

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE LA
PRODUCCIÓN Y LAS APLICACIONES DEL
SUERO AUTÓLOGO PARA USO
OFTALMOLÓGICO

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de
Estudios de Posgrado en Oftalmología para optar al grado y título
de Especialista en Oftalmología

Pui Ming Tony Ye Ng

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2022

DEDICATORIA

A mi esposa K.G.L. quien ha estado siempre a mi lado apoyándome, aconsejándome y alentándome. Gracias por estar presente en todos los momentos tanto alegres como los difíciles de este proceso y por ser la inspiración que me hace querer esforzarme todos los días a mejorar.

A mis padres quienes son mi ejemplo a seguir de esfuerzo y perseverancia. Gracias por darme todas las herramientas necesarias para poder llegar hasta este punto en mi vida.

A mis hermanos que espero poder ser un ejemplo a seguir en sus vidas y un apoyo en todo lo que necesiten.


AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rafael García Sáenz, jefe de posgrado y del servicio de oftalmología del Hospital México quien fue el que me introdujo al mundo de la oftalmología desde la rotación en el curso de cirugía en mi quinto año de pregrado. Siempre tendré en mi recuerdo que esa rotación fue la determinante para decidir mis futuros años de profesión.

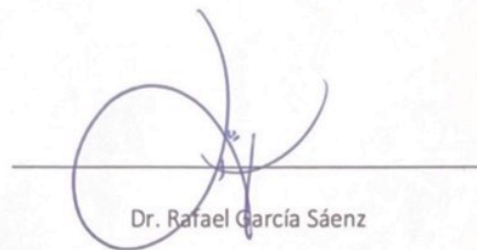
Al Dr. Jorge Ramírez Boza quien me dio la oportunidad de conocer el funcionamiento del Banco de Ojos en donde se produce el suero autólogo de la Clínica Oftalmológica y el desarrollo de este trabajo. A todos los profesores que me guiaron en estos cuatro años de especialidad.

A mis compañeros residentes por todo lo que vivimos juntos durante estos años, por las cosas que me enseñaron y por la confianza que tuvieron en mí durante mi jefatura de residentes.

“Esta Tesis fue aceptada por la Comisión de Estudios de Posgrado en Oftalmología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado académico de Especialista en Oftalmología.”

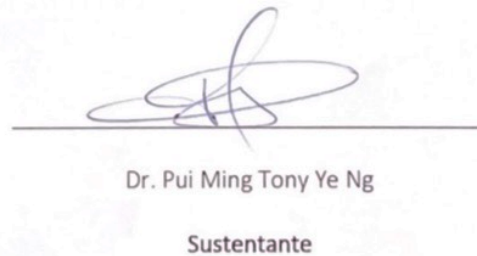


Dr. Jorge Ramírez Boza
Tutor de Tesis



Dr. Rafael García Sáenz

Director del Programa de Estudios de Posgrado en Oftalmología



Dr. Pui Ming Tony Ye Ng
Sustentante

ÍNDICE

Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Índice	v
Resumen.....	vi
Lista de Tablas.....	vii
Lista de Figuras.....	viii
Introducción.....	10
Marco Teórico	12
Formulación y Componentes.....	12
Proteínas.....	13
Factores de Crecimiento	14
Vitaminas	15
Fabricación del Suero Autólogo	16
Costos y Conveniencia del Paciente.....	16
Obtención y Procesamiento de la Sangre.....	16
Contraindicaciones para la Obtención de Sangre.....	19
Almacenamiento del Suero Autólogo.....	20
Efectos Adversos del Uso de Suero Autólogo.....	20
Otros Derivados Sanguíneos.....	21
Aplicaciones del Suero Autólogo	22
Ojo Seco Severo.....	23
Defectos Epiteliales Persistentes.....	24
Queratopatía Neurotrófica.....	25
Enfermedad Injerto versus Huésped.....	26
Dolor Neuropático Corneal	28
Penfigoide de las Membranas Mucosas.....	29
Propuesta de Esquema para la Producción de Suero Autólogo	30
Funcionamiento del Banco de Ojos de la Clínica Oftalmológica	31
Preparación Previa.....	31
Proceso	32
Educación al Paciente.....	35
Estadística de la Preparación del Suero Autólogo en el Banco de Ojos de la Clínica Oftalmológica.....	36
Conclusión	37
Bibliografía.....	38

RESUMEN

El suero autólogo se utilizó por primera vez en oftalmología en el año 1975 pero se volvió popular en los años 90s en donde hubo un incremento de literatura científica sobre sus aplicaciones. Este estudio se basa en una revisión bibliográfica sobre el suero autólogo describiendo sus componentes, su producción y algunas patologías en las que se aplica.

Dentro de sus componentes se encuentran proteínas, vitaminas, factores de crecimiento, factores neurotróficos que todos estos favorecen a mantener o recuperar la integridad corneal y conjuntival. Es por esta razón que su uso se centra en patologías que afectan la superficie ocular. Cabe mencionar que dentro de estas enfermedades se encuentra el ojo seco severo, síndrome de Sjögren, defectos epiteliales persistentes, queratitis neurotrófica, enfermedad injerto versus huésped, dolor neuropático corneal y penfigoide de membranas mucosas.

Su producción se obtiene de la sangre del paciente, la cual se extrae por venopunción. Posteriormente se centrifuga para separar los componentes celulares del suero. Luego se diluye con solución salina al 0,9% en la concentración deseada según la indicación de cada paciente. El suero se preserva mediante la congelación. Es importante saber que, al ser un derivado sanguíneo, existe la posibilidad de que el paciente tenga enfermedades infecciosas transmisibles por lo que a toda muestra se le realizan exámenes de rutina.

En Costa Rica el suero se produce a nivel privado y en el seguro social. Dentro de la Caja Costarricense de Seguro Social, su producción se centra en la Clínica Oftalmológica el Hospital Nacional de Niños y el Hospital San Juan de Dios. Los pacientes de diferentes zonas del país se refieren a estos centros para poder producir su suero autólogo.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Composición del suero autólogo versus la lágrima endógena	12
Tabla 2: Exámenes de rutina para enfermedades de transmisión sanguínea realizado a los pacientes que requieran suero autólogo.....	19
Tabla 3: Contraindicaciones para la donación de sangre para suero autólogo.....	20
Tabla 4: Indicaciones más frecuentes para el uso de suero autólogo.....	22
Tabla 5: Estadística de la Preparación del Suero Autólogo del 2010 al 2022 del Banco de Ojos de la Clínica Oftalmológica.....	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Venopunción en la fosa antecubital para recolección de sangre.....	17
Figura 2: Máquina de centrifugado para muestra sanguínea.....	17
Figura 3: Dilución del suero autólogo con solución salina al 0,9%.....	18
Figura 4: Córnea con defecto epitelial.....	25
Figura 5: Úlcera corneal en paciente con hipoestesia corneal.....	26
Figura 6: Ojo con enfermedad injerto versus huésped agudo mostrando conjuntivitis pseudomembranosa con afectación epitelial.....	27
Figura 7: Signos de penfigoide de membranas mucosas ocular con conjuntivitis cicatricial y formación de simbléfaron.....	29
Figura 8: Esquema para la producción de suero autólogo.....	30
Figura 9: Tubo de ensayo con sangre separada en fases previo a centrifugado.....	32
Figura 10: Tubos de ensayo colocados en la centrífuga de manera que el peso esté balanceado.....	33
Figura 11: Extracción del suero sobrenadante del coágulo sanguíneo.....	33
Figura 12: Rellenado de goteros con suero autólogo.....	34
Figura 13: Cierre hermético de goteros.....	34
Figura 14: Bolsa hermética con goteros de suero autólogo.....	35

INTRODUCCIÓN

La primera descripción del uso de derivados de la sangre del paciente para el tratamiento de enfermedades oftalmológicas fue en 1975 para tratar quemaduras oculares por álcalis (1). Posteriormente en 1984 se propone por los reumatólogos el uso del suero autólogo como sustituto de la lágrima endógena. No fue hasta en la década de los 90s que se empieza a utilizar el suero autólogo de manera más popular y de ahí el incremento exponencial de literatura científica (2). Cabe mencionar que existen pocos protocolos estandarizados para la confección del suero autólogo y hay discrepancia entre ellos.

Existen múltiples patologías oftalmológicas, entre ellas el ojo seco y las erosiones epiteliales recurrentes que se benefician en gran medida en el uso del suero autólogo (3). Dicho suero consiste en un preparado derivado de la sangre con una composición similar a la lágrima endógena con componentes que promueven estabilidad y cura de la superficie ocular restaurando la homeostasis de la capa lagrimal (1).

El suero autólogo contiene sustancias que favorecen la integridad corneal y conjuntival como la vitamina A, factores de crecimiento y fibronectina. Estos nutrientes promueven la viabilidad, proliferación, migración y diferenciación de células epiteliales corneales. También existen factores proneuronales que han demostrado la restauración y regeneración nerviosa. Por estas razones, el suero autólogo es una herramienta en oftalmología (4).

En Costa Rica el suero autólogo se realiza en diferentes centros, tanto a nivel privado, como en la Caja Costarricense de Seguro Social en donde esta última centraliza su producción en tres centros actualmente, la Clínica Oftalmológica, el Hospital Nacional de Niños y el Hospital San Juan de Dios. Los diferentes servicios de oftalmología derivan a

los pacientes que requieran uso de suero autólogo a uno de estos tres centros según en caso para su preparación.

Conocer el proceso de fabricación, las características e indicaciones del suero autólogo es de gran importancia para el oftalmólogo. Por lo que el siguiente trabajo busca analizar las aplicaciones, la elaboración y la obtención del suero autólogo para uso oftalmológico mediante una revisión bibliográfica y finalmente se realiza una propuesta de un esquema para la producción de suero autólogo.

MARCO TEÓRICO

FORMULACIÓN Y COMPONENTES

El colirio de suero autólogo es un derivado de la sangre del paciente que lleva una serie de procesos de preparación para finalmente poder utilizarse terapéuticamente. Los componentes son similares a los de la lágrima endógena y promueven la estabilidad y curación de la superficie ocular restaurando la homeóstasis de la capa lagrimal. En general se ha aceptado que el suero autólogo es seguro y bien tolerado por el paciente. Sus componentes incluyen factores de crecimiento, vitaminas y proteínas, entre otros y están representados en la Tabla 1 (1) (5).

La superficie ocular está expuesta a estrés oxidativo proveniente de la exposición a luz ultravioleta, el oxígeno molecular, químicos y contacto con el aire. Todo esto empeora condiciones como el ojo seco. Se ha visto que muchos componentes de la lágrima contrarrestan esto y el suero autólogo al ser similar a la lágrima, tiene también una importante función como antioxidante (5).

Tabla 1: Composición del suero autólogo versus la lágrima endógena (1)

	Suero	Lágrima
Osmolalidad (mosm/L)	300	302
pH	7,2 – 7,4	7,2 – 7,4
Albúmina (mg/mL)	35 - 40	0,05
Fibronectina (µg/mL)	200 - 300	21
Proteínas totales (mg/mL)	60 - 70	7,37
Lisozima (mg/mL)	4 - 15	2,4
Lactoferrina (mg/mL)	-	1,51
Inmunoglobulinas (mg/L)		
IgA	0,9 – 4,5	0,41

IgD	3 - 300	-
IgE	0,3 – 0,7	-
IgG	8000 - 18000	32
IgM	370 - 2800	-
Factores de crecimiento (ng/mL)		
Factor de crecimiento epidérmico	0,5 - 1	0,2 – 3
Factor de crecimiento endotelial vascular	1 - 5	0,02
Factor de crecimiento transformante beta 1	6 - 50	2 – 10
Factor de crecimiento derivado de plaquetas	30 - 150	0,01 – 1,7
Factor de crecimiento hepatocítico	0,1 - 1	0,2 – 0,5
Electrolitos		
Na ⁺ (mEq/L)	135 - 146	145
K ⁺ (mEq/L)	2,5 - 5	24,1
Ca ²⁺ (nM)	1,1	1.5
Cl ⁻ (mM)	96 - 108	128
HCO ₃ ⁻ (mM)	21 - 29	26
NO ₃ ⁻ (mM)	0,19	0,14
PO ₄ ³⁻ (mM)	1,42	0,22
SO ₄ ²⁻ (mM)	0,53	0,39
Vitaminas y antioxidantes		
Vitamina A (ng/mL)	883	16
Vitamina C (µg/mL)	7 - 20	117
Tirosina (µM)	77	45
Glutati3n (µM)	-	107

PROTEINAS

La concentración total de proteínas de la lágrima es de 7,37 mg/mL, 10% menor al contenido del suero autólogo. Las proteínas más abundantes de la lágrima son la lisozima, la lactoferrina y la albumina, mientras que en el suero autólogo son la albumina y la inmunoglobulina G (5).

La albúmina es la principal proteína de la lágrima y del suero. Es una proteína sumamente estable y está distribuida en todos los fluidos corporales. Funciona como un transportador de otras proteínas y es un supresor de apoptosis. Existen estudios clínicos sobre el uso de gotas de albúmina al 5% y se vio que disminuye la tinción de la superficie

con fluoresceína y rosa de Bengala, mejora el tiempo de ruptura lagrimal y disminuye los síntomas (5).

La lactoferrina es una glicoproteína que se une al hierro principalmente pero también al cobre y magnesio. Tiene función antioxidativa protegiendo a la córnea de la radiación ultravioleta y ayuda al epitelio a obtener el hierro necesario para funcionar. Al igual que las anteriores proteínas, esta se encuentra en la lágrima y el suero (5).

La fibronectina se encuentra tanto en la lágrima como en el suero autólogo. Se ha encontrado que es uno de los componentes más importantes para la migración celular ya que funciona como una matriz temporal en la cual las células epiteliales pueden migrar. También es un quimiotáctico y estimula la adhesión de las células epiteliales (9).

La selenoproteína P es una glicoproteína que transfiere selenio en el plasma sanguíneo. Se ha visto que pacientes con patologías corneales presentan una disminución de dicha proteína en la lágrima y en un modelo en ratones el tratamiento con gotas de selenioproteína P suprime la producción de marcadores de estrés oxidativo funcionando como un antioxidante (5).

FACTORES DE CRECIMIENTO

La lágrima contiene factores de crecimiento que también se encuentran en el suero. Dentro de ellas está el factor de crecimiento epitelial, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento transformante alfa y factor de crecimiento transformante beta. Estos promueven la proliferación y diferenciación de células de la superficie ocular (5).

El factor de crecimiento epitelial promueve migración de células epiteliales e inhibe la apoptosis mejorando la curación de heridas corneales y conjuntivales epiteliales.

No tiene efecto en disminuir la inflamación ni aumentar el volumen lagrimal. En ensayos con uso de gotas con factor de crecimiento epitelial se vio que es 50 veces más efectivo que las lágrimas artificiales en acelerar la curación de una herida corneal (5) (8).

El factor de crecimiento transformante beta activa a los fibroblastos para cicatrización de heridas, pero en vez de sanar la córnea, produce fibrosis y opacidad (8). La pérdida de transparencia corneal se debe a que el factor de crecimiento transformante beta estimula diferenciación de miofibroblastos maduros y estos producen una matriz extracelular desorganizada. Su exceso puede suprimir la curación corneal pero este efecto se contrarresta diluyendo el suero con solución salina (1).

También contiene factores proneuronales como el factor de crecimiento neuronal y el factor de crecimiento similar a insulina. Estos dos han demostrado ser útiles en la regeneración y restauración de la topografía nerviosa (4).

VITAMINAS

Al igual que las proteínas y los factores de crecimiento, las vitaminas se encuentran en la lágrima y el suero. La vitamina A, la vitamina C y la vitamina E tienen propiedades antioxidantes que protegen la superficie ocular del estrés oxidativo (5).

La vitamina A es importante para mantener la integridad de la superficie ocular ya que ayuda a la diferenciación celular. Una deficiencia de vitamina A produce queratinización y metaplasia escamosa. Además, la vitamina A promueve diferenciación de células epiteliales y la vitamina E previene apoptosis de los queratocitos. Existe evidencia que las gotas de vitamina A funcionan para pacientes con ojo seco, no así las gotas de vitamina C (5) (8).

FABRICACIÓN DEL SUERO AUTÓLOGO

COSTOS Y CONVENIENCIA DEL PACIENTE

Los pacientes que necesiten el suero autólogo por un periodo largo de tiempo requieren proveer de su sangre al menos cada 3 meses. En algunos casos esto se vuelve inconveniente ya que no todos los pacientes son capaces de proveer sangre tan frecuentemente por sus patologías crónicas o por infecciones en un momento dado (2).

Basado en la literatura de Estados Unidos, se estima que el costo de un frasco de suero autólogo que es lo requerido para el tratamiento por una semana es de \$16 (2). Pero el rango de costo varía entre \$25 – \$600 para el tratamiento de dos meses y depende de la frecuencia utilizada del suero (1).

En Costa Rica, la producción del suero autólogo se encuentra centralizado en el Gran Área Metropolitana en la Clínica Oftalmológica, el Hospital Nacional de Niños y en el Hospital San Juan de Dios. De estos tres centros, el Banco de Ojos de la Clínica Oftalmológica recibe pacientes de todas partes del país por lo que, dependiendo del lugar, tienen que recorrer muchos kilómetros para obtener su tratamiento.

OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LA SANGRE

Venopunción

El suero se obtiene de la sangre la cual se obtiene por medio de venopunción de cada paciente. Esto lo realiza un técnico de laboratorio entrenado. La venopunción se realiza en la fosa antecubital (figura 1) y se extrae la cantidad dependiendo de qué tanto

suero autólogo se desee preparar (25mL, 30mL, 40mL). Con 40mL se obtienen 3 a 4 frascos de suero autólogo (11).



Figura 1: Venopunción en la fosa antecubital para recolección de sangre (11).

Centrifugado

Esta se deja sin anticoagulante a temperatura ambiente por 6 horas para que se forme un coágulo. Posteriormente se centrifuga con cuidado de no inducir hemólisis separando el suero del coágulo (figura 2) (6). En la literatura existen muchas maneras de centrifugado, pero se recomienda realizarlo durante 10 minutos a 2500 revoluciones por minuto para evitar hemólisis y obtener 5mL de suero por cada 10mL de sangre (11). Finalmente se diluye dependiendo de la especificación requerida con suero salino al 0,9% (6).

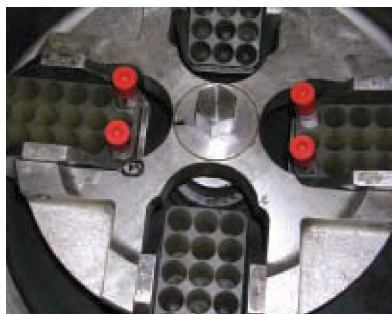


Figura 2: Máquina de centrifugado para muestra sanguínea (11).



Figura 3: Dilución del suero autólogo con solución salina al 0,9% (11).

Aditivos

En la literatura se han estudiado diferentes aditivos para diluir el suero autólogo. Algunos ejemplos son: antibióticos, preservantes y ácido hialurónico (12).

El propósito de la dilución con antibióticos es para prevenir infecciones microbianas, pero se sabe que el suero en sí tiene propiedades bacteriostáticas y al ser preparado bajo condiciones estériles, el riesgo de una contaminación es bajo. Diluir el suero con antibiótico reduce la capacidad epiteliotrófica y aumenta la toxicidad a la superficie, es por eso que no se realiza de rutina (12).

Los preservantes como el cloruro de benzalconio alteran la mucina lagrimal causando su disfunción. Al no añadir preservantes se reduce esta toxicidad, pero reduce el tiempo de viabilidad del suero (12).

Se ha reportado que el ácido hialurónico es efectivo para mejorar la función de barrera epitelial y reduce el daño a la superficie en pacientes con ojo seco. Sus propiedades viscoelásticas resultan en mayor duración de exposición de la superficie ocular a los componentes del suero. Sin embargo, no es de rutina agregarlo al suero autólogo (12).

Exámenes de Rutina para Enfermedades de Transmisión Sanguínea

A todo paciente se le realiza exámenes de rutina para enfermedades de transmisión sanguínea como anticuerpos contra virus de inmunodeficiencia humana 1 y 2, anticuerpos contra hepatitis C, antígeno de superficie del virus de hepatitis B, ARN de hepatitis C, ADN de hepatitis B, anticuerpo contra virus linfotrópico humano de células T 1 y 2, sífilis y finalmente tinción de Gram. Esto es importante ya que no se agregan preservantes ni antibióticos al suero final (6).

Tabla 2: Exámenes de rutina para enfermedades de transmisión sanguínea realizado a los pacientes que requieran suero autólogo (6).

Exámenes
Anticuerpos contra virus de inmunodeficiencia humana 1 y 2
Anticuerpos contra hepatitis C
Antígeno de superficie del virus de hepatitis B
ARN de hepatitis C
ADN de hepatitis B
Anticuerpo contra virus linfotrópico humano de células T 1 y 2
Sífilis
Tinción de Gram

CONTRAINDICACIONES PARA LA OBTENCIÓN DE SANGRE

Existen contraindicaciones para extraer sangre del paciente, algunas absolutas y otras relativas. Dentro de ellas se encuentran la anemia con valores de hemoglobina inferiores a 11g/dL, enfermedades cardiovasculares o cerebrovasculares significativas, infecciones bacterianas activas, marcadores virales positivos como hepatitis B, hepatitis C, virus de inmunodeficiencia humana y sífilis, uso de antihipertensivos como beta bloqueadores e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y finalmente condiciones fisiológicas como embarazo, lactancia y dificultad a la venopunción (7) (8).

Tabla 3: Contraindicaciones para la donación de sangre para suero autólogo (7)

Contraindicaciones	
Enfermedad cardiovascular o cerebrovascular	Isquemia cerebral o hemorragia cerebral, insuficiencia cardiaca severa, infarto al miocardio
Anemia	Hemoglobina menor a 11g/dL
Infección bacteriana activa	Queratitis o conjuntivitis
Marcadores virales	Hepatitis B, C, virus de inmunodeficiencia humana
Medicamentos	Betabloqueadores, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
Condiciones fisiológicas	Embarazo, lactancia

ALMACENAMIENTO DEL SUERO AUTÓLOGO

Está recomendado que el suero se almacene a -20°C por un máximo de 3 meses. Una vez abierto un gotero se debe mantener a 4°C y se descarta luego de 16h (8). La temperatura de -20°C se logra con cualquier congelador doméstico (6). Este método de almacenamiento asegura la estabilidad de los factores de crecimiento y evita el crecimiento de microorganismos en el suero (10).

EFFECTOS ADVERSOS DEL USO DE SUERO AUTÓLOGO

La contaminación de muestras de suero autólogo por microorganismos es infrecuente, pero existen reportes descritos. Sin embargo, no se tiene una estadística de infecciones oculares causadas por el uso de suero autólogo por lo que es una hipótesis que la contaminación de una muestra cause infección ocular (19).

Otra complicación poco frecuente es el acúmulo de depósitos corneales por el uso de suero autólogo. Los depósitos pueden ser de proteínas como albúmina o inmunoglobulinas. Usualmente es autolimitado y mejora al suspender el uso (19).

OTROS DERIVADOS SANGUÍNEOS

Además del suero autólogo, existen otros derivados sanguíneos que funcionan para el tratamiento de patologías oculares. Estos son el suero alogénico, suero derivado del cordón umbilical y el plasma derivado de plaquetas (19).

No es objetivo de esta revisión ahondar en estos otros preparados, pero a continuación se incluye una breve descripción de cada uno.

Suero Alogénico

El suero alogénico se refiere a suero obtenido de la sangre, pero de otro individuo o donador. Se utiliza en pacientes que no se les puede extraer sangre por diferentes razones. Existen estudios que comprueban la efectividad y seguridad de su uso brindando beneficios similares al suero autólogo, pero no se excluye de tener efectos adversos. El uso de suero alogénico tiene el riesgo de transmitir enfermedades y causar inflamación en el ojo por la presencia de anticuerpos ajenos (1).

Suero Derivado de Cordón Umbilical

Este preparado contiene los mismos factores de crecimiento y componentes que la lágrima y es una alternativa viable en pacientes que el suero autólogo no sea su mejor

opción. Algunos ejemplos son las enfermedades autoinmunes que no se favorecen de las citoquinas proinflamatorias que se encuentran en el suero autólogo (19).

Plasma Derivado de Plaquetas

El plasma derivado de plaquetas se ha utilizado exitosamente en cirugía maxilofacial y ortopedia para ayudar a la cicatrización de la herida. Al igual que el suero autólogo, contiene factores de crecimiento y componentes que ayudan a la curación de la superficie ocular. La evidencia describe que el plasma derivado de plaquetas reepiteliza más rápido que el suero autólogo, pero se necesita más estudios sobre esto (19).

APLICACIONES DEL SUERO AUTÓLOGO

En la literatura se ha descrito el uso del suero autólogo para diferentes patologías. En esta revisión se enfocará en su uso para el ojo seco severo, síndrome de Sjögren, defectos epiteliales persistentes, queratopatía neurotrófica, enfermedad huésped versus injerto, dolor neuropático corneal y penfigoide de las membranas mucosas (4) (13).

Tabla 4: Indicaciones más frecuentes para el uso de suero autólogo (1)

Indicaciones	
Ojo seco severo	Enfermedad injerto vs huésped
Síndrome de Sjögren	Dolor neuropático corneal
Defectos epiteliales persistentes	Penfigoide de las membranas mucosas
Queratopatía neurotrófica	

OJO SECO SEVERO

La Sociedad de la Lágrima y Superficie Ocular publica el Taller de Ojo Seco II (TFOS) en marzo 2015 y define el ojo seco como una enfermedad multifactorial caracterizada por una pérdida de homeóstasis de la lágrima, acompañado de síntomas oculares en donde la inestabilidad lagrimal, hiperosmolaridad, inflamación y daño de la superficie ocular y las anomalías neurosensoriales juegan un papel importante en su etiología (14).

El ojo seco tiene una prevalencia que va desde 5 – 50% dependiendo de la literatura, la gran variación se da por la inconsistencia de criterios diagnósticos. Su incidencia aumenta con la edad y ocurre más en mujeres que hombres (14).

Dentro de la sección de manejo del ojo seco del Taller de Ojo Seco II, se propone un tratamiento guiado por pasos. El primer paso consiste en educar al paciente, cambiar su medio ambiental, lágrimas artificiales e higiene palpebral. Cuando no funciona ninguna medida del primer paso entonces se sigue con el paso 2. El paso 2 incluye uso de lubricantes sin preservantes, aceite de árbol de té si hay coinfección con Demodex, oclusión puntal y cámaras de humedad, ungüentos, tratamiento directo a las glándulas de Meibomio, esteroides, antibióticos, secretagogos, ciclosporina, etc (14).

El suero autólogo se menciona en el tercer paso cuando ya se utilizaron las lágrimas artificiales, higiene palpebral, aceite de árbol de té, oclusiones puntales, esteroides, secretagogos, inmunomoduladores, entre otros y nada funcionó (14).

Se ha demostrado que el suero autólogo mejora parámetros objetivos clínicamente como disminución de tinción con fluoresceína y tiempo de ruptura lagrimal. A su vez mejora la sintomatología del paciente (2). Hay evidencia que, en pacientes con ojo seco refractario a terapia convencional, al usar suero autólogo al 20%, un 80% mejora su sintomatología en 4 semanas y 59% tienen mejora a la examinación (15).

Hay descripciones de varias diluciones de suero autólogo para su uso en ojo seco que va desde el 20% hasta el 100% (15). Un autor recomienda utilizar un esquema de suero autólogo al 50% por 3 meses seguido por 3 meses de tratamiento convencional con lágrimas artificiales. La frecuencia puede ser de 6-8 gotas cada día (16).

Síndrome de Sjögren

Dentro del espectro de ojo seco se encuentra el Síndrome de Sjögren que se caracteriza por ser una enfermedad autoinmune que afecta glándulas exocrinas de mucosas, resultando en ojo seco, boca seca y otras manifestaciones sistémicas.

En estos casos el uso de suero autólogo se reserva para casos severos que no responden a otros tratamientos. Como ya se había mencionado anteriormente el suero autólogo contiene fibronectina, vitamina A, citoquinas y factores de crecimiento. Se desconoce en estos casos cual es el factor que ayuda más, pero se ha reportado que funciona mejorando síntomas, tinción y tiempo de ruptura lagrimal. Se aplica 4 veces al día y se puede combinar con otros tratamientos (17).

DEFECTOS EPITELIALES PERSISTENTES

Se considera un defecto epitelial persistente cuando el defecto epitelial (figura 4) no logra sanar en 7-14 días que es el periodo normal de epitelización corneal. Es importante mantener la integridad epitelial corneal para evitar infecciones y mantener la transparencia para una adecuada agudeza visual (18).

El suero autólogo se utiliza para los defectos epiteliales persistentes recalcitrantes. Hay reportes que mencionan una reepitelización del 20 - 60% a las 2 semanas y 47 - 83%

a las 4 semanas de su uso (2). La dilución descrita del suero autólogo es de 20 - 50% y la frecuencia es cada 3 horas. El efecto se potencializa cuando se usa además un lente de contacto terapéutico (18).

Con respecto a los efectos adversos, se ha reportado la presencia de depósitos nodulares amorfos por acúmulo de albúmina que es la proteína más prevalente del suero (19).

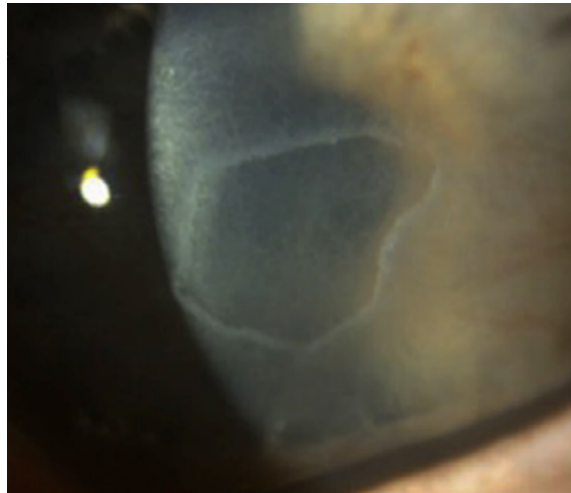


Figura 4: Córnea con defecto epitelial (20).

QUERATOPATÍA NEUROTRÓFICA

La queratopatía neurotrófica es una condición en donde la afectación epitelial lleva a un defecto con o sin ulceración estromal y se asocia a reducción o ausencia de sensibilidad corneal. La exposición estromal causa una degradación enzimática de los nervios y receptores y puede causar desde ausencia de sensibilidad, hasta hiperestesia por regeneración aberrante (20). La ausencia de sensibilidad corneal afecta el reflejo lagrimal, disminuye el parpadeo y rompe la homeostasis epitelial corneal (21).

Al igual que en casi todas las patologías que requieran sustitución lagrimal, el suero autólogo para la queratopatía neurotrófica se utiliza cuando las demás opciones no funcionen (20). Existe bibliografía que estudia su uso en esta patología, pero no existen ensayos clínicos randomizados. Por lo tanto, se utiliza el suero autólogo en queratopatía neurotrófica por las descripciones que se han dado (21). Se cree que los factores neurotróficos del suero autólogo promueven epitelización y mejora a la sensibilidad corneal (22).

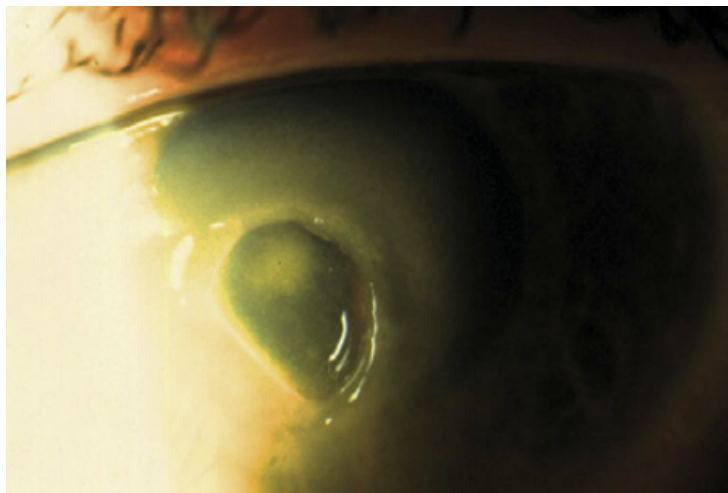


Figura 5: Úlcera corneal en paciente con hipoestesia corneal (20).

ENFERMEDAD INJERTO VERSUS HUÉSPED

Existen condiciones que requieren un trasplante de células madre para su tratamiento, sin embargo, esta medida terapéutica no es inocua. La enfermedad injerto versus huésped ocurre cuando los linfocitos T del donante se activan para dañar tejidos. Estos tejidos pueden ser: piel, uñas, pelo, boca, gastrointestinal, genitales, hígado, pulmones, músculos y articulaciones, pero en esta revisión se centrará en la afectación ocular (23).

El cuadro de afectación ocular se caracteriza por una hiperemia conjuntival, quemosis, formación de pseudomembranas, ojo seco, blefaritis y disfunción de glándulas de Meibomio (figura 6). Todo esto lleva a fibrosis conjuntival, queratopatía punteada, formación de filamentos, erosiones epiteliales dolorosas e infecciones corneales (23).

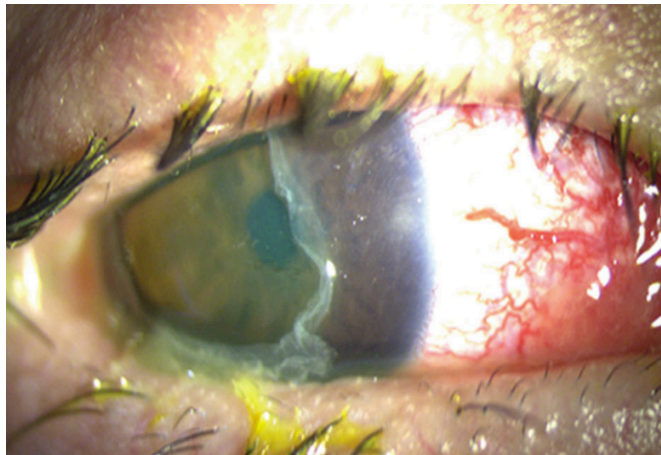


Figura 6: Ojo con enfermedad injerto versus huésped agudo mostrando conjuntivitis pseudomembranosa con afectación epitelial (24).

El manejo inicial de la enfermedad injerto versus huésped se basa en lubricación ocular y disminución de la inflamación. Los esteroides tópicos suprimen la inflamación celular y se ha visto que la ciclosporina 0,05% inhibe efectivamente los linfocitos T. Otras opciones son el uso de la oclusión puntal, lentes de contacto, tacrólimus y antialérgicos. (23).

El contenido del suero autólogo es beneficioso en estos casos ya que se asemeja a la lágrima endógena. Se ha demostrado que su uso por 4 semanas mejora los síntomas y aumenta el número de células caliciformes, disminuye la metaplasia escamosa y reduce los signos de ojo seco (23) (24). En la mayoría de ensayos, la dilución utilizada de suero autólogo es del 20% (15).

DOLOR NEUROPÁTICO CORNEAL

El dolor neuropático se define como un dolor iniciado o causado por lesión primaria o disfunción del sistema nervioso. En el ojo puede ocurrir en la córnea que es el tejido más innervado. El dolor neuropático corneal puede ser percibido como dolor, ardor, fotosensibilidad, irritación, resequedad o sensación de arenilla (25).

La etiología viene del daño al tejido e inflamación de la superficie ocular resultando en injuria a los axones periféricos y liberación de mediadores proinflamatorios. Esto causa aumento de sensibilidad de los nervios periféricos intensificando la señal de dolor. Con el tiempo ocurre una hipersensibilidad a nivel central causando alodinia, hiperestesia, fotosensibilidad, entre otros. En estudios con microscopía confocal se ha documentado una disminución de la densidad nerviosa, aumento de tortuosidad, reflectividad y arosamiento de axones (25).

El dolor neuropático corneal se trata diferenciando si la fuente de dolor es central, periférica o mixta. Si existen síntomas centrales, se requiere tratamiento sistémico, pero se recomienda que el oftalmólogo interconsulte con colegas familiarizados en el uso de estos medicamentos. Algunos ejemplos de tratamiento sistémico son: antidepresivos tricíclicos, carbamazepina, tramadol, gabapentina, pregabalina, entre otros (25).

La sensibilización periférica se basa en alcanzar la regeneración nerviosa. Esto ayuda a reducir la alodinia e hiperalgesia. El uso de suero autólogo ha demostrado una recuperación de la topografía nerviosa corneal y a su vez ayuda a los síntomas de ojo seco. Los factores neurotróficos, factor de crecimiento nervioso y factor de crecimiento similar a insulina han demostrado alcanzar la innervación fisiológica. El esquema recomendado es suero autólogo al 20% 8 veces al día hasta que síntomas mejoren y luego una reducción de la frecuencia paulatinamente (25).

PENFIGOIDE DE LAS MEMBRANAS MUCOSAS

El penfigoide de las membranas mucosas es una enfermedad autoinmune sistémica que afecta a las mucosas como la conjuntiva, cavidad nasal, orofaringe, esófago, tráquea, piel y genitales. El ojo se afecta en el 70% de los casos (26).

El penfigoide ocular se manifiesta con ampollas del tejido subepitelial conjuntival que rompen las adhesiones entre epitelio corneal. Esto produce inflamación, cicatrización y fibrosis conjuntival y posteriormente remodelamiento y neovascularización (figura 7) (26).

El objetivo terapéutico es inhibir la inflamación ocular para evitar cicatrización conjuntival. Esto se logra con inmunosupresores (micofenolato de mofetilo, azatioprina, dapsona y metotrexate) o cirugía (recubrimiento con membrana amniótica, trasplante corneal, cirugía de párpados) (26). El uso del suero autólogo se reserva para casos que presenten ojo seco severo (27).

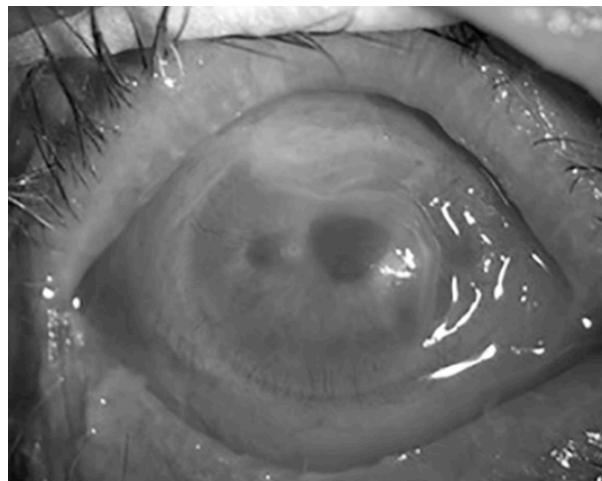


Figura 7: Signos de penfigoide de membranas mucosas ocular con conjuntivitis cicatricial y formación de simbléfaron (26).

PROPUESTA DE ESQUEMA PARA LA PRODUCCIÓN DE SUERO AUTÓLOGO

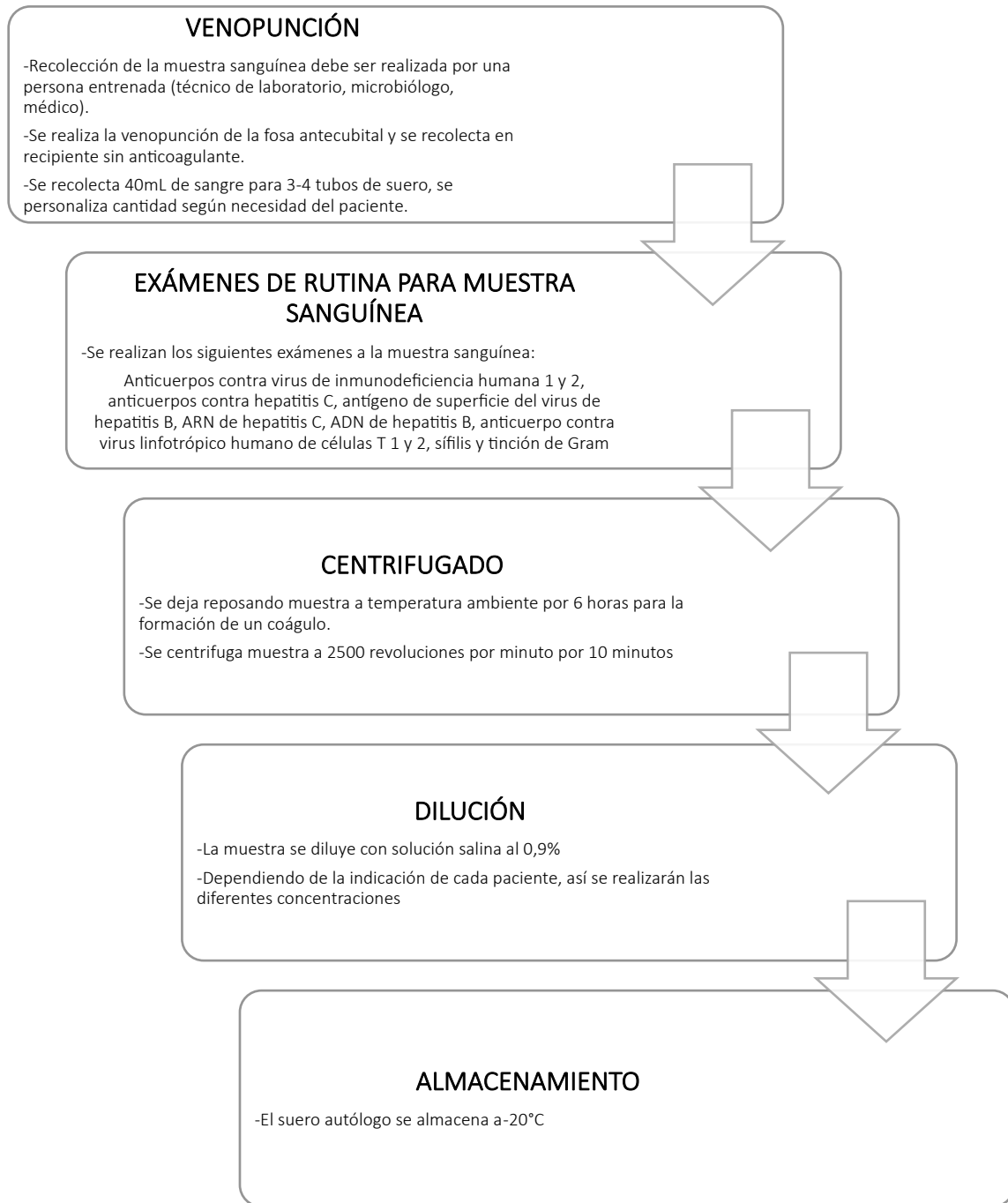


Figura 8: Esquema para la producción de suero autólogo

FUNCIONAMIENTO DEL BANCO DE OJOS DE LA CLÍNICA OFTALMOLÓGICA

En una sección anterior ya se describió según la bibliografía revisada, la manera de fabricar suero autólogo. En esta parte se describirá la forma en la que el banco de ojos de la Clínica Oftalmológica de la Caja Costarricense de Seguro Social confecciona el suero autólogo. Este centro inicia la producción de suero autólogo desde el 2010.

PREPARACIÓN PREVIA

El proceso de formulado del suero autólogo es de manera estéril por lo que existen varias consideraciones para lograr esto. El técnico utiliza un gorro quirúrgico, botas quirúrgicas, una bata estéril, mascarilla y guantes estériles. Además, los envases de goteros se esterilizan a gas. Se necesita una cámara de flujo para disminuir la contaminación con microorganismos o material que pueda haber en el medio ambiente (29).

El centro que refiere al paciente es responsable de tomar las pruebas serológicas antes de enviar al paciente. Las pruebas que incluye el protocolo son (29):

- Virus de inmunodeficiencia humana
- Enfermedad de Chagas
- Virus linfotrópico T humano
- Hepatitis B y C
- VDRL para sífilis.

PROCESO

Venopunción

El técnico realiza la venopunción de los pacientes en la fosa antecubital con previa antisepsia del área con alcohol. Se toman 10 tubos sin anticoagulante de 9cc u 8 tubos de 10cc para obtener la muestra necesaria. Posteriormente se rotulan los tubos y se dejan en reposo por 2 horas (figura 9) (29).

Centrifugado

El centrifugado se realiza colocando los tubos simétricamente dentro del centrifugador para mantener balanceado el peso (figura 10). Los parámetros a utilizar son 3000 revoluciones por minuto por 10 minutos. Esto asegura una separación exitosa de los componentes celulares sanguíneos del suero. Posterior a esto es importante la manipulación cuidadosa de los tubos para evitar que el coágulo se desorganice y se mezcle con el suero ya separado (29).



Figura 9: Tubo de ensayo con sangre separada en fases previo a centrifugado (28).



Figura 10: Tubos de ensayo colocados en la centrífuga de manera que el peso esté balanceado (28).

Extracción y Separación

En esta parte del proceso se utiliza una cámara de flujo. De manera estéril se extrae el suero sobrenadante de los tubos con una jeringa y una aguja dejando el coágulo en el fondo (figura 11). Aproximadamente se obtienen 20cc de suero de los 8 tubos de sangre. Se debe tener cuidado de no extraer elementos celulares del coágulo. Se vierte suero en un contenedor (29).

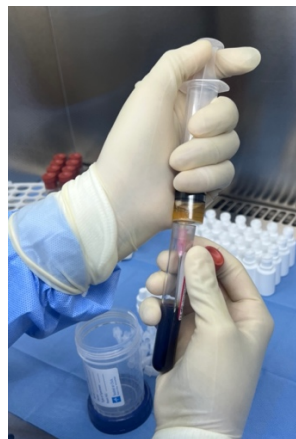


Figura 11: Extracción del suero sobrenadante del coágulo sanguíneo (28).

Dilución, Embotellado y Etiquetado

La dilución estándar en el preparado de suero autólogo del banco de ojos de la Clínica Oftalmológica es del 20%. Por lo que a los 20cc de suero se le agregan 80cc de solución salina balanceada. Se distribuyen 5ml a cada gotero y se obtienen 24 goteros en total (figura 12). El gotero tiene una tapa hermética. Finalmente se etiqueta el gotero con los datos del paciente y la dilución a la que se encuentra el suero autólogo (29).

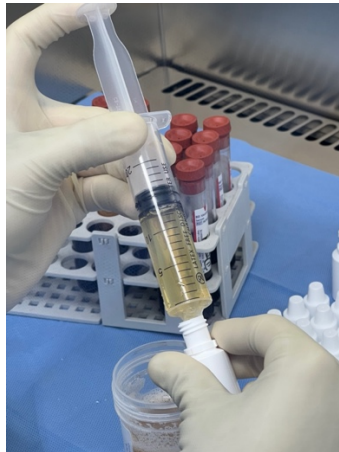


Figura 12: Rellenado de goteros con suero autólogo (28).

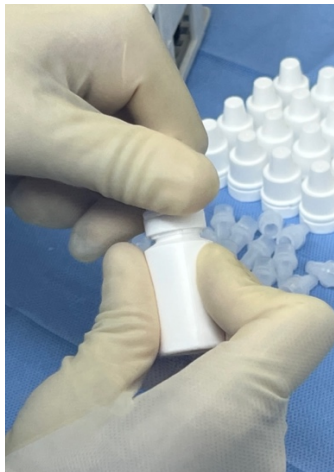


Figura 13: Cierre hermético de goteros (28).

Entrega

El paciente tiene la responsabilidad de llevar consigo una hielera con hielo para mantener la cadena de frío durante el transporte del suero autólogo hacia su hogar. Los frascos se introducen en una bolsa hermética y luego en la hielera. El paciente al recibirlos firma un libro de actas (29).

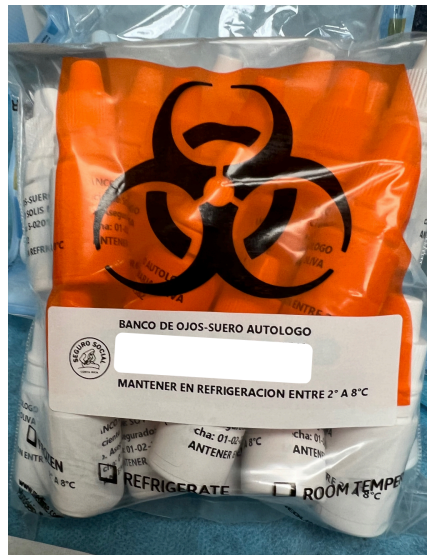


Figura 14: Bolsa hermética con goteros de suero autólogo (28).

EDUCACIÓN AL PACIENTE

A todo paciente nuevo brinda una explicación detallada de cómo manejar el suero autólogo. Esto incluye la refrigeración, el almacenaje, el transporte, el tiempo de viabilidad y los cuidados en ocasiones especiales. Se le brinda además esta información en un folleto escrito para que lo tenga a su alcance (29).

ESTADÍSTICA DE LA PREPARACIÓN DE SUERO AUTÓLOGO EN EL BANCO DE OJOS DE LA CLÍNICA OFTALMOLÓGICA

Dentro de la estadística del Banco de Ojos, se analiza la cantidad de pacientes que envía cada centro de salud para solicitar suero autólogo. En total desde su inicio se han atendido 3028 pacientes de los cuales la gran mayoría fueron enviados por el Hospital México.

Tabla 5: Estadística de la Preparación del Suero Autólogo del 2010 al 2022 del Banco de Ojos de la Clínica Oftalmológica

PREPARACION SUERO AUTOLOGO 2010-2022														
CENTRO	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	PACIENTES ATENDIDOS POR CENTRO
CLINICA OFTALMOLOGICA	5	13	26	47	33	83	80	53	81	74	85	90	1	580
HOSPITAL MEXICO	9	10	12	16	26	41	51	65	117	192	191	206	16	730
HOSP. ALAJUELA	7	11	6	17	19	36	44	39	71	75	82	85	6	407
HOSP. MAX PERALTA	2	2	13	16	14	27	28	51	108	149	170	139	3	580
HOSPITALSAN VICENTE DE PAUL	0	0	7	3	11	18	5	9	29	36	29	50	5	147
HOSPITAL CALDERON GUARDIA	0	0	1	5	12	14	15	9	5	9	7	6	1	77
MEDICINA MIXTA	0	0	0	7	5	2	1	0	0	0	0	1	0	16
HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS	0	0	3	4	4	10	6	6	4	4	3	5	0	44
AREA DE SALUD CATEDRAL NORESTE (CLINICA CENTRAL)	0	0	1	3	1	3	4	4	0	0	7	6	1	29
AREA DE SALUD TIBAS-URUCA-MERCED	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	5
CLINICA MOREÑO CAÑAS	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	1	0	5
CLINICA CARLOS DURAN	0	0	0	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	5
CLINICA DR. CLORITO PICADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	8
HOSPITAL MONSEÑOR SANABRIA	0	0	0	2	1	3	1	0	0	0	0	0	0	7
H. DR. E. BALTODANO BRICEÑO	0	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	4
HOSPITAL NACIONAL DE NIÑOS	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	4
HOSPITAL DR. RAUL BLANCO CERVANTES	0	0	0	1	0	0	2	4	9	9	10	5	0	40
HOSPITAL DE LA ANEXION	0	0	0	0	1	1	0	2	7	6	5	4	2	26
HOSPITAL TONY FACIO	0	0	0	0	0	18	17	23	23	28	2	15	1	126
HOSPITAL FERNANDO ESCALANTE PRADILLA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
HOSPITAL DE GUAPILES	0	0	0	0	0	2	5	6	6	6	6	7	3	38
HOSPITAL CIUDAD NEILY	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	9
HOSPITAL DE SAN CARLOS	0	0	0	0	0	6	5	11	20	37	25	29	2	133
HOSPITAL VALVERDE VEGA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3
HOSPITAL DE TURRIALBA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4
TOTAL POR AÑO:	23	36	69	125	135	268	264	283	480	625	623	678	41	3028

CONCLUSIÓN

El suero autólogo es una opción terapéutica útil para muchos pacientes con enfermedades de la superficie ocular. Sus componentes son beneficiosos para sanar el epitelio y mejorar tanto subjetivamente como objetivamente la clínica del paciente. Existen muchas indicaciones para su uso, pero hay una carencia de suficientes ensayos clínicos en todas las patologías.

También, su producción es un proceso tedioso tanto para el paciente como para el laboratorio y el paciente tiene que ser adecuado para entender los cuidados en su almacenamiento y manipulación. Existen casos en que el nivel de educación del paciente le imposibilita tener la capacidad de manejar el suero autólogo de manera correcta llevando a un peligro para sí mismo. Además, en la mayoría de patologías, se deja su uso para casos avanzados o recalcitrantes por su dificultad de obtener.

Existe evidencia que describe su producción, pero la información es heterogénea y no consistente por lo que no hay un protocolo generalizado de fabricación. Cada laboratorio adopta la información según sus condiciones. Esto lleva a que haya una inconsistencia de los sueros producidos en todo el mundo y causa que los estudios científicos no puedan ser comparados entre sí.

En Costa Rica, la centralización de producción del suero autólogo dificulta a los pacientes provenientes de zonas lejanas a obtenerlo. Esto hace que, en centros de salud lejanas, no se indique tan frecuentemente. Una mejora a esta situación es descentrar la producción y llevando el proceso a laboratorios en todo el país.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cui D, Li G, Akpek EK. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Curr Opin Allergy Clin Immunology*. 2021;493–9.
2. Editorial. Uses C, Defects PE. Use of Autologous Serum in the Treatment of Ocular Surface Disorders. *Arch Ophthalmol*. 2022;129(12):2010–2.
3. Pan Q, Angelina A, Marrone M, Wj S, Ek A, Pan Q, et al. Autologous serum eye drops for dry eye (Review). *Cochrane Library*. 2017 (2).
4. Marchand M, Harissi-dagher M, Germain M, Thompson P, Robert M. Serum drops for ocular surface disease : national survey of Canadian cornea specialists. *Can J Ophthalmol Can d’ophtalmologie*. 2018;53(3):266–71.
5. Higuchi A. Autologous Serum and Serum Components. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(14):121-129.
6. Marks DC, Fisher J, Mondy P, Segatchian J, Dennington PM. Serum eye drop preparation in Australia: Current manufacturing practice. *Transfus Apher Sci*. 2015;53(1):92–4.
7. 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 Oct; 85(10):1188-1197.
8. Roback JD, Coombs MR, Grossman BJ, Hillyer CD. Technical manual. 16th Edition. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 2008.
9. Liu L, Hartwig D, Harloff S, Herminghaus P, Wedel T, Geerling G. An optimised protocol for the production of autologous serum eyedrops. *Graefe’s Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243(7):706–14.

10. López-García JS, García-Lozano I, Rivas L, Ramírez N, Raposo R, Méndez MT. Autologous serum eye drops diluted with sodium hyaluronate: Clinical and experimental comparative study. *Acta Ophthalmol.* 2014;92(1):22–9.
11. López-García J, García-Lozano I, Rivas L, Martínez-Garchitorena J. Aplicaciones del suero autólogo en oftalmología. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología.* 2007; 82(1):9-20.
12. Cho YK, Huang W, Kim GY, Lim BS. Comparison of autologous serum eye drops with different diluents. *Curr Eye Res.* 2013;38(1):9–17.
13. Shtein RM, Shen JF, Kuo AN, Hammersmith KM, Li JY, Weikert MP. Autologous Serum-Based Eye Drops for Treatment of Ocular Surface Disease A Report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology.* 2019;1–6.
14. Craig JP, Nelson JD, Azar DT, Belmonte C, Bron AJ, Chauhan SK, et al. TFOS DEWS II Report Executive Summary. *Ocul Surf.* 2017;15(4):802–12.
15. Azari AA, Rapuano CJ. Autologous serum eye drops for the treatment of ocular surface disease. *Eye Contact Lens.* 2015;41(3):133–40.
16. Kojima T, Ishida R, Dogru M, Goto E, Matsumoto Y, Kaido M, et al. Prospective Randomized Case-control Study. 2005;0–4.
17. Foulks GN, Forstot SL, Donshik PC, Forstot JZ, Goldstein MH, Lemp MA, et al. Clinical guidelines for management of dry eye associated with Sjögren disease. *Ocul Surf.* 2015;13(2):118–32.
18. Vaidyanathan U, Hopping GC, Liu HY, Somani AN, Ronquillo YC, Hoopes PC, et al. Persistent Corneal Epithelial Defects: A Review Article. *Med hypothesis, Discov Innov Ophthalmol J.* 2019;8(3):163–76.
19. Soni NG, Jeng BH. Blood-derived topical therapy for ocular surface diseases. *Br J Ophthalmol.* 2016;100(1):22–7.

20. Dua HS, Said DG, Messmer EM, Rolando M, Benitez-del-Castillo JM, Hossain PN, et al. Neurotrophic keratopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2018;66:107–31.
21. Di Zazzo A, Coassin M, Varacalli G, Galvagno E, De Vincentis A, Bonini S. Neurotrophic keratopathy: Pros and cons of current treatments. *Ocul Surf.* 2019;17(4):619–23.
22. Nugent RB, Lee GA. ScienceDirect Ophthalmic use of blood-derived products. *Surv Ophthalmol.* 2015;60(5):406–34.
23. Hessen M, Akpek EK. Ocular graft-versus-host disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2012;12(5):540–7.
24. Nair S, Vanathi M, Mukhija R, Tandon R, Jain S, Ogawa Y. Update on ocular graft-versus-host disease. *Indian Journal of Ophthalmology.* 2021; 69:1038-50
25. Dieckmann G, Goyal S, Hamrah P. Neuropathic Corneal Pain. *Ophthalmology.* 2017;124(11):S34–47.
26. Taurone S, Spoletini M, Ralli M, Gobbi P, Artico M, Imre L, et al. Ocular mucous membrane pemphigoid: a review. *Immunol Res.* 2019;67(2–3):280–9.
27. Georgoudis P, Sabatino F, Szentmary N, Palioura S, Fodor E, Hamada S, et al. Ocular Mucous Membrane Pemphigoid: Current State of Pathophysiology, Diagnostics and Treatment. *Ophthalmol Ther.* 2019;8(1):5–17.
28. Imágenes de la Base de Datos del Banco de Ojos de la Clínica Oftalmológica.
29. Proceso: Suero autólogo. CL.OFT-BO-005. CCSS. 2013.