



Aplicación de suero autólogo en patología de la superficie ocular

María Rosario Salas-Cervantes,* Leticia Vázquez-Maya,*
Lilian Hernández-Mendoza,** Goujon Palmeros-Morgado**

RESUMEN

El uso de suero autólogo (SA) en oftalmología se ha implementado con éxito como sustituto de lágrima en ojo seco severo o defectos epiteliales persistentes de la superficie ocular. **Objetivo:** Observar los efectos del suero autólogo como tratamiento coadyuvante en pacientes con patología de la superficie ocular que no responden a tratamiento convencional. **Material y métodos:** Estudio prospectivo, longitudinal, no comparativo, serie de casos. Los pacientes que asistieron a la consulta externa del Servicio de Córnea de marzo a noviembre del 2007, con defecto de epitelización en la superficie ocular, fueron tratados con suero autólogo obtenido de sangre periférica preparado para aplicación oftálmica, previa exploración oftalmológica completa. **Resultados:** 16 ojos (11 pacientes), edad promedio de 46 años (rango: 17-68). El tiempo promedio de ruptura lagrimal (TRL) inicial fue de 2.27 segundos, mientras que al tercer mes de tratamiento fue de 5.09 segundos. Al inicio, la tinción de fluoresceína resultó positiva en 79.5% de los casos, y al tercer mes fue positiva en 13.6%. Todos los pacientes refirieron mejoría en la sintomatología. **Conclusiones:** El suero autólogo en preparación oftálmica demostró ser útil en patología de la superficie ocular cuando el tratamiento convencional no es suficiente.

Palabras clave: Suero autólogo, defecto epitelial, superficie ocular, ojo seco.

ABSTRACT

*The use of autologous serum in the ophthalmology field has been utilized successfully by several authors, such as a substitute of eye tear in severe dry eye problem or in persistent epithelial defects of the ocular surface. **Objective:** To observe the effects of autologous serum, such as a coadjuvant treatment, in patients with ocular surface pathology do not respond with traditional treatment. **Material and methods:** Prospective, longitudinal, not comparative case series study is performed in patients at the external Service of Cornea Department with an epithelial defect of the ocular surface, from March to November 2007. Prior a complete ophthalmologic exploration, from periphery venous blood extraction, in ophthalmology solution, autologous serum is used. **Results:** 16 eyes (11 patients), 8 females (73%), 3 males (27%), 46 years of age (r = 17-68). The initial tear break-up time (TBUT) of 2.27 seconds mean, third month mean TBUT of 5.09 seconds. At the beginning the 79.5% of dye staining fluorescein (PDSF) was positive, three months after treatment PDSF result 13.6% positive cases. All the patients refer improvement in symptomatology. **Conclusions:** Ophthalmology solution of autologous serum, display a great utility in the ocular surface pathology when the conventional treatment is not sufficient.*

Key words: Autologous serum, epithelial defect, ocular surface, dry eye.

INTRODUCCIÓN

El uso de suero autólogo en oftalmología se ha implementado por la necesidad de encontrar sustitutos

lagrimales que, además de humidificar, aporten otros componentes presentes en la lágrima y que se encuentran disminuidos en casos de ojo seco o condiciones de la superficie ocular que retrasan la epitelización normal.¹ También han sido utilizados, además de los tratamientos convencionales (lágrimas artificiales, lente de contacto terapéutico, recubrimiento conjuntival, tarsorrafia, membrana amniótica), suero fetal bovino y suero extraído del cordón umbilical.²

* Servicio de Córnea y Cirugía Refractiva. Hospital general de México (HGM).

** Servicio de Hematología. HGM.

El suero autólogo (SA) ha sido descrito por diferentes autores, como sustituto de lágrima en el tratamiento de defectos epiteliales persistentes (DEP) y en el contexto de ojo seco severo.⁵ Aunque aún no se conocen totalmente los mecanismos de acción del suero autólogo sobre los epitelios oculares,⁵ se sabe que contiene algunos componentes implicados en la proliferación, migración y diferenciación de las células epiteliales de la superficie ocular, tal es el caso de la proliferación de células epiteliales del limbo y la córnea.⁶ Incluso, en estudios *in vitro* con células del epitelio conjuntival, se ha demostrado un efecto dosis-dependiente del suero autólogo sobre la expresión de mucinas, en especial de mucina 1, mediado por receptores para el factor de crecimiento epitelial (EGF33) presentes en las células caliciformes.⁷ Entre los componentes del suero con mayor importancia están el EGF, el factor transformante de crecimiento beta (TGF- β), la vitamina A, la fibronectina, la albúmina, la α 2 macroglobulina, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-AB), neuropéptidos como la sustancia P y el factor de crecimiento tipo insulina 1.

Estos factores tienen efecto trófico sobre la dinámica epitelial, tal es el caso del EGF que acelera el proceso de migración de las células epiteliales⁸ y tiene efectos antiapoptóticos;¹⁰ está presente tanto en la secreción lagrimal basal como en la refleja¹² en concentración inferior a la que se encuentra en el suero autólogo. La concentración en suero de TGF- β , implicado en los procesos de reparación epitelial y estromal,¹³⁻¹⁶ es casi tres veces mayor que la encontrada en lágrima. La vitamina A parece prevenir los procesos de metaplasia escamosa de los epitelios;⁷ su concentración en suero es superior a la encontrada en lágrima. La albúmina ha demostrado actividad antiapoptótica,¹⁷ mientras que la α 2 macroglobulina presenta actividad de anticlagenasa.¹⁸ La fibronectina es sin duda uno de los factores más importantes en la migración celular^{19,20} y su concentración en el suero es también mayor que la encontrada en lágrima. Además, la sustancia P y el factor de crecimiento tipo insulina 1 presentes en el suero autólogo y ampliamente producidos en el organismo parecen estar implicados en la migración y adhesión celular del epitelio corneal.²¹ El PDGF-AB, una de las cinco isoformas de PDGF, se activa intracelularmente mientras es secretado por los gránulos alfa de las plaquetas activadas, favorece la mitosis y la cicatrización. Más aún, el suero autólogo contiene IgG, lisozima y factores del complemento que aportan efecto bactericida y bacteriostático, por lo que sus efectos sobre la superficie ocular están determinados por sus numerosas propiedades.

El suero presenta características similares a las de la lágrima (pH y osmolaridad); al igual que ésta, contiene abundantes factores de crecimiento y bactericidas que hacen que el tratamiento con suero autólogo tópico no sólo humidifique la superficie ocular, sino que también aporte factores nutricionales y de crecimiento, necesarios para mantener la viabilidad celular en los procesos de reparación epitelial, y componentes bactericidas que reducen el riesgo de contaminación e infección.

El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos del suero autólogo como tratamiento coadyuvante en pacientes con patología de la superficie ocular anterior que no respondieron a tratamiento convencional.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio prospectivo, longitudinal, no comparativo de serie de casos, en el que se incluyeron pacientes con defectos en la epitelización corneal sin curación y sin respuesta al tratamiento convencional por más de dos semanas, que acudieron a la consulta externa del Servicio de Córnea del Hospital General de México, del mes de marzo a noviembre del 2007. Fueron excluidos de este estudio enfermos conocidos con VIH, hepatitis B o C, y pacientes que se rehusaron a participar en el proyecto de investigación. Todos los sujetos firmaron hoja de consentimiento informado. La preparación del suero autólogo se realizó en el Servicio de Hematología.

A todos los pacientes se les practicó examen oftalmológico completo que incluyó: capacidad visual (cartilla de Snellen), biomicroscopia del segmento anterior, toma de presión intraocular (aplanación), exploración del fondo de ojo. Y se realizó un seguimiento mediante fotografías digitales que fueron estudiadas por investigadores independientes.

Las variables a estudiar fueron: Tiempo de ruptura lagrimal, integridad corneal, tiempo y grado de epitelización (tinción con fluoresceína), inflamación conjuntival y vascularización.

Se investigó la asociación con enfermedades sistémicas. Se evaluó clínicamente a los pacientes en los días primero y tercero, en las semanas primera y segunda, así como en los meses primero, segundo y tercero, estudiando las variables ya mencionadas.

Para la preparación del suero autólogo fueron extraídos 40 mL de sangre periférica mediante venopunción (tubos de extracción al vacío con gelosa sin anticoagulante). La sangre se colocó en tubos (posición vertical a 22°C durante una hora); una vez coaguladas las muestras, se centrifugaron durante 15 minutos a 1,500

revoluciones por minuto (rpm) y se obtuvieron aproximadamente 5 mL de suero por tubo. Posteriormente, se procedió a la preparación del colirio con el suero fresco o almacenado (ultracongelación a -70°C); en la mayoría de los casos la preparación se efectuó a partir de suero autólogo fresco. En condiciones asépticas bajo campana de flujo laminar, se realizó una dilución 1:1 con solución salina balanceada, y se envasó en frascos estériles debidamente etiquetados. El paciente debía mantener el colirio en uso en refrigeración convencional, y el resto en congelación a -10°C hasta su uso. El suero autólogo se administró con la siguiente posología: una gota en el ojo en estudio cada cuatro horas por al menos tres meses o hasta que el defecto epitelial se restaurara o las condiciones de la superficie ocular mejoraran; el frasco fue cambiado semanalmente. Se instruyó al paciente para que cada vez que asistiera a consulta trajera el frasco o los frascos ya utilizados para depositarlos en los contenedores de material biocontaminado.

Se realizó estadística descriptiva incluyendo tablas de frecuencia, medidas de dispersión, medidas de tendencia central; estadística inferencial: análisis de varianza de uno y dos factores de Fisher (ANOVA paramétrico), análisis de varianza de Kruskal-Wallis (ANOVA no paramétrico), prueba de Wilcoxon para muestras dependientes, prueba de comparaciones múltiples postANOVA de Dunnett, prueba de comparaciones múltiples postANOVA de Duncan, análisis de varianza de Friedman (ANOVA), coeficiente de concordancia de Kendall, prueba de la mediana.

RESULTADOS

Se incluyeron 16 ojos de 11 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, ocho mujeres (73%) y tres hombres (27%), con promedio de edad de 46 años (rango 17 a 68), todos ellos sin respuesta a tratamiento convencional y con los siguientes diagnósticos (*Cuadro I*): tres pacientes (27%) con queratitis ulcerativa periférica asociada a artritis reumatoide y tratamiento sistémico a base de metotrexate, prednisona, más tratamiento tópico con lubricantes libres de conservadores, ciclosporina A al 0.05%, ciclopléjicos y epitelizantes. Tres (27%) sujetos con diagnóstico de úlcera trófica; una enferma con diabetes mellitus y úlcera trófica secundaria a resección de melanoma conjuntival, la cual se manejó con lubricantes, epitelizantes, ciclopléjicos, antibióticos profilácticos (quinolona de cuarta generación) y parche oclisor, esta mujer fue estudiada por el Servicio de Gastroenterología por sospecha de metástasis gástrica; tres

meses después acude a consulta por vaciamiento ocular, ameritando evisceración. Dos pacientes con diabetes mellitus y úlcera trófica bilateral fueron controlados por endocrinología, y se les dio tratamiento tópico con lubricantes, epitelizantes, antibióticos profilácticos y lente de contacto terapéutico. Tres pacientes (27%) (cinco ojos), con úlcera corneal, dos de los casos de origen bacteriano y uno viral; los pacientes con úlcera corneal bacteriana fueron tratados con antibióticos tópicos, ciclopléjicos y lubricantes, presentando retraso en la epitelización como secuela; la paciente con úlcera por herpes zoster y antecedente de artritis reumatoide fue manejada con aciclovir tópico y sistémico, lubricantes, ciclopléjicos; después de una aparente mejoría, desarrolló úlcera corneal de fondo inmunológico, por lo que se sometió a tratamiento sistémico con inmunosupresores (Servicio de Reumatología) y tratamiento tópico con ciclosporina al 0.05% y lente de contacto. Un paciente (9%) con ojo seco severo tratado con lubricantes sin conservadores, ciclosporina A al 0.05%; otro paciente (9%) con queratoconjuntivitis atópica con úlceras en escudo secundarias, manejada con antialérgicos tópicos, estabilizadores de mastocitos, lubricantes, esteroides tópicos, resección de papilas, e inyección de esteroides intralesionales.

Las enfermedades sistémicas asociadas fueron: seis pacientes con artritis reumatoide (54%), tres con diabetes mellitus (27%), uno con lupus eritematoso sistémico (9%) y dos sin enfermedad sistémica diagnosticada (18%) (*Cuadro II*).

Cuadro I. Diagnósticos oftalmológicos.

Diagnósticos	n
Queratitis ulcerativa periférica	3
Úlcera trófica	3
Úlcera corneal infecciosa	3
Queratoconjuntivitis atópica	1
Ojo seco	1

Cuadro II. Enfermedades sistémicas asociadas.

Enfermedades	n
Diabetes mellitus	5
Artritis reumatoide	3
Lupus eritematoso sistémico	1
Sanos	2

El tiempo promedio de ruptura lagrimal (TRL) inicial fue de 2.3 segundos; a los tres meses de tratamiento convencional más suero autólogo el promedio de TRL fue de 5.1 segundos, sin diferencia entre género y, a pesar de que no existió significancia estadística ($p = 0.065$), esta diferencia sí tiene relevancia clínica. El tiempo y grado de epitelización se estudió mediante la prueba de tinción con fluoresceína, la cual al inicio del estudio fue positiva en 79.5% de los casos; al tercer mes de tratamiento con suero autólogo la prueba fue positiva sólo en 13.6% de los casos, la diferencia observada fue estadísticamente significativa a partir de la segunda semana de tratamiento ($p = 0.00001$) (Figura 1). Inicialmente la reacción inflamatoria conjuntival fue positiva en un 79.5% promedio de los casos, a los tres meses disminuyó a 18.6% (disminución estadísticamente significativa

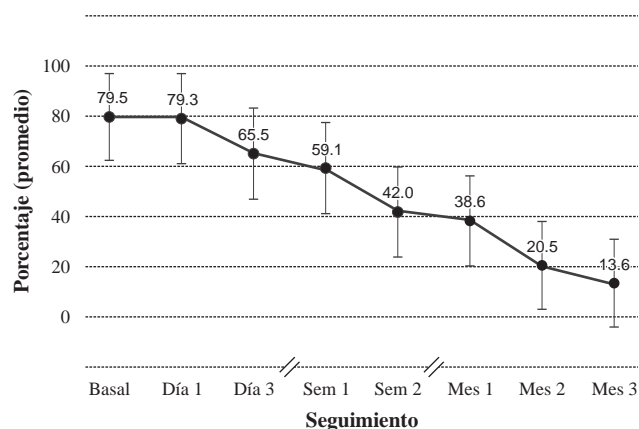


Figura 1. Tiempo y grado de epitelización. El tiempo y grado de epitelización se estudió mediante la prueba de tinción con fluoresceína. Al inicio del estudio fue positiva en 79.5% de los casos y a los tres meses de tratamiento sólo fue positiva en 13.6% ($p = 0.00001$).

desde la primera semana, valor de p a los tres meses igual a 0.00001). Al estudiar la extensión del defecto corneal encontramos disminución importante desde el primer mes del tratamiento, extensión inicial en ojo derecho (OD) del 49.1% en promedio y al tercer mes encontramos una extensión del 5.0% promedio ($p = 0.00001$ al tercer mes); en ojo izquierdo (OI) encontramos una extensión inicial del 53.6% promedio y al tercer mes disminuyó a 12.7% ($p = 0.00009$, final). Al evaluar el grado de vascularización, no encontramos cambios clínicos ni estadísticos significativos en los casos estudiados. Finalmente, es importante hacer énfasis, en que todos los pacientes refirieron mejoría en la sintomatología desde el inicio del tratamiento con suero autólogo.

DISCUSIÓN

En este estudio observamos mejoría en las condiciones de la superficie ocular en 10 de 11 pacientes, ya que la respuesta inflamatoria, la prueba de tinción con fluoresceína y la extensión de la lesión, evolucionaron favorablemente desde la segunda semana del tratamiento coadyuvante con suero autólogo ($p < 0.05$). Estos resultados sugieren que el tratamiento con suero autólogo acelera y favorece el crecimiento y trofismo celular, facilitando la cicatrización, probablemente a través de la acción del factor de crecimiento epidérmico (EGF), entre otros factores presentes en el suero como la vitamina A,²² cuya concentración en suero es superior a la encontrada en lágrima. Además, el suero contiene antiproteasas semejantes a la $\alpha 2$ macroglobulina, con actividad anticlagenasa,⁷ lo que sugiere que el uso del suero autólogo puede ser de utilidad, incluso en quemaduras por álcalis y en úlceras marginales autoinmunes, como lo demostramos



Figura 2.

Paciente femenino con artritis reumatoide, con úlcera corneal y perforación de menos de 1 mm. Se le colocó cianoacrilato y lente de contacto; fue manejada con ciclosporina al 0.5%, ciclopléjico y suero autólogo. Se puede observar el cuadro inicial (fotografía de la izquierda) y el seguimiento a los tres meses (fotografía de la derecha).

al tratar con éxito con suero autólogo y ciclosporina tópica 0.5% (*Figura 1*) un caso avanzado de úlcera inmunológica, en el que la úlcera epitelizó completamente, a pesar de que existía cierta insuficiencia de células del limbo.

Los resultados expuestos, demuestran que el tratamiento coadyuvante con suero autólogo en pacientes con patología de la superficie ocular que no responden al tratamiento convencional favoreció la evolución clínica en la mayoría de los casos estudiados. El suero autólogo facilita la estabilidad del microambiente celular limbar, generando la epitelización y curación de estas lesiones, al igual que la membrana amniótica. Además, la técnica de obtención del suero autólogo es sencilla, económicamente viable, reproducible y, por obtenerse a partir del mismo paciente, no existen riesgos infectocontagiosos. Tal vez las limitantes serían la necesidad de realizar múltiples venopunciones al paciente y la indispensable necesidad de preparar el suero en condiciones asépticas.

Si comparamos los beneficios del suero autólogo con otros tratamientos convencionales, también existen ventajas; por ejemplo, las lágrimas artificiales proporcionan lubricación pero no nutrición, ni contienen toda la gama de factores de crecimiento, bactericidas y bacteriostáticos, como los presentes en el suero autólogo. Además, ha sido descrito que las lágrimas artificiales tipo hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) al 0.3% son inapropiadas para mantener niveles intracelulares de ATP y, por consiguiente, la integridad de la membrana celular en células epiteliales humanas.²² Por lo que consideramos que el tratamiento con suero autólogo es eficaz como terapia coadyuvante al tratamiento estándar de problemas de epitelización de la superficie ocular (lubricación artificial sin conservadores, tarsorrafia, lente de contacto terapéutico, injerto de limbo o de membrana amniótica),^{22,23} superando a la terapia con lágrimas artificiales en casos de ojo seco grave, por ser una fuente de factores de crecimiento capaz de mantener la viabilidad celular del epitelio dañado.

CONCLUSIONES

El uso de suero autólogo es útil como tratamiento coadyuvante en alteraciones de la superficie ocular con retraso en la epitelización. Es una técnica segura, ya que se elimina el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas. Es una opción reproducible y de fácil acceso y bajo costo.

BIBLIOGRAFÍA

1. López- García, Gárcia-Lozano, Martínez-Garchitorena. Use of autologous serum in ophthalmic practice. Arch Soc Esp Ophthalmol 2007; 82: 9-20.
2. Vajpayee RB, Mukerji N, Tandon R, Sharma N, Pandey RM, Biswas NR et al. Evaluation of umbilical cord serum therapy for persistent corneal epithelial defects. Br J Ophthalmol 2003; 87: 1312-1316.
3. Borderie VM, Mourra N, Laroche L. Influence of fetal calf serum, fibroblast growth factors, and hepatocyte growth factor on three-dimensional cultures of human keratocytes in collagen gel matrix. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 1999; 237: 861-869.
4. Kirschner SE. Persistent corneal ulcers. What to do when ulcers won't heal. Vet Clin North Am Small Anim Pract 1990; 20: 627-642.
5. Alvarado -Valero MC, Martínez-Toldos JJ, Borrás-Blasco J, Alminana-Alminana A, Pérez-Ramos JM. Tratamiento de defectos epiteliales persistentes mediante suero autólogo. Arch Soc Esp Oftalmol 2004; 79: 537-542.
6. Kruse FE, Tseng SC. Serum differentially modulates the clonal growth and differentiation of cultured limbal and corneal epithelium. Invest Ophthalmol Vis Sci 1993; 34: 2976-2989.
7. Tsubota K, Goto E, Fujita H, Ono M, Inoue H, Saito I et al. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjogren's syndrome. Br J Ophthalmol 1999; 83: 390-395.
8. van Setten GB, Tervo T, Tervo K, Tarkkanen A. Epidermal growth factor (EGF) in ocular fluids: presence, origin and therapeutical considerations. Acta Ophthalmol Suppl 1992; 202: 54-59.
9. Pastor JC, Calonge M. Epidermal growth factor and corneal wound healing. A multicenter study. Cornea 1992; 11: 311-314.
10. Collins MK, Perkins GR, Rodríguez-Tarduchy G, Nieto MA, López-Rivas A. Growth factors as survival factors: Regulation of apoptosis. Bioessays 1994; 16: 133-138.
11. Rodeck U, Jost M, Kari C, Shih DT, Lavker RM, Ewert DL et al. EGF-R dependent regulation of keratinocyte survival. J Cell Sci 1997; 110: 113-121.
12. Ohashi Y, Motokura M, Kinoshita Y, Mano T, Watanabe H, Kinoshita S et al. Presence of epidermal growth factor in human tears. Invest Ophthalmol Vis Sci 1989; 30: 1879-1882.
13. Gupta A, Monroy D, Ji Z, Yoshino K, Huang A, Pflugfelder SC. Transforming growth factor beta-1 and beta-2 in human tear fluid. Curr Eye Res 1996; 15: 605-614.
14. Fredj-Reygrobelle D, Plouet J, Delayre T, Baudouin C, Bourret F, Lapalus P. Effects of aFGF and bFGF on wound healing in rabbit corneas. Curr Eye Res 1987; 6: 1205-1209.
15. Yoshino K, Garg R, Monroy D, Ji Z, Pflugfelder SC. Production and secretion of transforming growth factor beta (TGF-beta) by the human lacrimal gland. Curr Eye Res 1996; 15: 615-624.
16. Wilson SE, Lloyd SA, Kennedy RH. Basic fibroblast growth factor (FGF) and epidermal growth factor (EGF) receptor messenger RNA production in human lacrimal gland. Invest Ophthalmol Vis Sci 1991; 32: 2816-2820.

17. Shimmura S, Ueno R, Matsumoto Y, Goto E, Higuchi A, Shimazaki J et al. Albumin as a tear supplement in the treatment of severe dry eye. *Br J Ophthalmol* 2003; 87: 1279-1283.
18. Poon AC, Geerling G, Dart JK, Fraenkel GE, Daniels JT. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and *in vitro* toxicity studies. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1188-1197.
19. Nishida T, Ohashi Y, Awata T, Manabe R. Fibronectin. A new therapy for corneal trophic ulcer. *Arch Ophthalmol* 1983; 101: 1046-1048.
20. Phan TM, Foster CS, Shaw CD, Zagachin LM, Colvin RB. Topical fibronectin in an alkali burn model of corneal ulceration in rabbits. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 414-419.
21. Nishida T, Nakamura M, Ofuji K, Reid TW, Mannis MJ, Murphy CJ. Synergistic effects of substance P with insulin-like growth factor-1 on epithelial migration of the cornea. *J Cell Physiol* 1996; 169: 159-166.
22. Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J. Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology* 1999; 106: 1984-1989.
23. Díaz-Valle D, Benítez del Castillo SJM, Díaz RE, Toledano FM, Arteaga SA, Sayagués GO. Manejo de la queratopatía neurotrófica mediante tarsorrafia con cianoacrilato y suero autólogo. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2003; 78: 119-122.

Correspondencia:

Dra. Leticia Vázquez-Maya
Hospital General de México
Servicio de Córnea y Cirugía Refractiva
Dr. Balmis núm. 148
Col. Doctores
06726 México, D.F.
Tel: (044) 55 15 99 90 75
E-mail: letivaz@yahoo.com.mx