02366
DIF. OSM OI D3-D1	PRP	43	-14,744	14,44051	2,20216
	AH	35	-1,9143	7,23704	1,22328

Tabla 40. Estadísticas de grupo para cada tratamiento entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)

De nuevo estos cambios de aprecian mejor en la gráfica 8.

Prueba de muestras independientes										
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior		Superior
DIF. OSM OD D2-D1	Se asumen varianzas iguales	21,882	,002	-4,962	75	,002	-10,58232	2,13278	-14,83104	-6,33360
	No se asumen varianzas iguales			-5,019	43,246	,001	-10,58232	2,10842	-14,83365	-6,33099
DIF. OSM OD D3-D2	Se asumen varianzas iguales	4,804	,031	-1,939	75	,056	-3,24291	1,67220	-6,57410	,08827
	No se asumen varianzas iguales			-1,950	65,481	,055	-3,24291	1,66330	-6,56429	,07846
DIF. OSM OD D3-D1	Se asumen varianzas iguales	23,302	,001	-4,236	76	,002	-13,8257	2,79233	-17,89925	-7,2935
	No se asumen varianzas iguales			-5,443	65,750	,002	-13,8257	2,54233	-17,55187	-7,6556
DIF. OSM OI D2-D1	Se asumen varianzas iguales	14,039	,000	-4,301	76	,003	-9,84784	2,28985	-14,40847	-5,28721
	No se asumen varianzas iguales			-4,658	54,864	,002	-9,84784	2,11399	-14,08462	-5,61106
DIF. OSM OI D3-D2	Se asumen varianzas iguales	,914	,342	-1,821	76	,073	-2,98206	1,63767	-6,24377	,27965
	No se asumen varianzas iguales			-1,873	75,646	,065	-2,98206	1,59220	-6,15343	,18931
DIF. OSM OI D3-D1	Se asumen varianzas iguales	20,302	,001	-4,786	76	,002	-12,82990	2,68084	-18,16925	-7,49055
	No se asumen varianzas iguales			-5,093	64,350	,001	-12,82990	2,51911	-17,86187	-7,79793

Tabla. 41. Comparación de la diferencia de medias entre los dos días de la evaluación (D2-1, D3-D2 y D3-D1)



Gráfica 8. Tablas de la diferencia de medias de OSM entre dos días de la evaluación (D2-1, D3-D2 y D3-D1).

6.5 TEST DE SCHIRMER (SCHT)

El análisis del SCHT se separó en ojos derechos (OD) e izquierdos (OI). Se incluyeron 77 ojos derechos (39 en grupo PRP y 38 en el AH) y en el OI 78 ojos (43 en grupo PRP y 35 en el AH).

EL SCHT es una de los criterios de exclusión más importantes en el estudio ya que se definió como objeto de estudio a pacientes con ojo seco hiposecretor. Para ello, se excluyeron pacientes con SCHT >5.5. Debido a que en la práctica no es posible registrar con precisión si los milímetros impregnados en la tira de papel secante se encuentran en 5.5, se aceptaron pacientes que no llegasen a 6 mm (SCHT < 6 mm) antes del tratamiento.

En el D1 (Tabla 42) ambos grupos presentan unas medias de puntuación similares y comparables para los ojos izquierdos (4.05 +/-1.8 grupo PRP y 4.40 +/-1.11 grupo AH, p=0.32). Mientras que en los ojos derechos la media que presentan (3.74 +/-1.7 grupo PRP y 4.71 +/- 1.06 grupo AH, p=0.05) (Tabla 43) no es significativa y por lo tanto ambos grupos presentan diferencias.

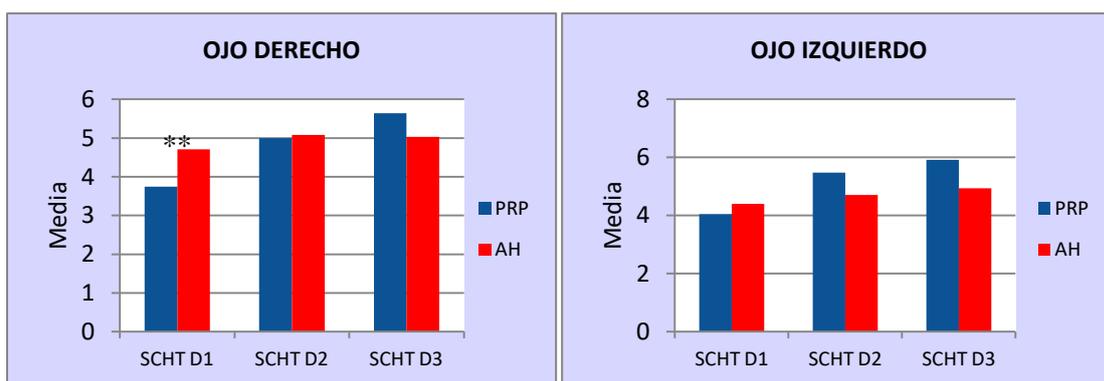
Vemos como estas medias aumentan en el grupo PRP en ambos ojos tras los primeros 15 días de tratamiento (D2) y los siguientes 15 días (D3). Cuando comparamos estos cambios, no son estadísticamente significativos. En el grupo AH también existe este incremento aunque en menor magnitud, excepto tras los segundos 15 días de tratamiento de los ojos derechos. Estos cambios siguen siendo no estadísticamente significativos. El motivo de que estas diferencias no sean significativas está en que ambos grupos parten de niveles diferentes, sobre todo en los ojos derechos. Ambos ojos del grupo PRP parten de medias más bajas, es decir, de SCHAT peores y pese a la mejoría no es significativo. Esos cambios se aprecian mejor en la gráfica 9.

Variable	Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
SCHAT OD D1	PRP	39	3,74	1,758	,281
	AH	38	4,71	1,063	,172
SCHAT OD D2	PRP	39	5,00	2,224	,356
	AH	38	5,08	1,148	,186
SCHAT OD D3	PRP	39	5,64	2,334	,374
	AH	38	5,03	1,515	,246
SCHAT OI D1	PRP	43	4,05	1,851	,282
	AH	35	4,40	1,117	,189
SCHAT OI D2	PRP	43	5,47	2,364	,360
	AH	35	4,71	1,526	,258
SCHAT OI D3	PRP	43	5,91	2,428	,370
	AH	35	4,94	1,862	,315

Tabla 42. Estadísticas de grupo para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

		Prueba Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
SCHAT OD D1	Se asumen varianzas iguales	20,575	,000	-2,911	75	,005	-,967	,332	-1,629	-,305
	No se asumen varianzas iguales			-2,929	62,793	,005	-,967	,330	-1,627	-,307
SCHAT OD D2	Se asumen varianzas iguales	14,604	,000	-,195	75	,846	-,079	,405	-,886	,728
	No se asumen varianzas iguales			-,196	57,226	,845	-,079	,402	-,884	,726
SCHAT OD D3	Se asumen varianzas iguales	9,208	,003	1,367	75	,176	,615	,450	-,281	1,511
	No se asumen varianzas iguales			1,374	65,422	,174	,615	,447	-,279	1,508
SCHAT OI D1	Se asumen varianzas iguales	11,047	,001	-,992	76	,324	-,353	,356	-1,063	,356
	No se asumen varianzas iguales			-1,041	70,537	,301	-,353	,340	-1,031	,324
SCHAT OI D2	Se asumen varianzas iguales	6,715	,011	1,623	76	,109	,751	,463	-,171	1,672
	No se asumen varianzas iguales			1,694	72,525	,095	,751	,443	-,133	1,634
SCHAT OI D3	Se asumen varianzas iguales	2,183	,144	1,931	76	,057	,964	,499	-,030	1,958
	No se asumen varianzas iguales			1,984	75,761	,051	,964	,486	-,004	1,932

Tabla 43. Comparación de muestras independientes para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3.



Gráfica 9. Tablas de medias de SCHT del OD y OI para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

Debido a que ambos grupos no eran inicialmente similares al principio del tratamiento en los ojos derechos, se comparan las medias de las diferencias entre días consecutivos para apreciar los cambios introducidos por cada tratamiento independientemente de su situación inicial.

En la tabla 44 vemos cual es el incremento de la media de SCHT que se ha producido entre el día 2 (D2) y el día 1 (D1) para cada grupo y por ojo. Los ojos derechos mejoraron la puntuación del SCHT (1.25 +/- 1.11 grupo PRP y 0.3684 +/- 0.9130 grupo AH, $p=0.01$). Estas diferencias si fueron estadísticamente significativas (Tabla 45). Durante el segundo período de tratamiento el incremento en el grupo PRP fue la mitad que tras los primeros 15 días (0.6410 +/- 1.404 grupo PRP y 0.0526 +/- 0.957, $p=0.014$). Cuando sumamos ambos incrementos, es decir los cambios entre día 1 y día 3, antes del tratamiento y al finalizarlo, apreciamos que las diferencias entre grupos son mayores (1.89 +/- 1.518 grupo PRP y 0.315 +/- 1.187 grupo AH, $p=0.02$).

En los ojos izquierdos el comportamiento es similar, excepto en que las diferencias entre D3-D2 no son estadísticamente significativas.

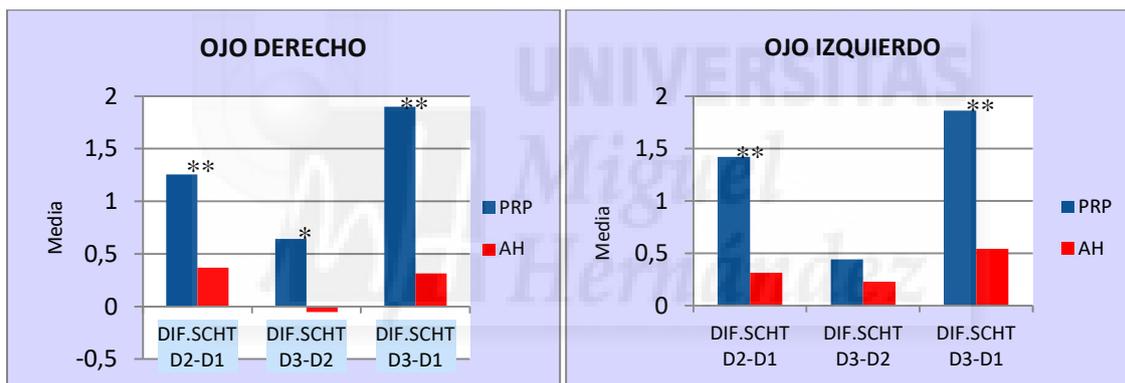
Una vez más esta evolución se aprecia mejor en la gráfica 10.

	Tratamiento	Nº Pacientes	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
DIF. SCHT OD D2-D1	PRP	39	1,2564	1,18584	,18989
	AH	38	,3684	,91300	,14811
DIF. SCHT OD D3-D2	PRP	39	,6410	1,40464	,22492
	AH	38	-,0526	,95712	,15526
DIF. SCHT OD D3-D1	PRP	39	1,8974	1,51822	,24311
	AH	38	,3158	1,18790	,19270
DIF. SCHT OI D2-D1	PRP	43	1,4186	1,78929	,27286
	AH	35	,3143	,96319	,16281
DIF. SCHT OI D3-D2	PRP	43	,4419	1,22090	,18618
	AH	35	,2286	1,08697	,18373
DIF. SCHT OI D3-D1	PRP	43	1,8605	2,06538	,31497
	AH	35	,5429	1,26823	,21437

Tabla 44. Estadísticas de grupo para cada tratamiento entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)

Prueba de muestras independientes										
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior	
DIF. SCHT OD D2-D1	Se asumen varianzas iguales	,626	,431	3,675	75	,001	,88799	,24163	,40664	1,36934
	No se asumen varianzas iguales			3,687	71,226	,001	,88799	,24082	,40784	1,36814
DIF. SCHT OD D3-D2	Se asumen varianzas iguales	,664	,418	2,526	75	,014	,69366	,27463	,14657	1,24074
	No se asumen varianzas iguales			2,538	67,178	,013	,69366	,27331	,14816	1,23916
DIF. SCHT OD D3-D1	Se asumen varianzas iguales	,304	,583	5,082	75	,002	1,58165	,31120	,96170	2,20160
	No se asumen varianzas iguales			5,098	71,687	,001	1,58165	,31022	,96319	2,20010
DIF. SCHT OI D2-D1	Se asumen varianzas iguales	8,290	,005	3,282	76	,002	1,10432	,33646	,43420	1,77444
	No se asumen varianzas iguales			3,475	66,774	,001	1,10432	,31774	,47006	1,73858
DIFF. SCHOL D3-D2	Se asumen varianzas iguales	,392	,533	,806	76	,423	,21329	,26474	-,31398	,74056
	No se asumen varianzas iguales			,815	75,355	,417	,21329	,26158	-,30776	,73434
DIF. SCHT OI D3-D1	Se asumen varianzas iguales	3,767	,056	3,299	76	,001	1,31761	,39934	,52226	2,11296
	No se asumen varianzas iguales			3,458	71,082	,001	1,31761	,38100	,55794	2,07728

Tabla 45. Comparación muestras independientes entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)



Gráfica 10. Tablas de la diferencia de medias entre los dos días de la evaluación (D2-1, D3-D2 y D3-D1) OD y OI.

6.6 TIEMPO DE ROTURA LAGRIMAL (FTBUT)

Para el análisis de la FTBUT volvemos a separar en OD y OI con el mismo número de ojos y la misma proporción con las variables anteriores.

En la tabla 46 vemos las diferencias entre las medias para cada día y grupo en cada ojo. Ambos grupos presentan medias similares y comparables entre sí (Tabla 47) antes del tratamiento (D1). Los ojos derechos tiene una media antes del tratamiento (11.41 +/- 2.1 grupo PRP y 11.08 +/- 1.6 grupo AH, $p=0.45$) similar a los ojos izquierdos (11.40 +/- 2.3 grupo PRP y 11.54 +/- 2.5 grupo AH, $p=0.79$). Apreciamos como los incrementos de los tiempos son mínimos aunque constantes en el grupo PRP en ambos ojos. En el grupo AH hay un incremento muy pequeño con cada día de evaluación para los ojos derechos, mientras que en los ojos izquierdos hay un descenso mínimo en el D2 (11.20 +/- 2.37) que se recupera parcialmente en el D3 (11.4 +/- 2.4). Estos cambios no son estadísticamente significativos para ambos ojos en ninguno de los tres días de evaluación.

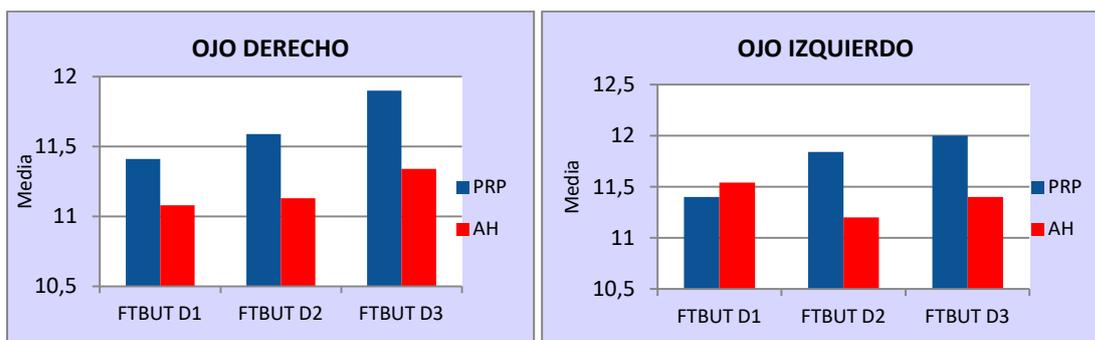
Variable	Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
FTBUT OD D1	PRP	39	11,41	2,136	,342
	AH	38	11,08	1,683	,273
FTBUT OD D2	PRP	39	11,59	2,446	,392
	AH	38	11,13	1,727	,280
FTBUT OD D3	PRP	39	11,90	2,245	,360
	AH	38	11,34	1,949	,316
FTBUT OI D1	PRP	43	11,40	2,342	,357
	AH	35	11,54	2,582	,436
FTBUTOI D2	PRP	43	11,84	2,609	,398
	AH	35	11,20	2,374	,401
FTBUTOI D3	PRP	43	12,00	2,225	,339
	AH	35	11,40	2,452	,414

Tabla 46. Estadísticas de grupo para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

		Prueba Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
FTBUT OD D1	Se asumen varianzas iguales	7,869	,006	,755	75	,453	,331	,439	-,543	1,206
	No se asumen varianzas iguales			,757	71,871	,452	,331	,438	-,541	1,204
FTBUT OD D2	Se asumen varianzas iguales	7,393	,008	,947	75	,347	,458	,484	-,505	1,422
	No se asumen varianzas iguales			,951	68,425	,345	,458	,482	-,503	1,419
FTBUT OD D3	Se asumen varianzas iguales	,041	,840	1,158	75	,251	,555	,480	-,400	1,511
	No se asumen varianzas iguales			1,160	74,029	,250	,555	,479	-,399	1,509
FTBUT OI D1	Se asumen varianzas iguales	,171	,680	-,264	76	,792	-,148	,558	-1,259	,964
	No se asumen varianzas iguales			-,262	69,531	,794	-,148	,564	-1,272	,977
FTBUT OI D2	Se asumen varianzas iguales	1,451	,232	1,117	76	,268	,637	,571	-,499	1,774
	No se asumen varianzas iguales			1,128	75,018	,263	,637	,565	-,488	1,763
FTBUT OI D3	Se asumen varianzas iguales	,391	,534	1,131	76	,261	,600	,530	-,456	1,656
	No se asumen varianzas iguales			1,120	69,563	,267	,600	,536	-,468	1,668

Tabla 47. Comparación de muestras independientes para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3.

Estos cambios son más visibles en la gráfica 11.



Gráfica 11. Tablas de medias de FTBUT del OD y OI para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

Cuando comparamos las diferencias interdía de evaluación para cada tratamiento apreciamos que los cambios de medias son pequeños entre ambos grupos (Tabla 48) y no estadísticamente significativos para los ojos derechos. Sí son significativos para los ojos izquierdos, entre D2-D1 (0.5+/- 0.6 grupo PRP y 0.02 +/- 0.7 grupo AH, p=0.02) y D3-D1 (0.6 +/- 0.8 grupo PRP y 0.18 +/-0.9 grupo AH, p= 0.16) (Tabla 49). Estas diferencias son mínimas entre ambos grupos ya que existe un sesgo en esta variable. Se excluyeron los ojos con FTBUT < 10 segundos para evitar la ojos secos evaporativos y así definir el objeto del estudio como ojos secos hiposecretorios. Por este motivo y por la cantidad de fluoresceína aplicada en la prueba, la media de FTBUT es mayor que en otros estudios (Vitali⁸⁶).

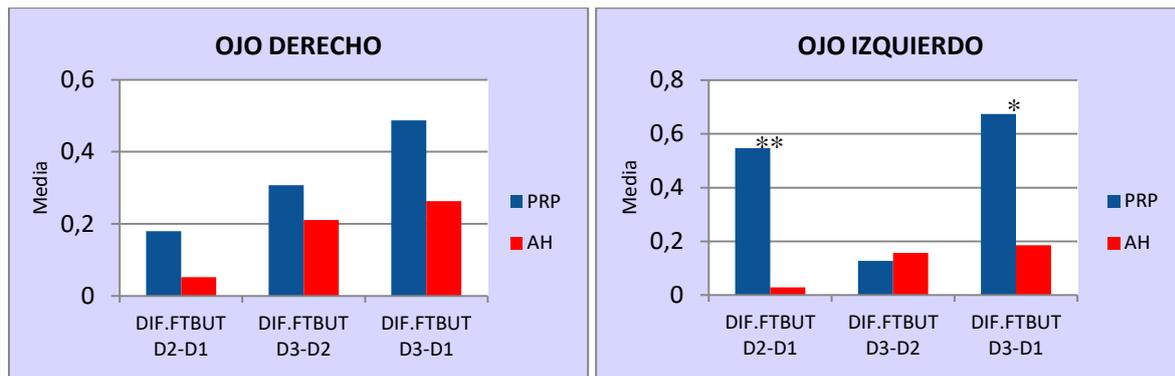
De nuevo estas diferencias son más visibles en la gráfica 12.

	Tratamiento	Nº Pacientes	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
DIF. FTBUT OD D2-D1	PRP	39	,1795	1,23271	,19739
	AH	38	,0526	,98495	,15978
DIF. FTBUT OD D3-D2	PRP	39	,3077	1,30089	,20831
	AH	38	,2105	1,29777	,21053
DIF. FTBUT OD D3-D1	PRP	39	,4872	1,29517	,20739
	AH	38	,2632	1,44604	,23458
DIF. FTBUT OI D2-D1	PRP	43	,5465	,67976	,10366
	AH	35	,0286	,74698	,12626
DIF. FTBUT OI D3-D2	PRP	43	,1279	,77990	,11893
	AH	35	,1571	,67270	,11371
DIF. FTBUT OI D3-D1	PRP	43	,6744	,83726	,12768
	AH	35	,1857	,90818	,15351

Tabla 48. Estadísticas de grupo para cada tratamiento entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)

		Prueba de muestras independientes								
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior	
DIF. FTBUT OD D2-D1	Se asumen varianzas iguales	1,433	,235	,498	75	,620	,12686	,25469	-,38052	,63423
	No se asumen varianzas iguales			,500	72,253	,619	,12686	,25395	-,37936	,63307
DIF. FTBUT OD D3_D2	Se asumen varianzas iguales	,062	,804	,328	75	,744	,09717	,29617	-,49284	,68718
	No se asumen varianzas iguales			,328	74,957	,744	,09717	,29617	-,49283	,68716
DIF. FTBUT OD D3-D1	Se asumen varianzas iguales	,077	,782	,717	75	,476	,22402	,31266	-,39883	,84687
	No se asumen varianzas iguales			,715	73,640	,477	,22402	,31311	-,39992	,84796
DIF. FTBUT OI D2-D1	Se asumen varianzas iguales	1,079	,302	3,202	76	,002	,51794	,16178	,19573	,84015
	No se asumen varianzas iguales			3,170	69,661	,002	,51794	,16337	,19209	,84379
DIF. FTBUT OI D3-D2	Se asumen varianzas iguales	,705	,404	-,175	76	,862	-,02924	,16707	-,36199	,30352
	No se asumen varianzas iguales			-,178	75,721	,859	-,02924	,16454	-,35697	,29850
DIF. FTBUT OI D3-D1	Se asumen varianzas iguales	,158	,692	2,468	76	,016	,48870	,19799	,09437	,88304
	No se asumen varianzas iguales			2,448	70,140	,017	,48870	,19967	,09049	,88692

Tabla 49. Comparación muestras independientes entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)



Gráfica 12. Diferencia de medias de FTBUT entre los dos días de la evaluación (D2-1, D3-D2 y D3-D1) del OD/OI.

6.7 TINCIÓN CONJUNTIVAL (TFCn)

Para el análisis de la TICn volvemos a separar por OD y OI con el mismo número de ojos y la misma proporción que con las variables anteriores.

En la tabla 50 vemos las diferencias entre las medias para cada día y grupo en cada ojo. Como se aprecia en la tabla 5, en el D1 las diferencias de las medias de ambos grupos de los ojos derechos son marcadas en el grupo PRP y significativas (3.13 ± 1.28 grupo PRP y 1.74 ± 1.1 grupo AH, $p=0.01$) lo que hace que ambos grupos no sean iguales antes del inicio del tratamiento. También se ve como las media del grupo PRP se reduce tras el tratamiento, tanto en el día 2 (D2) (1.23 ± 1.2 grupo PRP y 1.55 ± 1.05 grupo AH, $p=0.226$) como en el D3 (0.64 ± 0.93 grupo PRP y 1.425 ± 1.08 grupo AH, $p=0.01$). EL comportamiento de los ojos izquierdos es similar.

Al comparar estos cambios de medias entre ambos grupos, vemos que no son estadísticamente significativos en el D2 pese al descenso del grupo PRP frente al AH. Esto se debe a que inicialmente el grupo PRP partía de puntuaciones superiores y con el descenso tras los primeros días de tratamiento (D2) se aproxima a las medias del grupo AH. En el día 3 las diferencias vuelven a ser significativas.

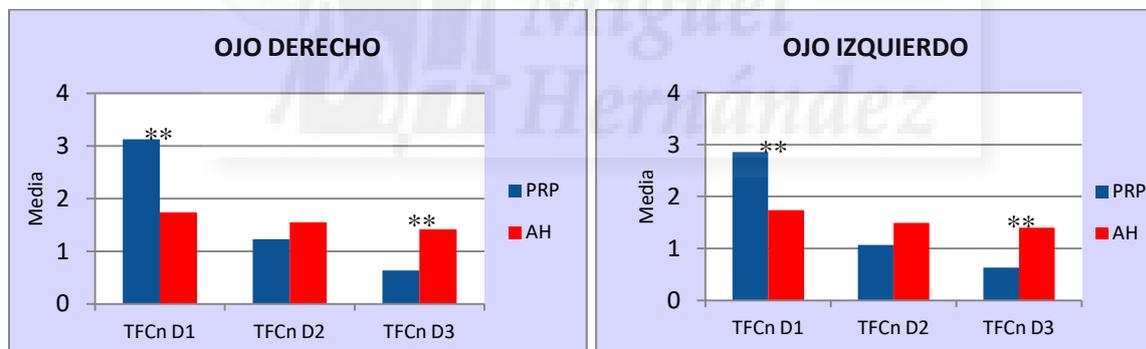
Variable	Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
TFCn OD D1	PRP	39	3,13	1,281	,205
	AH	38	1,74	1,107	,180
TFCn OD D2	PRP	39	1,23	1,245	,199
	AH	38	1,55	1,058	,172
TFCn OD D3	PRP	39	,64	,932	,149
	AH	38	1,42	1,081	,175
TFCn Oi D1	PRP	43	2,86	1,226	,187
	AH	35	1,74	1,336	,226
TFCn Oi D2	PRP	43	1,07	1,121	,171
	AH	35	1,49	,981	,166
TFCn Oli D3	PRP	43	,63	,900	,137
	AH	35	1,40	1,117	,189

Tabla 50. Estadísticas de grupo para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

		Prueba Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
TFCn OD D1	Se asumen varianzas iguales	1,098	,298	5,093	75	,001	1,391	,273	,847	1,936
	No se asumen varianzas iguales			5,103	73,959	,000	1,391	,273	,848	1,935
TFCn OD D2	Se asumen varianzas iguales	1,165	,284	-1,221	75	,226	-,322	,264	-,847	,203
	No se asumen varianzas iguales			-1,224	73,642	,225	-,322	,263	-,846	,202
TFCn OD D3	Se asumen varianzas iguales	,661	,419	-3,394	75	,001	-,780	,230	-1,238	-,322
	No se asumen varianzas iguales			-3,388	72,795	,001	-,780	,230	-1,239	-,321
TFCn OI D1	Se asumen varianzas iguales	,000	,999	3,846	76	,001	1,118	,291	,539	1,696
	No se asumen varianzas iguales			3,812	69,981	,000	1,118	,293	,533	1,702
TFCn OI D2	Se asumen varianzas iguales	,164	,686	-1,722	76	,089	-,416	,242	-,897	,065
	No se asumen varianzas iguales			-1,746	75,570	,085	-,416	,238	-,890	,059
TFCn OI D3	Se asumen varianzas iguales	1,036	,312	-3,382	76	,001	-,772	,228	-1,227	-,317
	No se asumen varianzas iguales			-3,308	64,810	,002	-,772	,233	-1,238	-,306

Tabla 51. Comparación de muestras independientes para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3.

Estos descensos de la puntuación son más visibles en la gráfica 13.



Gráfica 13. Tablas de medias de TFCn del OD y OI para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3.

Para valorar el efecto del tratamiento independientemente de sus posiciones iniciales, se compararon los cambios de las medias entre dos días de evaluación (Tabla 52). Así vemos como el cambio de media entre el día 2 y el día 1 (D2-D1) en el grupo PRP de los ojos derechos, es superior al del grupo AH (1,89 +/-1,16 grupo PRP y 0,1842 +/- 0,456 grupo AH, $p=0,02$). Al comparar estas diferencias de medias, si son significativas (Tabla 53) en todos los períodos de comparación (D3-D2 y D3-D1), tanto para ojos derechos como ojos izquierdos. Cuando comparamos el cambio de medias entre antes del tratamiento y al finalizar el estudio apreciamos mejor la diferencia entre tratamientos (2,48 +/-1,12 grupo PRP y 0,31 +/- 0,57 grupo AH, $p=0,01$) para los ojos derechos y para los ojos izquierdos (2,23 +/-0,94 grupo PRP y 0,34 +/- 0,76 grupo AH, $p=0,01$).

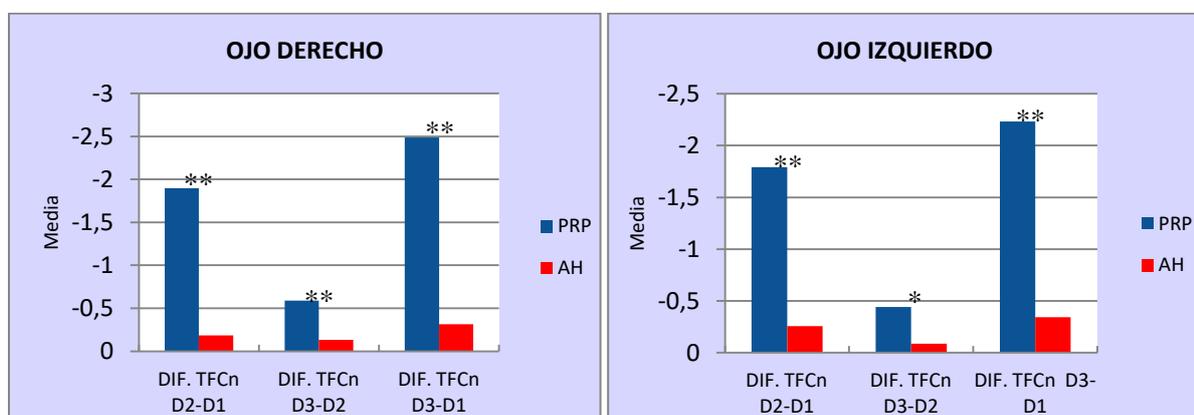
Una vez más, estas diferencias son más valorables visualmente en la gráfica 14.

	Tratamiento	Nº Pacientes	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
DIF. TFCn OD D2-D1	PRP	39	-1,8974	1,16517	,18658
	AH	38	-,1842	,45650	,07405
DIF. TFCn OD D3-D2	PRP	39	-,5897	,84970	,13606
	AH	38	-,1316	,41401	,06716
DIF. TFCn OD D3-D1	PRP	39	-2,4872	1,12090	,17949
	AH	38	-,3158	,57447	,09319
DIF. TFCn OI D2-D1	PRP	43	-1,7907	,98942	,15089
	AH	35	-,2571	,74134	,12531
DIF. TFCn OI D3-D2	PRP	43	-,4419	,70042	,10681
	AH	35	-,0857	,44533	,07527
DIF. TFCn OI D3-D1	PRP	43	-2,2326	,94711	,14443
	AH	35	-,3429	,76477	,12927

Tabla 52. Estadísticas de grupo para cada tratamiento entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
DIF. TFCn OD D2-D1	Se asumen varianzas iguales	15,259	,000	-8,453	75	,002	-1,71323	,20268	-2,11699	-1,30946
	No se asumen varianzas iguales			-8,535	49,650	,002	-1,71323	,20074	-2,11649	-1,30997
DIF. TFCn OD D3-D2	Se asumen varianzas iguales	25,940	,000	-2,995	75	,004	-,45816	,15297	-,76290	-,15343
	No se asumen varianzas iguales			-3,020	55,396	,004	-,45816	,15173	-,76220	-,15413
DIF. TFCn OD D3-D1	Se asumen varianzas iguales	22,617	,000	-	75	,001	-2,17139	,20380	-2,57738	-1,76540
	No se asumen varianzas iguales			-	56,995	,001	-2,17139	,20224	-2,57637	-1,76641
DIF. TFCn OI D2-D1	Se asumen varianzas iguales	5,941	,017	-7,594	76	,001	-1,53355	,20194	-1,93576	-1,13135
	No se asumen varianzas iguales			-7,819	75,531	,001	-1,53355	,19613	-1,92423	-1,14288
DIF. TFCn OI D3-D2	Se asumen varianzas iguales	18,040	,000	-2,608	76	,011	-,35615	,13656	-,62813	-,08416
	No se asumen varianzas iguales			-2,725	72,107	,008	-,35615	,13067	-,61663	-,09566
DIF. TFCn OI D3-D1	Se asumen varianzas iguales	3,779	,056	-9,538	76	,001	-1,88970	,19812	-2,28430	-1,49511
	No se asumen varianzas iguales			-9,749	75,998	,001	-1,88970	,19383	-2,27575	-1,50365

Tabla 53. Comparación muestras independientes entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)



Gráfica 14. Diferencia de medias de TFCn entre los dos días de la evaluación (D2-D1, D3-D2 y D3-D1) del OD/OI.

6.8 TINCIÓN CORNEAL (TFCo)

Al igual que para la TFCn, para la TFCo volvemos a separar por OD y OI con el mismo número de ojos y la misma proporción.

En la tabla 54 vemos las diferencias de medias para cada día y grupo en cada ojo. Al igual que en la tinción conjuntival, estas diferencias de las medias de ambos grupos son marcadas y significativas (Tabla 55) y por lo tanto que ambos grupos no son iguales antes del inicio del tratamiento en los ojos derechos (3.03 +/- 1.18 grupo PRP y 1.82 +/- 0.98 grupo AH, $p=0.01$) ni en los izquierdos, que tienen un comportamiento similar. Esta diferencia es aún más marcada en la tinción corneal que en la conjuntival. Vemos además como las medias del grupo PRP se reducen tras el tratamiento, tanto en el día 2 como en el día 3 (0.72 +/- 0.79 grupo PRP y 1.50 +/- 0.95 grupo AH, $p =0.01$). Siendo estos los datos de los ojos derechos, los ojos izquierdos tienen un comportamiento similar

Al comparar estos cambios de medias entre ambos grupos, vemos que no son estadísticamente significativos en el D2 de los ojos derechos, pese al descenso del grupo PRP frente al AH. Esto se debe una vez más a que inicialmente el grupo PRP partía de puntuaciones superiores y con el descenso tras los primeros días de tratamiento (D2) se aproxima a las medias del grupo AH. En el día 3 las diferencias vuelven a ser significativas.

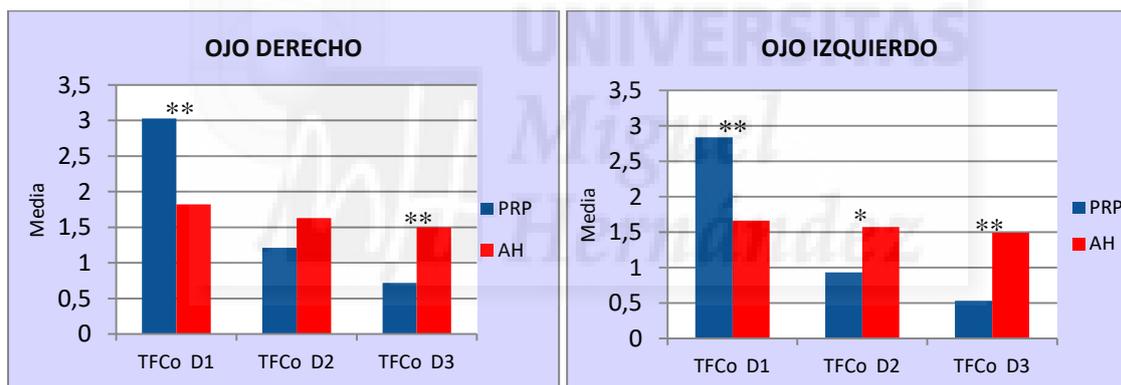
Variable	Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
TFCo OD D1	PRP	39	3,03	1,181	,189
	AH	38	1,82	,982	,159
TFCo OD D2	PRP	39	1,21	1,056	,169
	AH	38	1,63	,942	,153
TFCo OD D3	PRP	39	,72	,999	,160
	AH	38	1,50	,952	,154
TFCo OI D1	PRP	43	2,84	1,214	,185
	AH	35	1,66	1,027	,174
TFCo OI D2	PRP	43	,93	1,055	,161
	AH	35	1,57	1,092	,185
TFCo OI D3	PRP	43	,53	,827	,126
	AH	35	1,49	,853	,144

Tabla 54. Estadísticas de grupo para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

		Prueba Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
TFCo OD D1	Se asumen varianzas iguales	3,745	,057	4,881	75	,001	1,210	,248	,716	1,704
	No se asumen varianzas iguales			4,893	73,220	,001	1,210	,247	,717	1,703
TFCo OD D2	Se asumen varianzas iguales	1,853	,177	-1,868	75	,066	-,426	,228	-,881	,028
	No se asumen varianzas iguales			-1,871	74,433	,065	-,426	,228	-,881	,028
TFCo OD D3	Se asumen varianzas iguales	,006	,941	-3,516	75	,001	-,782	,222	-1,225	-,339
	No se asumen varianzas iguales			-3,519	74,964	,001	-,782	,222	-1,225	-,339
TFCo OI D1	Se asumen varianzas iguales	2,154	,146	4,571	76	,000	1,180	,258	,666	1,694
	No se asumen varianzas iguales			4,650	75,867	,000	1,180	,254	,675	1,686
TFCo OI D2	Se asumen varianzas iguales	,253	,616	-2,627	76	,010	-,641	,244	-1,127	-,155
	No se asumen varianzas iguales			-2,618	71,762	,011	-,641	,245	-1,130	-,153
TFCo OI D3	Se asumen varianzas iguales	,056	,814	-4,981	76	,000	-,951	,191	-1,331	-,571
	No se asumen varianzas iguales			-4,964	71,853	,000	-,951	,192	-1,333	-,569

Tabla 55. Comparación de muestras independientes para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3.

Los cambios de las medias de las puntuaciones son más visibles en la gráfica 15.



Gráfica 15. Tablas de medias de TFCo del OD y OI para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

Como hemos hecho en las variables anteriores, pasamos a comparar el efecto del tratamiento independientemente de sus posiciones iniciales. Para ello, se compararon los cambios de las medias entre dos días de evaluación (Tabla 56). Apreciamos como el cambio de media entre el día 2 y el día 1 (D2-D1) en el grupo PRP es superior al del grupo AH (1,82 +/- 0,94 grupo PRP y 0,18 +/- 0,45 grupo AH, $p=0,01$). Estas diferencias de medias sí son significativas (Tabla 57) en todos los períodos de comparación (D3-D2 y D3-D1), tanto para ojos derechos como es el ejemplo anterior, como ojos izquierdos.

Cuando comparamos el cambio de medias antes del tratamiento y al finalizar el estudio apreciamos mejor la diferencia entre tratamientos (2,3 +/- 1,10 grupo PRP y 0,31 +/- 0,47 grupo AH, $p=0,01$) para los ojos derechos y para los ojos izquierdos (2,30 +/- 0,91 grupo PRP y 0,17 +/- 0,45 grupo AH, $p=0,01$).

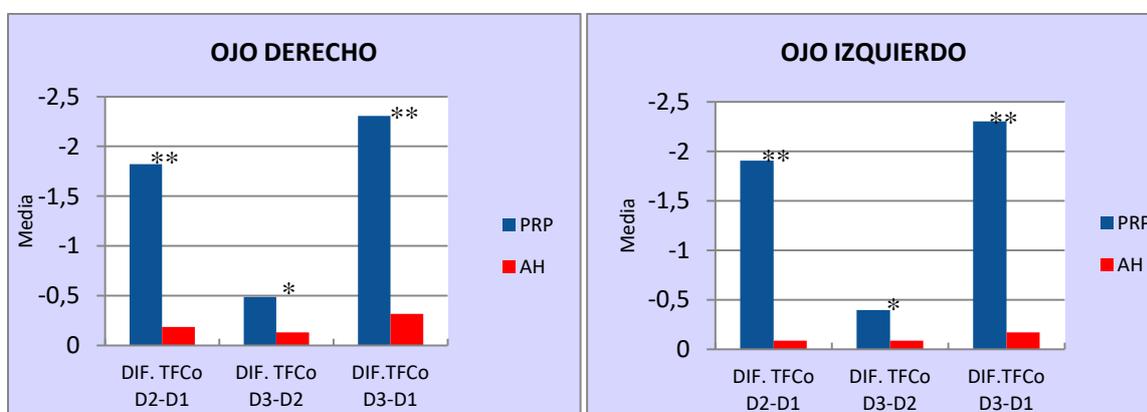
Una vez más, estas diferencias son más valorables visualmente en la gráfica 16.

	Tratamiento	Nº Pacientes	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
DIF. TFCo OD D2-D1	PRP	39	-1,8205	,94233	,15089
	AH	38	-,1842	,45650	,07405
DIF. TFCo OD D3-D2	PRP	39	-,4872	,82308	,13180
	AH	38	-,1316	,57756	,09369
DIF. TFCo OD D3-D1	PRP	39	-2,3077	1,10391	,17677
	AH	38	-,3158	,47107	,07642
DIF. TFCo OI D2-D1	PRP	43	-1,9070	1,01920	,15543
	AH	35	-,0857	,28403	,04801
DIF. TFCo OI D3-D2	PRP	43	-,3953	,72832	,11107
	AH	35	-,0857	,50709	,08571
DIF. TFCo OI D3-D1	PRP	43	-2,3023	,91378	,13935
	AH	35	-,1714	,45282	,07654

Tabla 56. Estadísticas de grupo para cada tratamiento entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)

		Prueba de muestras independientes								
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
DIF. TFCo OD D2-D1	Se asumen varianzas iguales	6,065	,016	-9,656	75	,001	-1,63630	,16946	-1,97389	-1,29872
	No se asumen varianzas iguales			-9,735	55,219	,001	-1,63630	,16809	-1,97312	-1,29948
DIF. TFCo OD D3-D2	Se asumen varianzas iguales	7,519	,008	-2,189	75	,032	-,35560	,16243	-,67918	-,03202
	No se asumen varianzas iguales			-2,199	68,218	,031	-,35560	,16171	-,67826	-,03294
DIF. TFCo OD D3-D1	Se asumen varianzas iguales	12,088	,001	-	75	,001	-1,99190	,19434	-2,37905	-1,60476
	No se asumen varianzas iguales			-	51,677	,001	-1,99190	,19258	-2,37840	-1,60541
DIF. TFCo OI D2-D1	Se asumen varianzas iguales	20,774	,000	-	76	,001	-1,82126	,17783	-2,17543	-1,46709
	No se asumen varianzas iguales			-	49,837	,001	-1,82126	,16267	-2,14802	-1,49450
DIF. TFCo OI D3-D2	Se asumen varianzas iguales	11,276	,001	-2,129	76	,037	-,30963	,14545	-,59932	-,01995
	No se asumen varianzas iguales			-2,207	74,348	,030	-,30963	,14030	-,58916	-,03011
DIF. TFCo OI D3-D1	Se asumen varianzas iguales	15,826	,000	-	76	,001	-2,13090	,16932	-2,46813	-1,79367
	No se asumen varianzas iguales			-	63,972	,001	-2,13090	,15899	-2,44851	-1,81328

Tabla 57. Comparación muestras independientes entre los diferentes días (D2-D1, D3-D2 y D3-D1)



Gráfica 16. Tablas de la diferencia de medias de TFCo entre los dos días de evaluación (D2-1, D3-D2 y D3-D1) del OD y OI.

6.9 CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL (CIC)

Las citologías de impresión se realizaron en el ojo más grave de cada paciente. Para ello se valoraba la TFCn, TFCo, HPR. Sólo se incluyeron 29 pacientes para el estudio de esta variable (14 del grupo PRP y 15 del grupo AH) debido a que se produjo un fallo de la técnica de fijación y muchas muestras no eran valorables a la hora del recuento. Sólo se pudieron incluir las de aquellos cuyas muestras de antes y después del tratamiento se pudieron evaluar.

Se valoró la densidad de células caliciformes por campo y se anotó su cantidad.

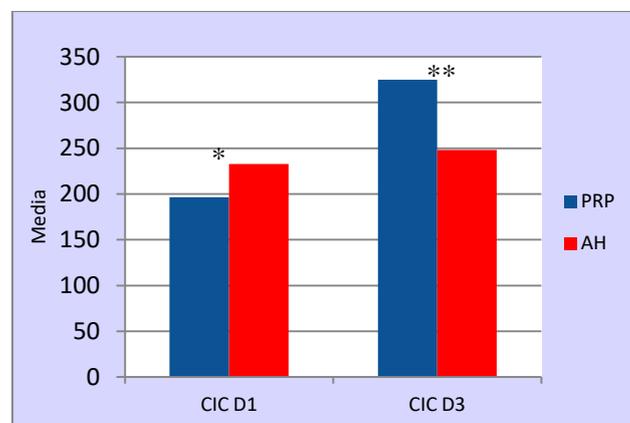
Vemos como los pacientes del grupo PRP presentan una densidad media más baja (Tabla 58). Tras los 30 días de tratamiento esta densidad media mejora en ambos grupos aunque de manera más significativa en el grupo PRP (Tabla 59). Estos cambios se describen en la gráfica 17.

Variable	Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
CIC D1	PRP	14	196,426	88.703	23,7177
	AH	15	232,733	79.036	21.2050
CIC D3	PRP	14	324.858	96.108	25.6971
	AH	15	248,067	76.296	20.3963

Tabla 58. Estadísticas de grupo para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3

		Prueba Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
CIC D1	Se asumen varianzas iguales	,003	,957	-3,106	27	,040	-36,307	44,2476	-228,2362	-46,6590
	No se asumen varianzas iguales			-3,120	26,929	,040	-36,307	44,0541	-227,8503	-47,0449
CIC D3	Se asumen varianzas iguales	,033	,858	2,162	27	,004	76,791	51,1974	215,6182	5,7151
	No se asumen varianzas iguales			2,164	26,944	,004	76,791	51,1496	215,7062	5,6271

Tabla 59. Comparación de muestras independientes de las CIC para cada tratamiento en los días D1, D2 y D3.



Gráfica 17. Cambios medios a los 30 días de tratamiento con PRP y AH en los valores de densidad de células caliciformes conjuntivales.

6.10 CORRELACION ENTRE VARIABLES PRE Y POST TRATAMIENTO

GRUPO PRP

Se expone la correlación de las diferentes variables (tabla 60) antes y tras el tratamiento. Las únicas correlaciones buenas son las que hacen referencia al cambio de una variable respecto a su estado inicial para la BCVA, HPR, OSM, la TFCn y TFCo. Lo que se traduce en que aquellas variables que tenían valores más altos inicialmente (estaban peor) tuvieron una mayor reducción al final. No existen correlaciones importantes entre las diferentes variables.

VARIABLES	OD	OI
OSDI-OSDI	r= -0.45, p=0.002	r= -0.45, p=0.002
OSDI-HPR	r= 0.35, p=0.032	r= -0.54, p=0.001
OSDI-BCVA	r= 0.45, p=0.003	
OSDI-OSM	r= 0.37, p=0.002	r= 0.35, p=0.018
BCVA-BCVA	r= -0.70, p=0.001	r= -0.65, p=0.001
BCVA-HPR	r= 0.49, p=0.002	r= 0.40, p=0.008
BCVA-TICn	r= 0.46, p=0.001	
BCVA-TICo	r= 0.46, p=0.003	r= 0.48, p=0.007
HPR-HPR	r= -0.76, p=0.001	r= -0.69, p=0.001
HPR-TICo	r= -0.45, p=0.005	r= -0.41, p=0.005
OSM-OSM	r= -0.71, p=0.001	r= -0.75, p=0.001
SCHT-TICo	r= 0.42, p=0.007	r= 0.45, p=0.002
SCHT-FTBUT		r= -0.46, p=0.002
FTBUT-FTBUT		r= -0.40, p=0.008
TFCn-TFCn	r= -0.70, p=0.001	r= -0.68, p=0.001
TFCo-TFCo	r= -0.74, p=0.001	r= -0.73, p=0.001

Tabla 60. Correlación de las diferentes variables antes (D1) y tras el tratamiento (D3) con PRP. En el caso de OSDI-OSDI y para incluirlo en la misma tabla, se repite en ambos ojos puesto que se trata de pacientes y no de ojos. Se describe el índice de correlación de Pearson con su significancia. Se destacan aquellas correlaciones mayores de +/- 0.65. Los cuadros vacíos son correlaciones no estadísticamente significativas por lo que no se describen. El resto de correlaciones no descritas tampoco eran significativas. Con fondo azul de destacan la correlaciones “buenas” (≥ 0.6 y < 0.8)

GRUPO AH

Se expone la correlación de las diferentes variables (tabla 61) antes y tras el tratamiento. No se aprecian correlaciones “buenas” (≥ 0.6 y < 0.8) en ninguna variable ni siquiera entre una misma variable, como ocurre en el grupo PRP.

VARIABLES	OD	OI
OSDI-OSDI	r= -0.48, p=0.002	r= -0.48, p=0.003
TICn-TICn		r= -0.54, p=0.001
HPR-TICn		r= -0.46, p=0.005
TICn-TICo		r= -0.49, p=0.005
HPR-SCHT		r= -0.41, p=0.013

Tabla 61. Correlación de las diferentes variables antes (D1) y tras el tratamiento (D3) con PRP. En el caso de OSDI-OSDI y para incluirlo en la misma tabla, se repite en ambos ojos puesto que se trata de pacientes y no de ojos. Se describe el índice de correlación de Pearson con su significancia. Se destaca aquellas correlaciones mayores de +/- 0.65. Los cuadros vacíos son correlaciones no estadísticamente significativas por lo que no se describen. El resto de correlaciones no descritas tampoco eran significativas. No se aprecian ningunas correlaciones “buenas” (≥ 0.6 y < 0.8)

6.11 CORRELACION ENTRE VARIABLES DIAGNÓSTICAS

Se establecen las correlaciones entre las distintas técnicas diagnósticas empleadas en el estudio, no encontrándose ninguna correlación “buena” (≥ 0.6 y < 0.8). Estos resultados coinciden con los trabajos de correlación como el ECSGSS⁸⁶ en el que se encontraban pobres correlaciones entre variables como FBTUT, SCHT o tinciones.

VARIABLES	OD	OI
OSDI-HPR	r= 0.35, p=0.032	r= 0.53, p<0.001
OSDI-BCVA	r= -0.54, p<0.001	r= -0.50, p=0.001
OSDI- OSM	r= 0.37, p=0.002	r= 0.35, p=0.018
OSDI-TICn	r= 0.40, p=0.011	r= 0.39, p=0.011
OSDI-TICo	r= 0.43, p=0.007	r= 0.39, p=0.010
BCVA-HPR	r= -0.49, p=0.001	r= -0.61, p<0.001
BCVA-TICn	r= -0.60, p<0.001	r= -0.51, p=0.001
BCVA-TICo	r= -0.54, p<0.001	r= -0.64, p<0.001
BCVA-SCHT	r= 0.60, p<0.001	r= 0.63, p<0.001
HPR-TICn	r= 0.48, p=0.002	r= 0.45, p=0.002
HPR- OSM	r= 0.31, p=0.059	r= 0.34, p=0.026
HPR-SCHT	r= -0.52, p=0.001	r= -0.43, p=0.004
HPR-TICo	r= 0.34, p=0.036	r= 0.47, p=0.002
OSM-TICn	r= 0.39, p=0.015	r= 0.54, p<0.001
OSM-TICo	r= 0.23, p=0.164	r= 0.44, p=0.003
OSM-SCHT	r= -0.48, p=0.003	r= -0.57, p<0.001
SCHT-TICo	r= -0.53, p=0.001	r= -0.37, p=0.021
SCHT-TICn	r= -0.49, p=0.002	r= -0.47, p=0.001
SCHT- FTBUT	r= 0.47, p=0.002	r= 0.59, p<0.001
SCHT-OSDI	r= -0.61, p<0.001	r= -0.44, p=0.004

Tabla 62. Correlación entre las diferentes variables, es decir entre las diferentes técnicas diagnósticas. Esta comparación no es uno de los objetivos del estudio. No se aprecian correlaciones entre las diferentes técnicas diagnósticas excepto entre BCVA y SCHT.



7. DISCUSIÓN





A lo largo de esta obra se ha destacado la importancia del ojo seco como enfermedad. Esta importancia se basa no solo en su elevada prevalencia, el aumento progresivo de su incidencia o sus consecuencias económicas, sino principalmente en las repercusiones en la calidad de vida del paciente.

El uso de lágrimas artificiales (LA) sigue siendo la base del tratamiento de esta enfermedad. Pese a que no existe evidencia científica de la superioridad entre los diferentes grupos de preparados comerciales en base a las características químicas del principio activo, las basadas en ácido hialurónico son las más empleadas.

Pero estas lágrimas artificiales no dejan de ser un producto farmacéutico que intenta simular las propiedades de las verdaderas lágrimas de nuestros ojos, quedando lejos de parecerse a éstas. Intentan reproducir su composición hídrica así como sus características de fluidez, osmolaridad, pH y tensión superficial, pero su origen las sigue manteniendo muy diferentes de las lágrimas humanas.

El origen de la lágrima es el plasma en su paso por las diferentes glándulas responsables de su producción. La similitud entre el plasma y las lágrimas es grande, por lo que parece razonable pensar que pueden tener efectos comparables en la superficie ocular. Más interesante es conocer si estos efectos comparables pueden ayudar a mejorar la enfermedad propia de la película lagrimal, la enfermedad del ojo seco.

Esta hipótesis se basa en estudios clínicos que sí han demostrado la superioridad del suero autólogo frente a LA en cuanto a la mejoría de los síntomas¹⁴³ (OSDI) pero en los que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las tinciones corneales (TICo) ni en el tiempo de rotura lagrimal (FTBUT). Por su parte Celebi AR¹⁴⁴ también encontró diferencias estadísticamente significativas entre el SA y LA en el OSDI y FTBUT pero no así en el test de Schirmer (SCHAT), TICo ni TICn (tinción conjuntival).

A diferencia del SA, el plasma rico en plaquetas (PRP) aporta una mayor concentración de plaquetas y con su liberación, de factores de crecimiento. En el estudio observacional de Alió et al¹³⁸ se observó una mejoría en los pacientes con EOS tratados con PRP en su sintomatología, hiperemia conjuntival (HPR), TICo e impresión citológica (CIC). Estos dos últimos parámetros se relacionan con una regeneración tisular que pudiese relacionarse con el beneficio regenerativo del PRP frente al SA. López-Plandolit¹³⁹ también encontró mejoría en la clínica y en el SCHAT pero la diferencia en el cambio de la metaplasia conjuntival no fue estadísticamente significativa.

Estos precedentes, junto a que no se han encontrado ensayos clínicos controlados en los que se compare el efecto del PRP en la EOS hiposecretor frente a lágrimas artificiales de hialuronato sódico, son los que motivan la realización de este trabajo y cuyos resultados se desglosan a continuación por variables analizadas.

7.1 CUESTIONARIO DE SÍNTOMAS OSDI

Los síntomas son parte esencial de la EOS. Forman parte de su definición, son necesarios para el diagnóstico y deben ser objetivo fundamental del tratamiento pues repercuten en la calidad de vida del paciente.

Llama la atención las medias OSDI previas al tratamiento (59.02 +/- 17.85 grupo PRP y 52.82 +/- 19.74 grupo AH). Son puntuaciones acordes a la gravedad de otras variables como SCHAT o las tinciones y similares a las descritas por Alió et al¹³⁸. Estos valores medios antes y después del tratamiento se corresponden con ojos secos severos, pese al importante descenso, sobretudo en el grupo PRP, y a la mejoría clínica experimentada por los pacientes. La interpretación a esta situación sería que mientras la respuesta de las preguntas asociadas al dolor y molestias mejoran, las referidas a la agudeza visual (preguntas 4 y 5) no cambian significativamente por la edad poblacional y su asociación con alteraciones visuales. Además existe subjetividad respecto a la interpretación de síntomas que es atribuible a la población de estudio y sus características de enfermedad.

Cuando observamos las respuestas de los pacientes tras los dos períodos de tratamiento, apreciamos una diferencia en cuanto a la mejoría de estos síntomas. En el grupo de PRP sólo cuatro pacientes (9%) no refirieron mejoría a los 15 días (D2) de evaluación mientras que en el grupo AH fueron casi un 60%. Los pacientes del grupo PRP presentan una media de puntuación del cuestionario mayor al inicio (59.02 +/- 17.85 grupo PRP y 52.82 +/- 19.74 grupo AH) aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas. Estas diferencias sí son significativas al segundo día (D2) donde la media del grupo PRP es ya inferior (PRP 42.09 +/- 18.07 vs AH 50.54 +/- 19.2) pese a partir de niveles superiores. Esta reducción de las medias se mantiene al tercer día (D3) de manera significativa a favor del grupo PRP (PRP 34.16 +/- 17.56 vs AH 47.26 +/- 18.91). Estos resultados son similares a los descritos por Alió¹³⁸ y López-Plandolit¹³⁹ quienes registraron descensos de las puntuaciones en los cuestionarios de síntomas del 89% y 75%, respectivamente.

Cuando comparamos las medias de las diferencias entre dos días podemos observar cómo varían estas medias independientemente de su valor inicial (tabla 28). Así, apreciamos como la reducción de la media tras los primeros 15 días de tratamiento (D2-D1) es mayor que tras los siguientes 15 días (D3-D2) en el grupo PRP. Esto indica que la mayor parte de la mejoría de síntomas se produce en los primeros 15 días de tratamiento. En el grupo AH el descenso es menor y similar en los primeros 15 días que en los posteriores. De nuevo, esta reducción entre los dos períodos de observación es mayor y estadísticamente significativa en el grupo PRP.

Observando estos resultados, podemos decir que la mejoría de los síntomas en los pacientes tratados con PRP es significativamente mayor que en los tratados con AH y que además es mayor en los primeros 15 días. La razón podría estar en que el efecto regenerativo del PRP es más activo en los primeros días por la estabilidad biológica de las plaquetas y los factores de crecimiento, afectado por el paso de los días así como por su forma de conservación.

Esta mejoría de los síntomas en pacientes tratados con derivados hematológicos frente a LA es similar a la encontrada por Celebi AR¹⁴⁴, Kojima¹⁴².

Por su parte, los pacientes tratados con AH también refieren mejoría de la sintomatología aunque en menor magnitud e independiente del tiempo que el frasco lleve abierto, como corresponde a su naturaleza química. Cabe destacar, como se indicó en la tabla 20, que cerca del 86% de los pacientes llevaban algún tipo de tratamiento con LA previo a la inclusión en el estudio. Esto justifica, junto a la falta de respuesta del propio tratamiento, la escasa mejoría de los síntomas en el grupo AH.

En el grupo PRP no se reportaron empeoramientos de la sintomatología en ninguno de los días durante el tratamiento. En el grupo AH, 7 pacientes (17% de los pacientes del grupo) sí

marcaron un empeoramiento en el D2, aunque en el D3 tan sólo 1 paciente presentaba una puntuación OSDI peor que la inicial.

7.2 AGUDEZA VISUAL CORREGIDA (BCVA)

La agudeza visual es una de las variables que se alteran en la EOS y también forma parte de su definición. Fluctuaciones de la estabilidad de la película lagrimal pueden generar cambios temporales durante el período interparpadeo de la AV. Mientras que daños del epitelio corneal central la pueden disminuir de manera continuada mientras no se resuelva.

Al observar la estadística de grupo (Tabla 30) se aprecia que en el primer día (D1) la BCVA medida en ambos ojos, es mayor en el grupo AH que PRP, aunque esta diferencia no es significativa (en los ojos derechos es de 0.64 +/- 0.27 grupo PRP y 0.74 +/- 0.26 grupo AH, $p=0.089$. Mientras que en los ojos izquierdos es de 0.66 +/- 0.25 grupo PRP y 0.74 +/- 0.23, $p=0.196$ grupo AH). Podríamos relacionar esta diferencia de AV con la mayor puntuación en la TFCo del grupo PRP. Una mayor afectación del epitelio corneal influye en la BCVA.

Esta media aumenta de manera no estadísticamente significativa en el D2 y de manera más marcada en el grupo PRP, pues mejoran 1 línea en la escala decimal en ambos ojos (0.75 +/- 0.22 en OD y 0.78 +/- 0.23 en OI). Por su parte, el incremento en el grupo AH es muy pequeño (0.75 +/- 0.21 en OD y 0.75 +/- 0.21 en OI). En el D3 esta diferencia se mantiene de manera no estadísticamente significativa en ambos grupos aunque, una vez más, es mayor en el grupo PRP pese a ser de menor magnitud (0.80 +/- 0.20 en OD/0.82 +/- 0.19 en OI del grupo PRP frente a 0.77 +/- 0.20 en OD/ 0.77 +/- 0.20 en OI del grupo AH). El aumento de medias es mayor en el grupo PRP y sobre todo entre D1 y D2. Pese a todo, estas diferencias no son estadísticamente significativas, posiblemente por las diferencias entre grupos en el D1.

Analizamos a continuación los cambios en las medias entre los diferentes días en cada grupo para minimizar el efecto de la diferencia en el D1.

Si observamos los ojos derechos, vemos que tras 15 días de tratamiento la BCVA mejora significativamente en el grupo PRP frente al AH (0.11 +/-0.11 grupo PRP y 0.01 +/- 0.04 grupo AH, $p= 0.003$) y que esta mejora se mantiene tras los siguientes 15 días (0.04 +/-0.09 grupo PRP y 0.02 +/- 0.06 grupo AH, $p = 0.285$) aunque de menor magnitud. El incremento de BCVA tras 30 días de tratamiento sí es mayor en grupo PRP y de manera significativa (0.15 +/- 0.16 grupo PRP y 0.03 +/- 0.08 grupo AH, $p=0.004$). Los cambios de los ojos izquierdos tienen un comportamiento similar.

En los resultados encontrados por Alió¹³⁸ solo el 28% de los pacientes tratados con PRP registraron una mejoría de la AV se ≥ 1 línea. Noble¹⁴¹ y Urzua¹⁴³ tampoco encontraron mejorías significativas de la AV en pacientes tratados con suero autólogo frente a lágrimas artificiales. La diferencia con este estudio estriba en el mayor número de pacientes incluidos, pero sobre todo en la afectación central de la córnea. Si esta afectación no es central, no debería influir en la BCVA. En estos estudios, sí hay mejoría de tinciones corneales sin cambios de la BCVA, por lo que es de esperar que esta afectación no fuese predominantemente central.

7.3 HIPEREMIA CONJUNTIVAL (HPR)

La hiperemia conjuntival es un reflejo de la vasodilatación vascular secundaria a un aumento de mediadores de la inflamación que se encuentran aumentados en ciertas fases de la EOS. De esta manera, podemos utilizar esta hiperemia como marcador indirecto de la inflamación de la superficie ocular. Para cuantificarla se ha empleado una escala fotográfica validada que va de 0-3 puntos, de menor a mayor nivel de hiperemia.

Cuando observamos las medias iniciales, tanto del OD como del OI, son mayores en el grupo PRP, de manera estadísticamente significativa, por lo que previo al tratamiento existen diferencias entre grupos. Esto se aprecia comparando las medias de los ojos derechos (2.74 +/-0.71 grupo PRP y 2,26+/-0.60 grupo AH, p=0.02) y similar en los ojos izquierdos (2.70+/- 0.59 grupo PRP y 2.23+/-0.59 grupo AH, p=0.01).

Tras 15 días de tratamiento, apreciamos un descenso de ambos grupos aunque de manera más marcada en el grupo PRP para los ojos derechos (1.64 +/-0.58 grupo PRP y 2,16+/-0.59 grupo AH, p=0.01) y de manera similar los ojos izquierdos (1.53+/- 0.5 grupo PRP y 2.20+/-0.63 grupo AH, p=0.02).

Tras los siguientes 15 días, el descenso continua siendo mayor en el grupo PRP pero de manera menos acentuada en los ojos derechos (1.41 +/-0.49 grupo PRP y 2,03+/-0.71 grupo AH, p=0.01) y los ojos izquierdos (1.35+/- 0.52 grupo PRP y 2.11+/-0.67 grupo AH, p =0.03)

Pasamos a comparar los cambios entre los diferentes días para minimizar el efecto de la diferencia en el D1.

Cuando comparamos los cambios de las medias entre los diferentes días en cada grupo, apreciamos que hay una mejoría de la hiperemia superior en el grupo PRP. Este descenso de la media es más marcado en los primeros 15 días de tratamiento (1.1 +/- 0.71 grupo PRP y 0.10 +/- 0.38 grupo AH, p=0.01). En los siguientes 15 días también existe un descenso en ambos grupos, aunque de manera no estadísticamente significativa. Al comparar el cambio de medias entre el primer día antes del tratamiento (D1) y al finalizar éste (D3), las diferencias son considerables y significativas (1.33 +/- 0.73 grupo PRP y 0.23 +/- 0.28 grupo AH, p=0.02). Los ojos izquierdos se comportan de manera similar.

La mejoría de la hiperemia es constante con ambos tratamientos aunque significativamente mayor con PRP y sobre todo tras los 15 primeros días de tratamiento, moderando esta mejoría tras los siguientes 15 días. Este resultado es similar al encontrado por Alió¹³⁸ donde se registró una mejoría del 86% de los pacientes tratados con PRP que presentaban hiperemia.

7.4 OSMOLARIDAD MENISCO LAGRIMAL (OSM)

La osmolaridad es uno de los mecanismos fisiopatológicos implicados en el daño epitelial de la superficie ocular y la activación de los procesos inflamatorios. La medición de la osmolaridad lagrimal se considera el mejor marcador para EOS⁷² por encima del resto de test diagnósticos interpretados de manera individual.

En nuestro caso la OSM media antes del tratamiento es menor a la registrada en otras series para el nivel de gravedad de la muestra, tanto para el grupo PRP como el AH.

Ambos grupos presentan una OSM similar para los ojos derechos en el día 1 (314 +/- 18.158 grupo PRP y 311.97 +/- 7.557 grupo AH). Tras los primeros 15 días de tratamiento, se produce un descenso estadísticamente significativo de la media en el grupo PRP frente al AH (302 +/- 12.813 grupo PRP y 310.68 +/- 7.715 grupo AH). Este descenso se mantiene, aunque en menor magnitud, tras los siguientes 15 días de tratamiento (299.03 +/- 12.967 grupo PRP y 310.16 +/- 11.010 grupo AH). Los resultados para los ojos izquierdos son similares.

El grupo PRP experimenta una reducción mayor que el grupo AH principalmente en los primeros 15 días. Llama la atención cómo un colirio hiperosmolar, como podría ser considerado el PRP (316,23 +/- 6,31 μ OSM/ml), puede ser eficaz reduciendo la osmolaridad del menisco lagrimal. Esto puede ser explicado por el efecto regenerador del PRP sobre el epitelio y de este modo, en la reducción de los factores proinflamatorios liberados y el restablecimiento de la homeostasia. Esto se correlaciona también con la mejoría de la HPR. Este efecto no se aprecia con el colirio de AH tras 30 días de tratamiento pese a ser hipoosmolar (159 μ OSM/ml) ya que en este grupo el descenso no es significativo. La explicación será la ausencia de efecto regenerativo sobre la superficie ocular.

No se ha encontrado bibliografía en la que se compare el efecto del PRP sobre la osmolaridad lagrimal.

7.5 TEST DE SCHIRMER (SCHT)

Como ya se ha explicado anteriormente, se definió como objeto de estudio a los pacientes con ojo seco hiposecretor. Esto se hizo con el fin de excluir el mecanismo evaporativo, en la medida de lo posible, y poder obtener conclusiones más concretas sobre los efectos del PRP en la clínica y fisiopatología del ojo seco. El SCHT es de los criterios de exclusión para poder seleccionar pacientes con ojo seco hiposecretor, excluyéndose los ojos que tenían un SCHT \geq 6 mm.

Antes del tratamiento, ambos grupos no presentaban diferencias estadísticamente significativas pese a que las puntuaciones del grupo PRP son de entrada más bajas (3.74 +/- 1.7 grupo PRP y 4.71 +/- 1.06 grupo AH, $p=0.05$) en los ojos derechos y menor diferencia en los ojos izquierdos (4.05 +/- 1.8 grupo PRP y 4.40 +/- 1.11 grupo AH, $p=0.32$).

Tras el tratamiento se aprecian mejorías en el SCHT de ambos grupos, siendo mayores en el grupo PRP para ambos ojos. Debido a que ambos grupos partían de niveles distintos, las diferencias finales encontradas no son estadísticamente significativas. Sin embargo, cuando comparamos los cambios en las medias tras los períodos de tratamiento, que son independientes de los valores de inicio, sí encontramos diferencias significativas. Aquí volvemos a encontrar que con el PRP, el SCHT mejora frente al AH sobretodo en los primeros 15 días de tratamiento (1.25 +/- 1.11 grupo PRP y 0.36 +/- 0.91 grupo AH, $p=0.01$) en los ojos derechos y en los ojos izquierdos (1.41 +/- 1.78 grupo PRP y 0.31 +/- 0.96, $p=0.02$). Tras los siguientes 15 días de tratamiento esta mejoría se mantiene para ambos grupos, aunque en menor magnitud. Véase los ojos derechos (0.64 +/- 1.4 grupo PRP y 0.05 +/- 0.95 grupo AH, $p=0.014$) y en los ojos izquierdos (0.44 +/- 1.22 grupo PRP y 0.22 +/- 1.08, $p=0.42$). Si comparamos las diferencias tras los 30 días de tratamiento con PRP, vemos como el test de Schirmer mejora significativamente respecto a los tratados con AH

(1.89 +/- 1.51 grupo PRP y 0.31 +/- 1.18 grupo AH, $p=0.02$) y en los ojos izquierdos (1.86 +/- 2.06 grupo PRP y 0.54 +/- 1.26, $p=0.01$).

Una vez más encontramos una mejoría con el tratamiento PRP sobre todo durante los primeros 15 días respecto al tratamiento con AH. Se han descrito mejorías significativas del SCHT tras inyecciones de PRP próximas a la glándula lagrimal principal (Ávila MY¹³⁷). Por su parte en los ensayos clínicos realizados con suero autólogo frente a LA, no se describen mejorías significativas (Noble BA¹⁴¹, Kojima T¹⁴² y Celebi AR¹⁴⁴). Las diferencias encontradas entre PRP y SA se deben a la mayor capacidad regenerativa del primero y su efecto sobre los acinos productores de las glándulas.

7.6 TIEMPO DE ROTURA LAGRIMAL CON FLUORESCEÍNA (FTBUT)

El tiempo de rotura lagrimal con fluoresceína es una de las técnicas de las que disponemos para valorar la estabilidad de la película lagrimal. Nos ayuda a valorar el componente evaporativo como causa de ojo seco. En este ensayo clínico se acotó el objeto del estudio al ojo seco hiposecretor Sjögren y no Sjögren con objeto de acotar las posibles causas fisiopatológicas y poder extraer conclusiones más concretas. Para ello se excluyeron los ojos con FTBUT < 10 segundos. Esto implica un sesgo que se aprecia en los resultados. Por un lado, vemos como en el D1 ambos grupos presentan medias similares y comparables y como éstas aumentan muy levemente tras el tratamiento en el grupo PRP. Este aumento es menor a 1 segundo entre el D1 y el D3. En el grupo AH también hay un aumento muy leve en los ojos derechos mientras que en los ojos izquierdos se produce un mínimo descenso en el D2, que vuelve a niveles similares a los previos al tratamiento en el D3. Este pequeño descenso junto al aumento del grupo PRP hace que aparezcan diferencias significativas al comparar los ojos izquierdos. En cualquier caso, son diferencias muy pequeñas, menores a 1 segundo de mejoría del FTBUT. No podemos establecer los efectos del PRP comparado con AH sobre la estabilidad de la película lagrimal, ya que se seleccionaron pacientes sin alteraciones de ésta.

En otros ensayos clínicos llevados a cabo con suero autólogo frente a LA, tampoco se encontraron diferencias en los cambios del FTBUT (Celebi AR¹⁴⁴, Noble BA¹⁴¹ y Alio JL¹³⁸). Sí se encontraron mejorías significativas en el FTBUT de pacientes con ojo seco tras la inyección de PRP próximo a la glándula lagrimal (Ávila MY¹³⁷) y entre SA y La en el ensayo clínico de Kojima T¹⁴².

Cabe destacar además que la media de FTBUT de este trabajo es mayor a la encontrada en otros (Vitali⁸⁶) motivado en parte por el sesgo ya comentado y por la cantidad de fluoresceína empleada.

7.7 TINCIÓN CONJUNTIVAL (TFCn)

Se empleó la tinción con fluoresceína para valorar el daño del epitelio conjuntival evaluándolo con la escala Oxford. En esta escala se aplica una puntuación creciente de 0, 1, 2, 3, 4 y 5. Al observar las medias antes del tratamiento (D1), vemos que el grupo PRP presenta unas

puntuaciones mayores que el grupo AH y que además son estadísticamente significativas. Volvemos a encontrar que pese a la aleatorización, para esta variable ambos grupos son diferentes, como ocurre con la HPR, la CIC y la TFCo. Pese a ello, sí apreciamos como la media de las tinciones tras los primeros 15 días de tratamiento disminuye en ambos grupos, aunque de manera más marcada en el grupo PRP. Sin embargo, no son significativos estos cambios ya que el grupo PRP parte de puntuaciones más altas al inicio. Tras los siguientes 15 días, ambas medias descienden de manera menos marcada y estadísticamente significativa.

Al realizar la comparación de la diferencia de medias entre los diferentes días de evaluación, apreciamos mejor los cambios que se han producido con ambos tratamientos. Se observa que la mejoría en la tinción tras los primeros 15 días en el grupo PRP es de casi dos puntos de la escala Oxford, lo que supone una reducción del 50 % del daño revelado por la fluoresceína. En los siguientes 15 días se produce de nuevo, una reducción del 50 % que en valores absolutos equivale al medio punto de la escala Oxford (D1– 3.13 +/- 1.2, D2 – 1.23 +/- 1.2, D3 – 0.65 +/- 0.9) en los ojos derechos. Los ojos izquierdos se comportaron igual. Por su parte el grupo AH también registró un descenso de la tinción, aunque menor (D1– 1.74 +/- 1.1, D2 – 1.55 +/- 1.05, D3 – 1.42 +/- 1.08) en los ojos derechos y similar comportamiento en los ojos izquierdos.

Lo que observamos es el efecto del PRP sobre la regeneración celular conjuntival y como es capaz de mejorar las tinciones respecto al tratamiento con AH. Este efecto es mayor tras los primeros 15 días de tratamiento, con reducción de casi 2 puntos de la escala Orford. En el D3 la reducción vuelve a ser del 50 % respecto al D2, lo que equivale a medio punto en la escala Oxford. En el estudio de López-Plandolit S¹³⁹ las tinciones conjuntivales con lisamina mejoraron pero de manera no estadísticamente significativa, mientras que Kojima T¹⁴² sí encontró diferencia entre SA y LA en las tinciones con rosa de Bengala.

7.8 TINCIÓN CONJUNTIVAL (TFCo)

La valoración corneal se realizó conjuntamente con la conjuntival, mediante fluoresceína con filtro wratten 12 y empleando la escala Oxford. Se asignó una puntuación de 0, 1, 2, 3, 4 y 5 según la semejanza a la escala.

Ambos grupos presentan unas medias diferentes antes del tratamiento, como ocurre con la TFCn, la HPR y la CIC. EL grupo PRP presentaba unas puntuaciones de tinción corneal superiores a las del grupo AH (3.03 +/- 1.18 ojos derechos del grupo PRP y 1.82 +/- 0.98 ojos derechos del grupo AH, p= 0.01), es decir, de media estos pacientes estaban más graves. Tras los primeros 15 días de tratamiento (D2) se observa un descenso importante del 50% de esta puntuación para el grupo PRP y un descenso más moderado del grupo AH (1.21 +/- 1.05 ojos derechos del grupo PRP y 1.63 +/- 0.94 ojos derechos del grupo AH, p=0.66). Esta diferencia no es significativa pues el grupo PRP partía de medias más altas. Sin embargo al comprar las medias de las diferencias entre el primer y segundo (D2-D1) de evaluación, sí apreciamos la significativa mejoría que experimenta el grupo PRP (1.82 +/- 0.94 ojos derechos del grupo PRP y 0.18 +/- 0.45 ojos derechos del grupo AH, p=0.01). Si comparamos las medias al tercer día (D3) apreciamos la diferencia entre ambos grupos (0.72 +/- 0.99 ojos derechos del grupo PRP y 1.50 +/- 0.95 ojos derechos del grupo AH, p=0.01). Resulta más revelador observar la diferencia antes del tratamiento y al finalizarlo 30 días más tarde. Esta diferencia es significativamente mayor en el grupo PRP (2.30 +/- 1.10 ojos

derechos del grupo PRP y 0.41 ± 0.37 ojos derechos del grupo AH, $p=0.01$). El comportamiento de los ojos izquierdos es similar.

Ambos grupos mejoran tras sus respectivos tratamientos. Sin embargo, apreciamos que pese a partir de puntuaciones más altas, los pacientes del grupo PRP mejoran de manera muy significativa los defectos corneales que presentan, frente al grupo tratado con colirio de hialuronato 0,18%. Esta mejoría se aprecia sobre todo durante los primeros 15 días de tratamiento, como ocurría con otras variables como la BCVA, OSDI, HPR, TIFCn y el SCHAT. En el caso de la BCVA parece lógico pensar que la mejoría de los defectos epiteliales que afecten a la córnea central favorezcan la mejoría visual

Estos resultados coinciden con los reportados por Alio JL¹³⁸ que describe una mejoría en el 72% de los pacientes tratados con PRP. Kojima T¹⁴² también describe una mejoría significativa de los pacientes tratados con SA frente a suero salino.

7.9 CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN (CIC)

Para esta variable se cuantificó el número de células caliciformes por campo. El número de pacientes incluidos para el análisis de esta variable es menor del esperado por el problema descrito en el apartado de resultados. Por este motivo no se incluye en la correlación con otras variables. Pese a ello vemos que se repite el mismo patrón que en el resto de las otras variables. El grupo PRP parte de una densidad de células más baja (196.4 ± 88.7 grupo PRP y 232.7 ± 79.03 grupo AH, $p=0.0$). Este número aumentó tras 30 días en ambos tratamientos pero de manera marcada en el grupo PRP (324.8 ± 96.1 grupo PRP y 248.06 ± 76.2 grupo AH, $p=0.0$). Este incremento de las células caliciformes ya fue descrito por Alio JL¹³⁸

7.10 CORRELACIÓN ENTRE VARIABLES PRE Y POST TRATAMIENTO

En el grupo PRP, tan solo se encuentra una correlación buena, es decir con r entre ± 0.6 y 0.8 entre la BCVA, HPR, OSM, la TFCn y TFCo antes y tras el tratamiento en el grupo PRP. Esta correlación es negativa, lo que indica que cuanto mayor eran las medias en el D1, mayor es el descenso que se ha producido. Este sería el comportamiento deseado para un tratamiento. Sin embargo, esto no ocurre en el grupo AH, donde no encontramos “buenas” correlaciones. Esto se traduce en un efecto menos predecible que con PRP.

7.11 CORRELACIÓN ENTRE VARIABLES DIAGNÓSTICAS

No apreciamos correlaciones importantes entre las diferentes técnicas diagnósticas empleadas en el estudio. Este resultado aparece descrito en numerosos trabajos (Vitale S^{53,86}, Nichols KK⁸⁷, Sullivan BD) que encuentran una limitada correlación entre las herramientas

diagnósticas que empleamos habitualmente. Esto es debido en parte a que la EOS representa una patología multifactorial con diferentes procesos fisiopatológicos en su desarrollo.

7.12 DISCUSIÓN FINAL

Como se describe en la introducción de este trabajo, se han encontrado varios ensayos clínicos en los que se valora el efecto del suero autólogo en la enfermedad del ojo seco (Noble BA¹⁴¹, Kojima T¹⁴², Urzua CA¹⁴³). No se han encontrado ensayos clínicos aleatorizados sobre PRP y dicha enfermedad. Pese a ello, sí hay varios trabajos en los que el PRP ha demostrado su efecto regenerativo sobre múltiples tejidos y en particular, sobre la superficie ocular (Alio JL¹⁶⁴) y sobre la glándula lagrimal (Ávila MY¹³⁷).

Una de las principales limitaciones de los trabajos que implican los derivados hematológicos es la diferente metodología de preparación. Es por lo tanto necesario unificar criterios de nomenclatura o, por lo menos, que se describa la metodología empleada en cada caso.

En este ensayo clínico se compara en dos grupos de pacientes el efecto del colirio de PRP frente al colirio de hialuronato sódico 0.18% en la enfermedad del ojo seco hiposecretor. Para su comparación, se miden una serie de variables empleadas en su diagnóstico habitual, disponibles para la mayoría de los oftalmólogos.

Lo que observamos es que en el grupo PRP se produce una mejoría estadísticamente significativa frente al grupo AH de todas las variables y de manera parcial del FTBUT por los motivos ya explicados.

Dentro de las propiedades del PRP que sí favorecen la mejoría de las variables mencionadas se encuentran: su composición más fisiológica respecto a la lágrima natural y su mayor concentración en **factores de estimulación tisular**. A estos factores se les atribuye un estímulo regenerativo epitelial con una menor liberación de factores proinflamatorios. Esta impresión se ve corroborada con la mejoría de la **hiperemia**, traduciendo una mejoría indirecta de la inflamación. La reducción del estímulo irritativo sobre los terminales sensitivos se traduce en la mejoría significativa de los **síntomas**. La regeneración del **epitelio corneal** central parece ser responsable de la mejoría, aunque más moderada, de la **agudeza visual**. No atribuimos esta mejoría de la agudeza visual al efecto sobre la estabilidad lagrimal, medida con el **tiempo de rotura lagrimal**, ya que esta variable está condicionada desde el principio al ser criterio de exclusión. Pese a ello, no se descarta su efecto beneficioso sobre la estabilidad lagrimal si observamos los resultados encontrados en los ojos izquierdos, donde la mejoría sí era significativa. Además, la recuperación del **epitelio conjuntival** valorado con su tinción y más en concreto con el aumento del número de **células caliciformes** (CIC) contribuiría a la estabilidad lagrimal. La reducción de la pérdida del componente acuoso y el aumento de la **producción lagrimal** medida con el test de Schirmer contribuyen al descenso de la osmolaridad.

En conclusión, vemos como el PRP por su composición ejerce un afecto restaurador sobre los diferentes mecanismos fisiopatológicos responsables del ojo seco hiposecretor, restableciendo la homeostasia de la superficie ocular mejor que el colirio de hialuronato sódico 0.18%. Éste último, pese a ser hipoosmolar y a sus efectos beneficiosos sobre la SO no consigue mejorar de manera significativa las variables estudiadas.

Otro aspecto a destacar es que la mejoría descrita en el grupo PRP es mayor durante los primeros 15 días de tratamiento tanto para los síntomas, la agudeza visual, la hiperemia conjuntival, el test de Schirmer, la osmolaridad del menisco lagrimal, las tinciones conjuntivales y corneales. Esta mejoría sobre todo al inicio del tratamiento se atribuye a la mayor actividad de los biocomponentes activos del PRP.

También destacamos que el colirio de PRP es más predecible en su efecto sobre la superficie ocular que el colirio de AH, según los análisis de correlación.

La cualidad autóloga del PRP justifica que no se registrasen efectos adversos con este tratamiento. La necesidad de realizar una extracción de sangre y sus medidas de conservación son sus principales limitaciones para que se considere tratamiento de primera opción en los casos de ojos secos moderados y graves. Tampoco se registraron efectos adversos importantes con el colirio de AH.

Merece la pena destacar, fuera del análisis del estudio, que los pacientes que menor beneficio encontraron con el colirio de PRP y AH fueron posteriormente rescatados para su tratamiento. Estos paciente fueron tratados fuera del estudio con corticoides sin excipientes o ciclosporina 0.05% como coadyuvante del PRP, encontrando mejoría respecto al PRP solo. De esta manera y pese a destacar el efecto restaurador del PRP en los diferentes mecanismos fisiopatológicos del ojo seco, el empleo de fármacos que actúen sobre la cascada inflamatoria de manera más específica supondría una ayuda añadida.

El estudio con nuevos marcadores de inflamación, estabilidad de la película lagrimal, el uso de antiinflamatorios u otras terapias junto al colirio de PRP, pero sobre todo la búsqueda de una formulación de PRP customizada para las necesidades de cada paciente en concreto, son el camino a estudio que se desprenden de este trabajo.

8. CONCLUSIONES





1. El colirio de plasma rico en plaquetas es más eficaz que el colirio de hialuronato sódico 0.18% mejorando la **sintomatología** valorada con el cuestionario **OSDI**, en la enfermedad de ojo seco hiposecretor.
2. El colirio de plasma rico en plaquetas es más eficaz que el colirio de hialuronato sódico 0.18% mejorando la **agudeza visual (BCVA)** en la enfermedad de ojo seco hiposecretor.
3. El colirio de plasma rico en plaquetas es más eficaz que el colirio de hialuronato sódico 0.18% mejorando la **hiperemia conjuntival (HPR)** valorada con la escala **CCLRU**, en la enfermedad de ojo seco hiposecretor.
4. El colirio de plasma rico en plaquetas es más eficaz que el colirio de hialuronato sódico 0.18% mejorando la **osmolaridad** del menisco lagrimal, valorada mediante el Tear Lab®, en la enfermedad de ojo seco hiposecretor.
5. El colirio de plasma rico en plaquetas es más eficaz que el colirio de hialuronato sódico 0.18% mejorando la **producción lagrimal** valorada con el test de Schirmer (**SCHT**), en la enfermedad de ojo seco hiposecretor.
6. Por el diseño del estudio, no se pueden establecer diferencias significativas entre el colirio de plasma rico en plaquetas frente al colirio de hialuronato sódico 0.18% en su efecto sobre la estabilidad de la película lagrimal, valorada con el tiempo de rotura lagrimal con fluoresceína (**TFBUT**), en la enfermedad de ojo seco hiposecretor.
7. El colirio de plasma rico en plaquetas es más eficaz que el colirio de hialuronato sódico 0.18% mejorando el **daño epitelial conjuntival**, valorada con la tinción de fluoresceína conjuntival (**TFCn**), en la enfermedad de ojo seco hiposecretor.
8. El colirio de plasma rico en plaquetas es más eficaz que el colirio de hialuronato sódico 0.18% mejorando el **daño epitelial corneal**, valorada con la tinción de fluoresceína corneal (**TFCo**), en la enfermedad de ojo seco hiposecretor.
9. El colirio de plasma rico en plaquetas es más eficaz que el colirio de hialuronato sódico 0.18% aumentando la densidad de células caliciformes, valorada mediante citología de impresión conjuntival (**CIC**), en la enfermedad de ojo seco hiposecretor.

10. Existe una correlación negativa antes del tratamiento y después de éste, de manera a que a mayor gravedad de los síntomas, mayor efecto beneficioso del colirio de plasma rico en plaquetas.
11. No se aprecia correlación entre las técnicas diagnósticas valoradas.
12. No se han encontrado efectos secundarios en ambos grupos de tratamiento.
13. La mejoría de las variables OSDI, BCVA, HPR, OSM, SCHT, TFCn y TFCo se produce sobre todo en los primeros 15 días de tratamiento.





9. ANEXOS Y TABLAS



ANEXO 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO AL PACIENTE

(Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente)

Título del estudio: “Estudio doble ciego, controlado, aleatorizado, de grupos paralelos, para comparar la eficacia y seguridad del Plasma Rico en Plaquetas, frente a colirio de hialuronato sódico en pacientes afectos de enfermedad de Ojo Seco ”

Yo(Nombre y apellidos)

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

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con: Dr. Victor Garcia Conca (Nombre del investigador)

Comprendo que la participación del paciente es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

Cuando quiera, sin tener que dar explicaciones, sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Así, presto mi conformidad para que..... (nombre del participante), participe en este estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de los datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

Firma del paciente:

Nombre y apellidos:

Fecha:

Firma del investigador:

Nombre y apellidos:

Fecha:

Anexo 2

Por favor, rellene el siguiente cuestionario rodeando con un círculo el número que considera más apropiado, a las situaciones de las preguntas. En caso de no saber qué contestar, déjela en blanco.

¿Ha experimentado algo de lo siguiente <u>en la última semana</u> ?	En todo momento	La mayor parte del tiempo	La mitad del tiempo	Algunas veces	Nunca
1. ¿Mis ojos son sensibles a la luz?	4	3	2	1	0
2. ¿Sensación de arenilla en los ojos?	4	3	2	1	0
3. ¿Sensación de dolor ocular?	4	3	2	1	0
4. ¿Visión borrosa?	4	3	2	1	0
5. ¿Sensación de baja visión?	4	3	2	1	0

Puntuación del primer bloque:

¿Los problemas oculares le han <u>Limitado las siguientes actividades en la última semana</u> ?	En todo momento	La mayor parte del tiempo	La mitad del tiempo	Algunas veces	Nunca
1. Lectura	4	3	2	1	0
2. Conducir de noche	4	3	2	1	0
3. Trabajar con ordenador	4	3	2	1	0
4. Ver la tele	4	3	2	1	0

Puntuación del segundo bloque:

¿Se ha notado los ojos incómodos <u>En cualquiera de las siguientes situaciones en la última semana</u> ?	En todo momento	La mayor parte del tiempo	La mitad del tiempo	Algunas veces	Nunca
1. Situaciones con viento	4	3	2	1	0
2. Lugares secos	4	3	2	1	0
3. Lugares con aire acondicionado	4	3	3	1	0

Puntuación del tercer bloque:

PUNTUACIÓN TOTAL:

ANEXO 3

RegenKit® Ophthalmology

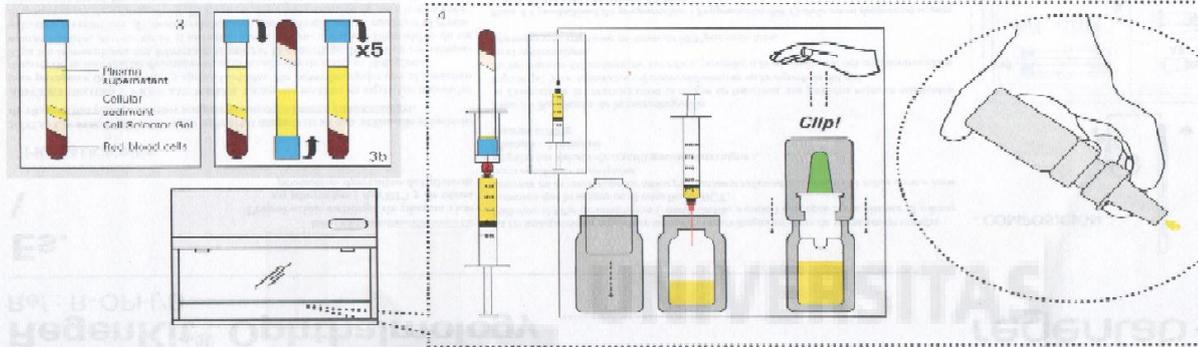
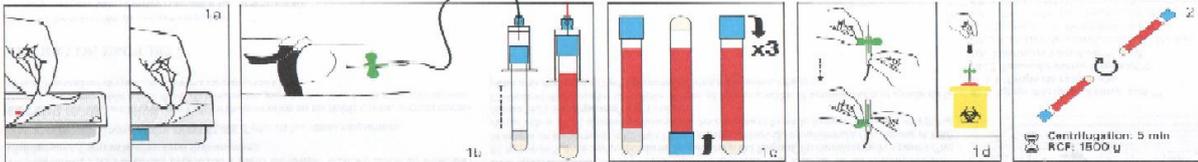
Ref.: R-OPH/B



INTENDED USER: THE SURGEON

FR Préparation autologue de plasma riche en plaquettes (A-PRP) et d'autres produits dérivés du plasma
EN Preparation of autologous platelet-rich plasma (A-PRP) and other plasma derived products
IT Preparazione autologa di plasma ricco di piastrine (A-PRP) e di altri prodotti derivati del plasma

ES Preparación autóloga de plasma rico en plaquetas (A-PRP) y otros productos derivados del plasma
DE Herstellung von autologem Thrombozytenkonzentrat (A-PRP) und anderen plasmaverwandten Produkten



11 Ver. 01 / 02.08.2011

RegenKit® Ophthalmology

Ref.: R-OPH/B



Es.

USO PREVISTO DEL PRODUCTO
Preparación autóloga de plasma rico en plaquetas (A-PRP) y de otros productos derivados del plasma

PRECAUCIONES

NOTA: UN SOLO USO. Eliminar todo el kit después de su uso, utilizando el método de eliminación para productos sanguíneos potencialmente contaminados.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES. Utilice las medidas de seguridad adecuadas para protegerse de las agujas y agujas biseladas. No vuelva las agujas con el capuchón después de su uso, tirarlas directamente en el contenedor de residuos biológico. Siga las instrucciones del fabricante al utilizar la centrifuga. No utilice los componentes estériles de este kit si el envoltorio está abierto o dañado. Dispositivo de un solo uso, no reutilizar. El médico debe estar familiarizado con el equipo y el procedimiento antes de utilizar el kit. El paciente debe ser advertido de los riesgos generales asociados al tratamiento y de los posibles efectos secundarios. El plasma rico en plaquetas (PRP) debe ser preparado a partir de sangre fresca y debe ser utilizado rápidamente (uso extemporáneo únicamente).

EFFECTOS SECUNDARIOS POSIBLES. Daño en los vasos sanguíneos.

ESTERILIDAD. Los kits Regen Lab están envasados en un doble envase y están esterilizados por exposición a una dosis de irradiación gamma mínima de 25 kGy. No reesterilizar. No utilizar después de la fecha de caducidad.

MODO DE EMPLEO

Fase 1: Recolección de sangre completa

- 1a. Abrir con cuidado el primer envase y luego el segundo.
- 1b. Efectuar la punción venosa utilizando la aguja mariposa (4) previamente conectada a la tülle de extracción (5) tapando la presencia de sangre en el tubo flexible, bajo la parte en plástico amarillo (la sangre se observará en 1-2mm).
- Perforar el tapón de los tubos Regen BCT (16) protección para rellenarlos con sangre completa utilizando la aguja interna del sistema de recolección. El sistema de llenado a vacío permitirá la colecta automática del volumen necesario de sangre (en torno a 8ml).
- 1c. Invertir con cuidado repetidas veces el tubo.
- 1d. Cerrar la aguja de extracción con el sistema Safety-Lock™ antes de tirarla.

2a. Es indispensable equilibrar siempre la centrifugadora antes de su puesta en marcha. Rellenar el tubo de contrapeso (suministrado a parte) con agua hasta obtener el mismo volumen que la sangre en el tubo RegenBCT.

Invertir en la centrifuga los tubos previamente rellenados, colocar los tubos cara a cara para equilibrar la máquina.

Regular los valores de centrifugación como sigue:

Tiempo: 8 minutos

Fuerzas: 1500g

Fase 3: Resultado de la centrifugación

3a. Después de la centrifugación la sangre se fracciona, los glóbulos rojos se mantienen bajo el gel y los elementos celulares sedimentan en la superficie del gel.

3b. Invertiendo delicadamente los tubos, proceder a la resuspensión del sedimento celular en el sobrenadante.

Obtendremos alrededor de 4mm de PRP por cada tubo.

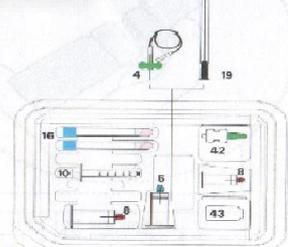
Fase 4 (posibilidad de preparación) Preparación del Colirio en el dispensador: gota a gota de un solo uso Regen Collire

Esta operación debe ser efectuada bajo campana de flujo laminar en un entorno limpio!

El frasco (43) debe ser colocado en la parte baja del RegenClip (suministrado a parte). Con la ayuda de las jeringas de 5 ml (10) y los dispositivos de transferencia (8), aspirar el PRP de los tubos BCT, después, conectando las cánulas (19) en la jeringa, transferir el PRP al frasco (43) del dispensador del colirio.

Colocar el dispensador de colirio (42) en el frasco y sellar el conjunto con la ayuda de la parte alta del RegenClip® (presión mecánica de arriba a abajo).

COMPOSICIÓN



4. 1. Aguja mariposa Safety-Lock™
5. 1. 1. Tülle de extracción
16. 2. Tubos de vidrio RegenBCT
10. 2. Jeringas Luer-Lok™ 5 ml
19. 2. Cánulas de transferencia de 80 mm
8. 2. Dispositivos de transferencia
42. 1. Parte alta del dispensador RegenCollire
43. 1. Frasco del dispensador RegenCollire

ANEXO 4. Datos de inicio (Día 1) medios en los dos grupos de tratamiento incluidos en el estudio.

Media (DE) Mediana (Rango)	PRP	AH	p-value
Edad (años)	62.1 (11.2) 64.0 (36 a 84)	66.2 (11.0) 66.0 (36 a 90)	0.097
Puntuación cuestionario OSDI	59.02 (17.86) 60.00 (23 a 93)	52.82 (19.74) 54.00 (10 a 89)	0.204
Agudeza visual decimal OD	6.4 (2.7) 7.0 (1 a 10)	7.4 (2.1) 8.0 (3 a 10)	0.115
Agudeza visual decimal OI	6.5 (2.6) 7.0 (1 a 10)	7.4 (2.3) 7.5 (3 a 10)	0.168
Nivel hiperemia OD	2.7 (0.7) 3.0 (1 a 4)	2.3 (0.6) 2.0 (1 a 4)	0.002
Nivel hiperemia OI	2.7 (0.6) 3.0 (2 a 4)	2.2 (0.6) 2.0 (1 a 4)	0.001
Osmolaridad OD (mOsm/l)	314.67 (18.16) 312.00 (285 a 376)	311.97 (7.56) 313.00 (285 a 322)	0.886
Osmolaridad OI (mOsm/l)	314.02 (17.24) 315.00 (285 a 370)	311.71 (6.79) 313.00 (287 a 320)	0.424
Schirmer OD (mm)	3.74 (1.76) 4.00 (1 a 6)	4.71 (1.06) 5.00 (1 a 6)	0.022
Schirmer OI (mm)	4.05 (1.85) 5.00 (0 a 6)	4.40 (1.12) 4.00 (1 a 6)	0.789
FTBUT OD (s)	11.4 (2.1) 12.0 (8 a 15)	11.08 (1.68) 11.0 (8 a 16)	0.476
FTBUT OI (s)	11.4 (2.3) 12.0 (6 a 15)	11.5 (2.6) 12.0 (4 a 18)	0.911
Tinción conjuntival OD	3.1 (1.3) 3.0 (1 a 6)	1.7 (1.1) 2.0 (0 a 4)	<0.001
Tinción conjuntival OI	2.9 (1.2) 3.0 (1 a 6)	1.7 (1.3) 1.0 (0 a 6)	<0.001
Tinción corneal OD	3.0 (1.2) 3.0 (1 a 5)	1.8 (1.0) 2.0 (1 a 5)	<0.001
Tinción corneal OI	2.8 (1.2) 3.0 (1 a 5)	1.7 (1.0) 1.0 (0 a 5)	<0.001
Citología de impresión (cel/mm²)	196.42 (88.703) 140.50 (69 a 320)	232.72 (79.304) 209.88 (44 a 341)	0.007

ANEXO 5. Datos clínicos a los 15 días (D2) de inicio del tratamiento en los grupos PRP y AH

Media (DE) Mediana (Rango)	PRP	AH	p-value
Puntuación cuestionario OSDI	42.09 (18.1) 42.00 (11 a 77)	50.54 (19.23) 52.00 (12 a 89)	0.051
Agudeza visual decimal OD	7.6 (2.2) 7.0 (2 a 10)	7.6 (2.1) 8.0 (3 a 10)	0.930
Agudeza visual decimal OI	7.8 (2.3) 9.0 (2 a 10)	7.5 (2.1) 8.0 (3 a 10)	0.382
Nivel hiperemia OD	1.6 (0.6) 2.0 (1 a 3)	2.2 (0.6) 2.0 (1 a 3)	<0.001
Nivel hiperemia OI	1.5 (0.5) 2.0 (1 a 2)	2.2 (0.6) 2.0 (1 a 4)	<0.001
Osmolaridad OD (mOsm/l)	302.79 (12.81) 300.00 (283 a 340)	310.68 (7.71) 312.00 (286 a 322)	<0.001
Osmolaridad OI (mOsm/l)	302.23 (12.13) 301.00 (281 a 329)	309.77 (8.44) 315.00 (288 a 322)	0.002
Schirmer OD (mm)	5.0 (2.2) 5.0 (1 a 10)	5.1 (1.1) 5.0 (3 a 7)	0.705
Schirmer OI (mm)	5.5 (2.4) 5.0 (1 a 13)	4.7 (1.5) 4.0 (2 a 8)	0.140
FTBUT OD (s)	11.6 (2.4) 11.0 (5 a 15)	11.1 (1.7) 11.0 (7 a 16)	0.288
FTBUT OI (s)	11.8 (2.6) 12.0 (5 a 16)	11.2 (2.4) 12.0 (4 a 16)	0.297
Tinción conjuntival OD	1.2 (1.2) 1.0 (0 a 4)	1.6 (1.1) 1.5 (0 a 4)	0.130
Tinción conjuntival OI	1.1 (1.1) 1.0 (0 a 4)	1.5 (1.0) 1.0 (0 a 4)	0.037
Tinción corneal OD	1.2 (1.1) 1.0 (0 a 4)	1.6 (0.9) 2.0 (0 a 5)	0.074
Tinción corneal OI	0.9 (1.1) 1.0 (0 a 4)	1.6 (1.1) 1.0 (0 a 5)	0.004

ANEXO 6. Datos clínicos a los 30 días (D3) de inicio del tratamiento en los grupos PRP y AH.

Media (DE) Mediana (Rango)	PRP	AH	p-value
Puntuación cuestionario OSDI	34.16 (17.56) 30.00 (2 a 70)	47.26 (18.91) 50.00 (12 a 81)	0.002
Agudeza visual decimal OD	8.0 (2.0) 8.0 (3 a 10)	7.8 (2.0) 8.0 (4 a 10)	0.625
Agudeza visual decimal OI	8.3 (2.0) 9.0 (2 a 10)	7.7 (2.0) 8.0 (3 a 10)	0.162
Nivel hiperemia OD	1.4 (0.5) 1.0 (1 a 2)	2.0 (0.7) 2.0 (1 a 4)	<0.001
Nivel hiperemia OI	1.3 (0.5) 1.0 (0 a 2)	2.1 (0.7) 2.0 (0 a 4)	<0.001
Osmolaridad OD (mOsm/l)	299.03 (12.97) 298.00 (277 a 327)	310.16 (11.01) 312.50 (281 a 344)	<0.001
Osmolaridad OI (mOsm/l)	299.28 (11.46) 299.00 (280 a 325)	309.80 (10.30) 311.00 (280 a 336)	<0.001
Schirmer OD (mm)	5.6 (2.3) 6.0 (1 a 10)	5.0 (1.5) 5.0 (2 a 8)	0.218
Schirmer OI (mm)	5.9 (2.4) 5.0 (1 a 13)	4.9 (1.9) 5.0 (0 a 9)	0.072
FTBUT OD (s)	11.9 (2.2) 12.0 (6 a 17)	11.3 (1.9) 11.0 (7 a 15)	0.192
FTBUT OI (s)	12.0 (2.2) 12.0 (5 a 17)	11.4 (2.5) 12.0 (5 a 14)	0.364
Tinción conjuntival OD	0.6 (0.9) 0.0 (0 a 4)	1.4 (1.1) 1.0 (0 a 4)	0.001
Tinción conjuntival OI	0.6 (0.9) 0.0 (0 a 4)	1.4 (1.1) 1.0 (0 a 4)	0.001
Tinción corneal OD	0.7 (1.0) 0.0 (0 a 4)	1.5 (1.0) 1.0 (0 a 4)	<0.001
Tinción corneal OI	0.5 (0.8) 0.0 (0 a 3)	1.5 (0.8) 1.0 (0 a 4)	<0.001
Citología de impresión (cel/mm²)	324.85 (96.108) 315.76 (110 a 478)	248.06 (76.299) 219.88 (55 a 320)	0.014

10. BIBLIOGRAFÍA





-
- ¹ **Galeno.** *Galeni omnia operum, oculorum affectibus* cap. 15.
- ² **W.S. Duke-Elder.** *Keratitis sicca* *Br J Ophthalmol* 1930;14:4 185doi:10.1136/bjo.14.4.185.
- ³ **Roeth.** *El ojo seco.* Acta XVI Conc Ophthal Univ. 1950, 1:456.
- ⁴ *The definition and classification of dry eye disease: Report of the definition and classification subcommittee of the international dry eye workshop DEWS(2007).* *Ocul Surf* 2007; 5: 75–92. **DEWS II (2017)**
- ⁵ **Gayton JL.** *Etiology, prevalence, and treatment of dry eye disease.* *Clin Ophthalmol.* 2009;3:405-12. Epub 2009 Jul 14.
- ⁶ **Bartlett JD, Keith MS, Sudharshan L.** *Associations between signs and symptoms of dry eye disease: a systematic review.* *Clin Ophthalmol.* 2015 Sep 16;9:1719-30.
- ⁷ **Ridder WH 3rd, Tomlinson A.** *Impaired visual performance in patients with dry eye* *Ocul Surf.* 2011 Jan;9(1):42-55.
- ⁸ **Goto E, Yagi Y, Matsumoto Y.** *Functional visual acuity of dry eye patients.* *Am J Ophthalmol* 2002;113:181-6.
- ⁹ **Baudouin C, Aragona.** *Role of hyperosmolarity in the pathogenesis and management of dry eye disease: proceedings of the OCEAN group meeting.* *Ocul Surf.* 2013 Oct;11(4):246-58.
- ¹⁰ **Hessen M, Akpek EK.** *Dry eye: an inflammatory ocular disease.* *J Ophthalmic Vis Res.* 2014 Apr;9(2):240-50.
- ¹¹ **J.M. Benitez del Castillo.** *Superficie Ocular.* LXXX Ponencia Oficial de la SEO 2004.
- ¹² **Lemp MA.** Report of the National Institute/Industry on clinical trials in dry eye. *Clao J* 1995 21:221-32.
- ¹³ **Murube J, Benítez del Castillo JM.** *The Madrid triple classification of dry eye.* *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2003 Nov;78(11):587-93; 595-601.
- ¹⁴ **Behrens A, Doyle JJ** *Dysfunctional tear syndrome: a Delphi approach to treatment recommendations.* *Cornea.* 2006 Sep;25(8):900-7.
- ¹⁵ **Gilbard JP, Dartt DA.** *Changes in rabbit lacrimal gland fluid osmolarity with flow rate.* *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1982; 23: 804–806.
- ¹⁶ **Owens H, Phillips JR** *Tear spreading rates: post-blink.* *Adv Exp Med Biol.* 2002;506:1201-4.
- ¹⁷ **C. A. McCarty, A. K. Bansal, P. M. Livingston, Y. L. Stanislavsky, and H. R. Taylor,** “*The epidemiology of dry eye in Melbourne, Australia,*” *Ophthalmology*, vol. 105, no. 1114–1119, 1998.
- ¹⁸ **Lin PY, Tsai SY, Cheng CY, et al.** *Prevalence of dry eye among an elderly Chinese population in Taiwan: The Shihpai eye study.* *Ophthalmology.* 2003;110:1096–1101.
- ¹⁹ **Liu NN, Liu L, Li J, Sun YZJ.** *Prevalence of and risk factors for dry eye symptom in mainland china: a systematic review and meta-analysis .* *Ophthalmol.* 2014;2014:748654. Epub 2014 Oct 15.
- ²⁰ **Ellwein LB Urato CJ.** *Use of eye care and associated charges among the Medicare population:1991-1998.* *Arch Ophthalmology* 2002;120:804-11.
- ²¹ **Miljanović B, Dana R, Sullivan DA, Schaumberg DA.** *Impact of dry eye syndrome on vision-related quality of life.* *Am J Ophthalmol.* 2007 Mar; 143(3):409-15.

-
- ²² **Grubbs JR Jr**, Tolleson-Rinehart S, Huynh K, Davis RM. *A review of quality of life measures in dry eye questionnaires*. *Cornea*. 2014 Feb;33(2):215-8.
- ²³ **Buchholz P**, Steeds CS, Stern LS, Wiederkehr DP, Doyle JJ, Katz LM, Figueiredo FC. *Utility assessment to measure the impact of dry eye disease*. *Ocul Surf*. 2006 Jul;4(3):155-61.
- ²⁴ **Schiffman RM**, Walt JG, Jacobsen G, Doyle JJ, Lebovics G, Sumner W. *Utility assessment among patients with dry eye disease*. *Ophthalmology*. 2003 Jul;110(7):1412-9.
- ²⁵ **McDonald M**, Patel DA. *Economic and Humanistic Burden of Dry Eye Disease in Europe, North America, and Asia: A Systematic Literature Review*. *Ocul Surf*. 2015 Dec 27.
- ²⁶ **Mizuno Y**, Yamada M. *Annual direct cost of dry eye in Japan*. *Clin Ophthalmol* 2012;6:755-60.
- ²⁷ **Yamada M**, Mizuno Y. *Impact of dry eye on work productivity*. *Clinicoecon Outcomes Res*. 2012;4:307-12. Epub 2012 Oct 10
- ²⁸ **Reddy P**, Grad O, Rajagopalan K. *The economic burden of dry eye: a conceptual framework and preliminary assessment*. *Cornea*. 2004 Nov; 23(8):751-61.
- ²⁹ **King-Smith PE**, Fink BA, *The thickness of the human precorneal tear film: Evidence from reflection spectra*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(11):3348-59
- ³⁰ **Gipson IK**, Hori Y, Argueso P. *Character of ocular surface mucins and their alteration in dry eye disease*. *Ocul Surf* 2004;2(2):131-48
- ³¹ **Norn MS**. *Dead, degenerate, and living cells in conjunctival fluid and mucous thread*. *Acta ophthalmol (Copenh)* 1969;47(5):1102-15
- ³² **King-Smith PE**, Hinel EA, Nichols JJ. *Application of a novel interferometric method to investigate the relation between lipid layer thickness and tear film thinning*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(5):2418-23
- ³³ **Millar TJ**, Schuett BS. *The real reason for having a meibomian lipid layer covering the outer surface of the tear film - A review*. *Exp Eye Res*. 2015 Aug;137:125-38.
- ³⁴ **Tsubota K**, Nakamori K. *Effects of ocular surface area and blink rate on tear dynamics*. *Arch Ophthalmol* 1995;113(2):155-8
- ³⁵ **Tsubota K**, Hata S. *Quantitative videographic analysis of blinking in normal subjects and patients with dry eye*. *Arch Ophthalmol* 1996;114(6):715-20
- ³⁶ **Chew CK**, Jansweijer C, Tiffany JM, Dikstein S, Bron AJ. *An instrument for quantifying meibomian lipid on the lid margin: The meibometer*. *Curr Eye Res* 1993;12(3):247-54
- ³⁷ **Yokoi N**, Yamada H, Mizukusa Y, et al. *Rheology of tear film lipid layer spread in normal and aqueous tear-deficient dry eyes*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(12):5319-24
- ³⁸ **Yokoi N**, Bron AJ. *Relationship between tear volume and tear meniscus curvature*. *Arch Ophthalmol* 2004;122(9):1265-9
- ³⁹ **Gaffney EA**, Tiffany JM, Yokoi N, Bron AJ. *A mass and solute balance model for tear volume and osmolarity in the normal and the dry eye*. *Prog Retin Eye Res* 2010;29(1):59-78
- ⁴⁰ **Lemp MA**, Bron AJ, Baudouin C, et al. *Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease*. *Am J Ophthalmol* 2011;151(5):792-798.e1
- ⁴¹ **Nichols JJ**, Sinnott LT. *Tear film, contact lens, and patient-related factors associated with contact lens-related dry eye*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006 Apr;47(4):1319-28.

-
- ⁴² **Zhonghua Yan**. *The effects of hyperosmotic stress on rabbit ocular surface and mucin 5AC expression* 2011 Mar;47(3):252-9.
- ⁴³ **Sweeney DF**, Millar TJ, Raju SR. *Tear film stability: a review*. *Exp Eye Res*. 2013 Dec;117:28-38.
- ⁴⁴ **Hirata H**, Mizerska K, Marfurt CF. *Hyperosmolar Tears Induce Functional and Structural Alterations of Corneal Nerves: Electrophysiological and Anatomical Evidence Toward Neurotoxicity*. *Rosenblatt M Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015 Dec 1;56(13):8125-8140.
- ⁴⁵ **Montes-Mico R**, Alio JL, Charman WN. *Dynamic changes in the tear film in dry eyes*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(5):1615-9
- ⁴⁶ **Ferrer-Blasco T**, Garcia-Lazaro S, Montes-Mico R, Cervino A, Gonzalez-Meijome JM. *Dynamic changes in the air-tear film interface modulation transfer function*. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010;248(1):127-32
- ⁴⁷ **Kaido M**, Matsumoto Y. *Corneal fluorescein staining correlates with visual function in dry eye patients*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(13):9516-22
- ⁴⁸ **Kaido M**, Dogru M, Ishida R, Tsubota K. *Concept of functional visual acuity and its applications*. *Cornea* 2007;26(9 Suppl 1):S29-35
- ⁴⁹ **Kaido M**, Ishida R, Dogru M, Tsubota K. *The relation of functional visual acuity measurement methodology to tear functions and ocular surface status*. *Jpn J Ophthalmol*. 2011 Sep;55(5):451-9.
- ⁵⁰ **Ridder 3rd WH**, Tomlinson A, Huang JF, Li J. *Impaired visual performance in patients with dry eye*. *Ocul Surf* 2011;9(1):42-55
- ⁵¹ **Habay T**, Majzoub S², Perrault O. *Objective assessment of the functional impact of dry eye severity on the quality of vision by double-pass aberrometry*. *J Fr Ophtalmol*. 2014 Mar;37(3):188-94.
- ⁵² **Schiffman RM**, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. *Arch Ophthalmol*. 2000 May;118(5):615-21. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index.
- ⁵³ **Vitale S**, Goodman LA, Reed GF, Smith JA. *Comparison of the NEI-VFQ and OSDI questionnaires in patients with Sjögren's syndrome-related dry eye*. *Health Qual Life Outcomes*. 2004;1:42-44.
- ⁵⁴ **Joseph R. Grubbs Jr**, MPH. *A Review of Quality of Life Measures in Dry Eye Questionnaires*. *Cornea*. 2014 February ; 33(2): 215–218.
- ⁵⁵ **Lemp MA**, Bron AJ, Baudouin C, Benítez Del Castillo JM. *Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease*. *Am J Ophthalmol*. 2011 May;151(5):792-798.
- ⁵⁶ **Versura P**, Profazio V, Campos EC. *Performance of tear osmolarity compared to previous diagnostic tests for dry eye diseases*. *Curr Eye Res*. 2010;35(7):553–564.
- ⁵⁷ **Tomlinson A**, Khanal S, Ramaesh K, et al. *Tear film osmolarity:determination of a referent for dry eye diagnosis*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:4309-15.
- ⁵⁸ **Jacobi C**, Jacobi A, Kruse FE, et al. *Tear film osmolarity measurements in dry eye disease using electrical impedance technology*. *Cornea* 2011;30:1289-92
- ⁵⁹ **Sullivan BD**, Whitmer D, Nichols KK, et al. *An objective approach to dry eye disease severity*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:6125-30.
- ⁶⁰ **Tomlinson A**, Madden LC, Simmons PA. *Effectiveness of dry eye therapy under conditions of environmental stress*. *Curr Eye Res*. 2013;38(2):229–236.
- ⁶¹ **López-Miguel A**, Tesón M, et al. *Dry eye exacerbation in patients exposed to desiccating stress under controlled environmental conditions*. *Am J Ophthalmol*. 2014;157(4):788–798.

- ⁶² **Sağdı́k HM**, Ugurbas SH, Can M, et al. *Tear film osmolarity in patients with diabetes mellitus*. *Ophthalmic Res*. 2013;50(1):1–5.
- ⁶³ **Türkyilmaz K**, Türkyilmaz AK, Kurt EE, Kurt A, Öner V. *Dry eye in patients with fibromyalgia and its relevance to functional and emotional status*. *Cornea*. 2013;32(6):862–866.
- ⁶⁴ **Iskeleli G**, Karakoc Y, Abdula A. *Tear film osmolarity in patients with thyroid ophthalmopathy*. *Jpn J Ophthalmol*. 2008;52(4):323–326.
- ⁶⁵ **Öncel BA**, Pinarci E, Akova YA. *Tear osmolarity in unilateral pseudoexfoliation syndrome*. *Clin Exp Optom*. 2012;95(5):506–509.
- ⁶⁶ **M'Garrech M**, Rousseau A et al. *Impairment of lacrimal secretion in the unaffected fellow eye of patients with recurrent unilateral herpetic keratitis*. *Ophthalmology*. 2013;120(10):1959–1967.
- ⁶⁷ **Stahl U**, Francis IC, Stapleton F. *Prospective controlled study of vapor pressure tear osmolality and tear meniscus height in nasolacrimal duct obstruction*. *Am J Ophthalmol*. 2006;141(6):1051–1056.
- ⁶⁸ **Khanal S**, Tomlinson A, Esakowitz L, et al. *Changes in corneal sensitivity and tear physiology after phacoemulsification*. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2008;28(2):127–134.
- ⁶⁹ **Vatinee Y**. Bunya. *Tear Osmolarity in Sjogren's Syndrome*. *Cornea*. 2013 Jul; 32(7): 922–927.
- ⁷⁰ **Utine CA**, Bıçakçıgil M. *Tear osmolarity measurements in dry eye related to primary Sjögren's syndrome*. *Curr Eye Res*. 2011 Aug;36(8):683-90.
- ⁷¹ **Richard Potvin**, Sarah Makari. *Tear film osmolarity and dry eye disease: a review of the literature*. *Clin Ophthalmol*. 2015; 9: 2039–2047.
- ⁷² **International Dry Eye Workshop**. The definition and classification of dry eye disease. In: 2007 Report of the International Dry Eye Workshop (DEWS) *Ocul Surf* 2007;5(2):75–92.
- ⁷³ **McMonnies CW**, Chapman-Davies A. *Assessment of conjunctival hyperemia in contact lens wearers*. Part I. *Am J Optom Physiol Opt*. 1987;64:246-50.
- ⁷⁴ **Thesis**: The evaluation of bulbar redness grading scales by Marc-Matthias Schulze
- ⁷⁵ **Rodriguez JD**, Johnston PR.. *Automated grading system for evaluation of ocular redness associated with dry eye*. *Clin Ophthalmol*. 2013;7:1197-204.
- ⁷⁶ **Fieguth P**, Simpson T. *Automated measurement of bulbar redness*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:340-7.
- ⁷⁷ **Amparo F**, Wang H. *The Ocular Redness Index: a novel automated method for measuring ocular injection*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Jul 18;54(7):4821-6.
- ⁷⁸ **Christophe Baudouin**, Keith Barton. *The measurement of bulbar hyperemia: challenges and pitfalls*. *Eur J Ophthalmol* 2015; 25 (4): 273-279
- ⁷⁹ **Schirmer O**. *Studien zur Physiologie und Pathologie der Tränenabsonderung und Tränenabfuhr*. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1903;56:197-291.
- ⁸⁰ **Halberg Gp**, Berens C. *Standardized Schirmer tear test kit*. *Am j Ophthalmol*. 1961 may; 51:840-2.
- ⁸¹ **Serin D**, Karslođlu S, Kyan A, Alagöz G. *A simple approach to the repeatability of the Schirmer test without anesthesia: eyes open or closed?* *Cornea*. 2007 Sep;26(8):903-6.
- ⁸² **Na Li**, Xin-Guo Deng, and Mei-Feng He. *Comparison of the Schirmer I test with and without topical anesthesia for diagnosing dry eye*. *Int J Ophthalmol*. 2012; 5(4): 478–481.

-
- ⁸³ **Bawazeer AM**, Hodge WG. *One-minute schirmer test with anesthesia*. *Cornea*. 2003 May;22(4):285-7.
- ⁸⁴ **Hamano H**, Hori M, Hamano T, et al. *A new method for measuring tears*. *CLAO J*. 1983;9:281-289.
- ⁸⁵ **Van Bijsterveld OP**. *Diagnostic test in sicca síndrome*. *Arch Ophthalmol* 1969;82:10-14
- ⁸⁶ **Vitali C**, Moutsopoulos HM, Bombardieri S. *The European Community Study Group on diagnostic criteria for Sjögren's syndrome. Sensitivity and specificity of tests for ocular and oral involvement in Sjögren's syndrome*. *Ann Rheum Dis*. 1994 Oct;53(10):637-47.
- ⁸⁷ **Nichols KK**, Mitchell GL. *Cornea. The repeatability of clinical measurements of dry eye*. 2004 Apr;23(3):272-85.
- ⁸⁸ **Farris R**, Stuchell RN, Mandel ID. *Basal and reflex human tear analysis. I. Physical measurements. Osmolarity, basal volumes, and reflex flow rate*. *Ophthalmology* 1981. 88: 852-57.
- ⁸⁹ **Mokhtarzadeh M**, Casey R. *Fluorescein punctate staining traced to superficial corneal epithelial cells by impression cytology and confocal microscopy*. *Inve Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Apr 5;52(5):2127-35
- ⁹⁰ **Argüeso P**. *Azúcares: una capa protectora excepcional de la superficie ocular*. *Arch Soc Esp Oftalmol* v.83 n.5 Madrid mayo 2008
- ⁹¹ **Bron AJ**, Evans VE, Smith JA. *Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests*. *Cornea*. 2003 Oct;22(7):640-50.
- ⁹² **Abdul-Fattah AM**, Bhargava HN. *Quantitative in vitro comparison of fluorescein delivery to the eye via impregnated paper strip and volumetric techniques*. *Optom Vis Sci*. 2002 Jul;79(7):435-8.
- ⁹³ **Johnson ME**, Murphy PJ. *The Effect of instilled fluorescein solution volume on the values and repeatability of TBUT measurements*. *Cornea*. 2005 Oct;24(7):811-7.
- ⁹⁴ **García-Resúa C**, Lira M. *Estudio del tiempo de ruptura lagrimal en una población joven*. *Rev. esp. contact*. 2005; 12: 17-26
- ⁹⁵ **Cho P**, Brown B. *Reliability of the tear break-up time technique of assessing tear stability and the locations of the tear break-up in Hong Kong*. *Chinese. Optom Vis Sci*. 1992 Nov;69(11):879-85.
- ⁹⁶ **Abelson MB**. *Alternative reference values for tear film break up time in normal and dry eye populations*. *Adv Exp Med Biol*. 2002;506(Pt B):1121-5.
- ⁹⁷ **Mengher LS**, Pandher KS. *Noninvasive tear film break-up time: sensitivity and specificity*. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1986;64:441-444.
- ⁹⁸ **Kojima T**, Ishida R. *A new noninvasive tear stability analysis system for the assessment of dry eyes*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:1369-74.
- ⁹⁹ **Egbert PR**, Lauber S, Maurice DM. *A simple conjunctival biopsy*. *Am J Ophthalmol* 1977;84:798–801.
- ¹⁰⁰ **Tseng**. *Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology*. *Ophthalmology* 1985;92:728–33.
- ¹⁰¹ **Marner K**. *Snake-like appearance of nuclear chromatin in conjunctival epithelial cells from patients with keratoconjunctivitis sicca*. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1980;58:849–53.
- ¹⁰² **Nelson JD**, Wright JC. *Conjunctival goblet cell densities in ocular surface disease*. *Arch Ophthalmol* 1984;102:1049–51.
- ¹⁰³ **Michael J**. *Goblet Cells of the Normal Human Bulbar Conjunctiva and Their Assessment by Impression Cytology Sampling*. *The ocular surface*. July 2012, Volume 10, Issue 3, Pages 149–169.

-
- ¹⁰⁴ **Doughty MJ.** *Sampling area selection for the assessment of goblet cell density from conjunctival impression cytology specimens.* Eye Contact Lens. 2012 Mar;38(2):122-9.
- ¹⁰⁵ **Aragona P.** *Impression cytology of the conjunctival epithelium in patients with vernal conjunctivitis.* Eye 1996;10:82-5.
- ¹⁰⁶ **Turacli E et al.** The effects of long-term topical glaucoma medication on conjunctival impression cytology. Int Ophthalmol 1997;21:27-33.
- ¹⁰⁷ **Sawada Y, Yuan C, Huang AJ.** Impression cytology in the diagnosis of acanthamoeba keratitis with surface involvement. Am J Ophthalmol 2004;137:328-8.
- ¹⁰⁸ **Tole D, McKelvie, Daniell M.** *Reliability of impression cytology for the diagnosis of ocular surface squamous neoplasia employing the Biopre membrane.* Br J Ophthalmol 2001;85:154-8.
- ¹⁰⁹ **Doughty MJ.** *A systematic assessment of goblet cell sampling of the bulbar conjunctiva by impression cytology.* Exp Eye Res. 2015 Jul;136:16-28.
- ¹¹⁰ **Green K et al.** *Tear potassium contributes to maintenance of corneal thickness.* Ophthalmic res 1992;24:99-102.
- ¹¹¹ **Ubels J et al.** *Effects of preservative-free artificial tear solutions on corneal epithelial structure and function.* Arch Ophthalmol 1995;113:371-8.
- ¹¹² **F. Reyes Ortega, G. Rodríguez.** Comportamiento reológico de geles biodegradables para aplicaciones en medicina regenerativa. Biomecánica, Vol.20, 2012, pp 7-19.
- ¹¹³ **Snibson GR, Greaves JL.** *Ocular surface residence times of artificial tear solutions.* Cornea 1992; 11: 288-293.
- ¹¹⁴ **Snibson GR, Greaves JL.** Ocular surface residence times of artificial tear solutions. Cornea 1992; 11: 288-293.
- ¹¹⁵ **Troiano P, Monaco G.** Effect of hypotonic 0.4% *hyaluronic acid* drops in dry eye patients: a cross-over study. Cornea. 2008 Dec;27(10):1126-30.
- ¹¹⁶ **Vico E, Quereda A, Benítez-del-Castillo JM.** *Estudio comparativo entre el hialuronato sódico al 0,15% y el alcohol polivinílico como tratamiento para el ojo seco.* Arch Soc Esp Oftalmol v.80 n.7 madrid jul. 2005
- ¹¹⁷ **Kong X, Yan C.** *Sodium hyaluronate's effect on xerophthalmia: a meta-analysis of randomized controlled trials.* Curr Med Res Opin. 2016 Mar;32(3):477-84.
- ¹¹⁸ **Kong X, Yan C.** Sodium hyaluronate's effect on xerophthalmia: a meta-analysis of randomized controlled trials. Curr Med Res Opin. 2016 Mar;32(3):477-84.
- ¹¹⁹ **Michael J Doughty, Sara Glavin.** *Efficacy of different dry eye treatments with artificial tears or ocular lubricants: a systematic review.* Ophthal. Physiol. Opt. 2009 29:573-583
- ¹²⁰ **Ioannidou E.** *Therapeutic modulation of growth factors and cytokines in regenerative medicine.* CurrFar Des. 2006; 12:2397-408.
- ¹²¹ **Rita Levi Montalcini, Cohen S.** *In vitro and in vivo effects of a growth nerve stimulating agent isolated snake venom.* Proc Nat Acad Sci USA.42:695-699. 1956.
- ¹²² **Bowen A y cols** *Técnicas quirúrgicas avanzadas para la regeneración ósea en implantología.* Gaceta dental 128:36-60.
- ¹²³ **Miyajima A.** *Cytokine receptor and signals transductions.* Ann Rev Immunol 10:295-331.1992.
- ¹²⁴ **López García JS, Murube del Castillo, J.** *Suero Autólogo y Derivados Hemáticos en Oftalmología.* Sociedad Española de Oftalmología, 2011.

- ¹²⁵ **Ralph RA**, Doane MG. *Clinical experience with a mobile ocular perfusion pump*. Arch Ophthalmol 1975;93:1039 –43.
- ¹²⁶ **Fox RI**, Chan R, Michelson JB,. *Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca*. Arthritis Rheum 1984;27:459 – 61.
- ¹²⁷ **Subota K**, Goto E. *Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjögren 's syndrome*. Br J Ophthalmol 1999;83:390 – 5
- ¹²⁸ **Subota K**, Goto E, Shimmura S. *Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application*. Ophthalmology 1999;106:1984 – 9.
- ¹²⁹ **Nishant G Soni** , Jeng BH. *Blood-derived topical therapy for ocular surface diseases*. Br J Ophthalmol. 2016 Jan;100(1):22-7.
- ¹³⁰ **Marquez De Aracena Del Cid R.**, *Subconjunctival application of regenerative factor-rich plasma for the treatment of ocular alkali burns*. Eur J Ophthalmol. 2009;19(6):909-15.
- ¹³¹ **Panda A**, Jain M, Vanathi M, Velpandian T, Khokhar S, Dada T. *Topical autologous plateletrich plasma eyedrops for acute corneal chemical injury*. Cornea. 2012;31(9):989-93.
- ¹³² **Javaloy J**, Alio JL, Rodriguez AE, Vega A, Munoz G. *Effect of platelet-rich plasma in nerve regeneration after LASIK*. J Refract Surg. 2013;29(3):213-9.
- ¹³³ **van der Meer PF**, Seghatchian. *Quality standards, safety and efficacy of blood-derived serum eye drops: A review*. J Refract Surg. 2013;29(3):213-9.
- ¹³⁴ **Anitua E**, Muruzabal F. *Plasma Rich in Growth Factors for the Treatment of Ocular Surface Diseases*. Curr Eye Res. 2016 Feb 1:1-8.
- ¹³⁵ **Alio JL**, Rodriguez AE. *Eye platelet-rich plasma in the treatment of ocular surface disorders*. Curr Opin Ophthalmol. 2015 Jul;26(4):325-32.
- ¹³⁶ **Anitua E**. *Autologous serum and plasma rich in growth factors in ophthalmology: preclinical and clinical studies*. Acta Ophthalmol. 2015 Dec;93(8):e605-14.
- ¹³⁷ **Avila MY**. *Restoration of human lacrimal function following platelet-rich plasma injection*. Cornea. 2014;33(1):18-21.
- ¹³⁸ **Alio JL**, Colecha JR, Pastor S, Rodriguez A, Artola A. *Symptomatic dry eye treatment with autologous platelet-rich plasma*. Ophthalmic Res. 2007;39(3):124-9.
- ¹³⁹ **López-Plandolit S**, Morales MC, Freire V, Grau AE, Durán JA. *Efficacy of plasma rich in growth factors for the treatment of dry eye*. Cornea. 2011 Dec;30(12):1312-7.
- ¹⁴⁰ **Tananuvat N**, Daniell M. *Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients*. Cornea 2001;20:802 –6.
- ¹⁴¹ **Noble BA**, Loh RS. *Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease*. Br J Ophthalmol 2004;88:647 – 52.
- ¹⁴² **Kojima T**, Ishida R, Dogru M, et al. *The effect of autologous serum eyedrops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study*. Am J Ophthalmol 2005;139:242 –6.
- ¹⁴³ **Urzua CA**, Vasquez DH, Huidobro A, et al . *Randomized double-blind clinical trial of autologous serum versus artificial tears in dry eye syndrome*. Curr Eye Res 2012;37:684–8.
- ¹⁴⁴ **Celebi AR**, Ulusoy C, Mirza GE. *The efficacy of autologous serum eye drops for severe dry eye syndrome: a randomized double-blind crossover study*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2014;252:619–26

- ¹⁴⁵ **Noda-Tsuruya T**, Asano-Kato N. *Autologous serum eye drops for dry eye after LASIK*. J Refract Surg 2006;22:61–6.
- ¹⁴⁶ **Wroblewski AP**, Melia HJ, Wright VJ. *Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair*. Oper Tech Orthop 2010; 20:98–105 .
- ¹⁴⁷ **Rachita Dhurat** and MS Suresh. *Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective*. J Cutan Aesthet Surg. 2014 Oct-Dec; 7(4): 189–197.
- ¹⁴⁸ **Anitua E**, Aguirre JJ, et al. *Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers*. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2008;84:415–21.
- ¹⁴⁹ **Marlovits S**, Mousavi M, et al. *A new simplified technique for producing platelet-rich plasma: A short technical note*. Eur Spine J. 13:102–06.
- ¹⁵⁰ **Dugrillon A**, Eichler H, Kern S, Klüter H. *Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration*. Int J Oral Maxillofac Surg. 2002;31:615–9.
- ¹⁵¹ **Sweeny J**, Grossman BJ. *Blood collection, storage and component preparation methods*. In: Brecher M, editor. Technical Manual. 14th ed. Bethesda MD: American Association of Blood Banks (AABB); 2002. pp. 955–8.
- ¹⁵² **Freire V**, Andollo N,. *In Vitro Effects of Three Blood Derivatives on Human Corneal Epithelial Cells*. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 2012;53(9):5571-8.
- ¹⁵³ **Freire V**, Andollo N,. *In Vitro Effects of Three Blood Derivatives on Human Corneal Epithelial Cells*. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 2012;53(9):5571-8.
- ¹⁵⁴ **Scherer SS**, Tobalem M,. *Nonactivated versus thrombin-activated platelets on wound healing and fibroblast-to-myofibroblast differentiation in vivo and in vitro*. Plast Reconstr Surg. 2012 Jan;129(1).
- ¹⁵⁵ **Yoon KC**. *Aplicación of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of neuropathic keratitis*. Ophthalmology 2007; 114: 1637-42.
- ¹⁵⁶ **Anitua E**, Andia I, Ardanza B. *Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration*. Thromb Haemost. 2004;91:4-15.
- ¹⁵⁷ **López-García J.S.**, García-Lozano I. *Aplicaciones del suero autólogo en oftalmología*. Arch Soc Esp Oftalmol v.82 n.1 Madrid ene. 2007.
- ¹⁵⁸ **Geerling G**, MacLennan S, Hartwig D. *Autologous serum eye drops for ocular surface disorders*. Br J Ophthalmol. 2004;88(11):1467-74.
- ¹⁵⁹ **Pezzotta S**, Del Fante C,. *Autologous platelet lysate for treatment of refractory ocular GVHD*. Bone Marrow Transplant. 2012;47(12):1558-63.
- ¹⁶⁰ **Ronci C**, Ferraro AS. *Platelet-rich plasma as treatment for persistent ocular epithelial defects*. Transfus Apher Sci. 2015 Jun;52(3):300-4.
- ¹⁶¹ **Nishida T**, Nakamura M. *Sinergistic effects of substance P with insulin like growth factor-1 on epithelial migration of the cornea*. J Cell Physiol 1996;169: 159-66.
- ¹⁶² **Pezzotta S**, Del Fante C. *Autologous platelet lysate for treatment of refractory ocular GVHD*. Bone Marrow Transplant. 2012 Dec;47(12):1558-63.
- ¹⁶³ **Alio JL**, Rodriguez AE. *Bovine pericardium membrane (tutopatch) combined with solid platelet-rich plasma for the management of perforated corneal ulcers*. Cornea. 2013;32(5):619-24.
- ¹⁶⁴ **Alio JL**, Abad M, Artola A. *Use of autologous platelet-rich plasma in the treatment of dormant corneal ulcers*. Ophthalmology. 2007;114(7):1286-93.

-
- ¹⁶⁵ **Vick VL**, Holds JB. *Use of autologous platelet concentrate in blepharoplasty surgery*. Ophthal Plast Reconstr Surg. 2006 Mar-Apr;22(2):102-4.
- ¹⁶⁶ **Kang BK**, Shin MK. *Effects of platelet-rich plasma on wrinkles and skin tone in Asian lower eyelid skin: preliminary results from a prospective, randomised, split-face trial*. Eur J Dermatol. 2014 Jan-Feb;24(1):100.
- ¹⁶⁷ **Paques M**, Chastang C. *Effect of autologous platelet concentrate in surgery for idiopathic macular hole: results of a multicenter, double-masked, randomized trial*. Platelets in Macular Hole Surgery Group. Ophthalmology. 1999 May;106(5):932-8.
- ¹⁶⁸ **Todorich B**, Sharma S. *Successful repair of recurrent optic disk pit maculopathy with autologous platelet rich plasma: report of a surgical technique*. Retin cases brief rep. 2016 Jan 28.
- ¹⁶⁹ **Benitez de Castillo JM** y col. *Treatment of recurrent corneal erosions using autologous serum*. Cornea 2002;21(8):781-783.
- ¹⁷⁰ **Sangwan VS** y col. *Mooren's ulcer: current concepts in management*. Curr ophthalmol 1997;45 (1):7-17.
- ¹⁷¹ **Goto E**, Shimmura S. *Treatment of superior limbic keratoconjunctivitis by application of autologous serum*. Cornea 200; 20: 807-810.
- ¹⁷² **Matsumoto Y** and col. *Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy*. Ophthalmology 2004; 111: 1115-1120.
- ¹⁷³ **Harney M** and col. *Treatment controversies in Bell's palsy*. Iris Medicine Journal 2003; 96: 197-8.
- ¹⁷⁴ **Sauer R** et al. *Sterility on non-preserved autologous serum drops for treatment of persistent corneal epithelial defects*. Ophthalmologie 2004; 101:705-9.
- ¹⁷⁵ **Geremicca W**, Fonte C, Vecchio S. *Blood components for topical use in tissue regeneration: evaluation of corneal lesions treated with platelet lysate and considerations on repair mechanisms*. Blood Transfus. 2010;8(2):107-12.
- ¹⁷⁶ **Merayo-Llodes J**, Sanchez RM. *Autologous Plasma Rich in Growth Factors Eyedrops in Refractory Cases of Ocular Surface Disorders*. Ophthalmic Res. 2015 Dec;55(2):53-61.
- ¹⁷⁷ **Alio JL**, Pastor S, Ruiz-Colecha J, Rodriguez A, Artola A. *Treatment of ocular surface syndrome after LASIK with autologous platelet-rich plasma*. J Refract Surg. 2007;23(6):617-9.
- ¹⁷⁸ **Lopez-Plandolit S**, Morales MC, Freire V. *Plasma rich in growth factors as a therapeutic agent for persistent corneal epithelial defects*. Cornea. 2010;29(8):843-8.