



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA MEMBRANA
AMNIÓTICA Y LA MEMBRANA DE PLASMA RICO EN
FACTORES DE CRECIMIENTO (PRGF) EN LA CIRUGÍA
DEL PTERIGION PRIMARIO**

Zoraida del Campo Carrasco

Barcelona, 2021

Directores

Dr. José Antonio Buil Calvo

Dr. Oscar Gris Castellón

Dr. Miguel Castilla Céspedes

Tutor

Dr. Miguel Castilla Céspedes

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA MEMBRANA AMNIÓTICA Y LA MEMBRANA DE PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO (PRGF) EN LA CIRUGÍA DEL PTERIGION PRIMARIO

Zoraida del Campo Carrasco

Directores

Dr. José Antonio Buil Calvo

Dr Oscar Gris Castellón

Dr. Miguel Castilla Céspedes

Tutor

Dr. Miguel Castilla Céspedes

©Zoraida del Campo Carrasco, 2021

Maquetación e ilustraciones

©Tanit Colobrans

Diseño de la portada:

©Lorena Morales

*A la familia, amigos, compañeros
y especialmente a ti, José Antonio,
por alumbrarme en todo el camino*

Lo que se escribe sin esfuerzo
suele leerse sin placer

(Samuel Johnson)

Agradecimientos

Tras concluir este trabajo lleno de esfuerzo, dedicación y sacrificio, y analizar objetivamente su trayectoria, me he dado cuenta que la magnitud de mi aportación no hubiese sido posible sin la participación desinteresada de personas e Instituciones que han cooperado directa o indirectamente en la ejecución de esta tesis. Por ello, este espacio es una oportunidad, justa y consecuente, de expresarles mis agradecimientos.

Quiero empezar agradeciéndole a la vida por sus enseñanzas, lecciones, recompensas, por ilustrarme a aprender del pasado y a valorar el presente, por cruzar en mi camino a tantas y tantas personas maravillosas y por permitirme vivir tantísimas experiencias inolvidables que han ido enriqueciendo toda mi persona.

Mi gratitud a todos los que han confiado en mí, me han animado y ayudado a seguir, cogiendo mi mano y aportando calor.

A mi estimado jefe, el Dr. José Antonio Buil, por todas tus enseñanzas y apoyo durante estos años, pero, sobretodo, por la confianza depositada. Siempre me has transmitido valores tan importantes como la dedicación, responsabilidad, tenacidad e integridad. Sin tu soporte, colaboración e inspiración no habría sido posible llevar a cabo este duro cometido.

A mi mentor, mi guía, mi apoyo, el Dr. Óscar Gris. Gracias por tu saber hacer, por haber despertado en mi la magia de la córnea, por formarme en la honestidad, la ética, la responsabilidad y la corrección en toda nuestra práctica habitual, y por inspirarme en la aplicación del mayor de nuestros sentidos, el sentido común. Gracias por haber alumbrado este duro camino.

A todos los compañeros, muchos más que amigos, algunos ya familia, los que siguen y los que su vida ha tomado otro rumbo, del Servicio de Oftalmología del Hospital de Sant Pau. El seno de esta entidad y todo el maravilloso grupo humano que ha ido pasando por él, forman parte de lo que soy personal y profesionalmente. A los colegas de profesión por enviarme los pacientes y animarme a no desfallecer. A los residentes, sobretodo Phillip, Roberto y Victoria por las cirugías “robadas” y por

lidar con los pacientes. A todo el equipo técnico de consultas externas por las visitas y exploraciones complementarias hechas. Remarcar a los administrativos, sobretudo a María, por el excel, programar las cirugías, garantizar la aleatorización y “perseguir” a cada pterigion.

No sería de recibo obviar la dedicación y entrega de las quirofanistas, sin ellas esto no habría sido posible, principalmente en las sesiones maratonianas de cirugías para cumplir los tiempos. Acordándome de todas, quiero resaltar a Georgina, Silvia y Vanesa, el súper equipo “endoret”.

Una mención especial a Mohammed, por su dedicación y ayuda en todo el tema del planteamiento y la estadística que tan complicado me ha resultado. Gracias por haber dilucidado mil dudas, por ser un recurso esencial y haber estado ahí aún siendo festivo.

A Tanit, mi tabla de salvación y responsable de culminar todo este trabajo en una impresión de gran diseño, consiguiendo que lo bueno sea mejor. También a Lorena por su participación y aportaciones. Gracias a ambas por el esfuerzo, la dedicación y el saber hacer.

No puedo olvidar a los buenos y grandes amigos, los xerricus, el minigrupo, las nenetes que, con su compañía, apoyo, infusiones de energía y excelentes consejos, me han ayudado a no flaquear ni perder el rumbo marcado, a pesar del durísimo contexto socio-sanitario del último año.

Agradecer hoy y siempre a mi familia, a mis padres, Ángel e Isabel, por educarme como persona, inculcándome los valores del esfuerzo, perseverancia, constancia y el amor por el trabajo bien hecho, sin coaptarme la libertad en el camino de mi formación académica. A mi hermano, Germán, por su ejemplo de capacidad y por estar siempre a mi lado. Al resto de la familia por formar parte del pilar que aporta la estabilidad y tranquilidad tan necesaria.

Per a finalitzar, a la meva raó d'existir, els meus fills, el Ricard i l'Enric, per les hores robades, pels vostres ulls plens d'admiració que m'han donat grans dosis d'energia, per respectar tot l'esforç sense entendre massa l'objectiu i l'interès d'aquest treball i per les abraçades màgiques plenes d'amor incondicional. Al meu nen negret, l'Edou, per animar-me des de ben lluny. I a tu, Josep, per fer que els ciments no trontollessin i que el motor continués girant a pesar de totes les meves absències.

Abreviaturas

AIC	Autoinjerto conjuntival
BPC	Buena Práctica Clínica
β-TGF	Factor de crecimiento transformador β
5-FU	5 fluoracilo
CEIm	Comité de Ética de Investigación con medicamentos del Hospital Sant Pau
COX-2	Ciclooxigenasa 2
CRD	Cuaderno de recogida de datos
DNA	Desoxirribonucleico
EC	Ensayo clínico
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
FCP	Factores de crecimiento plaquetarios
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
FNT-β	Factor de necrosis tumoral β
HGF	Factor de crecimiento de hepatocito
HLA	Antígeno leucocitario humano
HTO	Hipertensión ocular
HTOIE	Hipertensión ocular inducida por corticoides
ICAM-1	Molécula de adhesión intracelular 1
IGF	Factor de crecimiento insulinalike
IL	Interleuquina
MA	Membrana amniótica
MEC	Matriz extracelular

mm	Milímetro
MMC	Mitomicina C
MMP	Metaloproteinasa de matriz
m-PRGF	Membrana de plasma rico en factores de crecimiento
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDGF	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas
PIO	Presión Intraocular
PNTs	Procedimientos Normalizados de Trabajo
PRGF	Plasma rico en factores de crecimiento
SO	Superficie ocular
TEM	Transición epitelial mesenquimal
TMA	Trasplante de membrana amniótica
TO	Tensión ocular
UV	Ultravioletas
UVB	Ultravioletas B
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular

Índice

CAPÍTULO

0 1 Introducción **19**

1.1 Pterigion **21**

1.1.1 Definición 21

1.1.2 Epidemiología 22

1.1.3 Fisiopatología 23

1.1.4 Factores de riesgo 24

1.1.5 Sintomatología y Diagnóstico 25

1.2 Tratamiento del pterigion **29**

1.2.1 Técnicas quirúrgicas sin injerto en el lecho tras la escisión 31

1.2.2 Técnicas quirúrgicas con injerto en el lecho tras la escisión 32

1.2.3 Tratamientos coadyuvantes 42

1.3 Terapias con concentrados plaquetarios **45**

1.3.1 Evolución Histórica 45

1.3.2 Propiedades 46

1.3.3 Técnica de obtención 48

1.3.4 Clasificación 50

1.3.5 Tipos de concentrados de plaquetas 51

1.3.6 Aplicación Clínica de los concentrados de plaquetas 53

CAPÍTULO

0 2 Justificación **55**

CAPÍTULO

0 3 Hipótesis y Objetivos **59**

3.1 Hipótesis **63**

3.1.1 H0 (Hipótesis nula) 63

3.1.2 H1 (Hipótesis alternativa) 63

3.2 Objetivos **65**

3.2.1 Objetivo principal 65

3.2.2 Objetivos secundarios 65

0 4 Materiales y Métodos**67**

4.1 Diseño del estudio	69
4.2 Selección de sujetos	71
4.2.1 Criterios diagnósticos	71
4.2.2 Participantes	71
4.2.3 Entorno de los participantes	72
4.2.4 Técnica de selección	72
4.2.5 Criterios de inclusión y exclusión	72
4.2.6 Criterios de salida	74
4.3 Intervención	75
4.3.1 Método experimental	75
4.3.2 Método control	79
4.3.3 Postoperatorio y seguimiento	80
4.4 Recolección y mediciones	83
4.4.1 Recogida de datos	83
4.4.2 Variables	84
4.5 Análisis de datos	89
4.5.1 Tamaño de la muestra	89
4.5.2 Randomización	89
4.5.3 Método estadístico	90
4.5 Aspectos éticos	93
4.6.1 Consideraciones generales	93
4.6.2 Consentimiento informado	93
4.6.3 Confidencialidad de datos	95
4.6.4 Seguro	95

0 5 Resultados**97**

5.1 Análisis del flujo de participantes	99
5.1.1 Diagrama de flujo	99
5.1.2 Periodo de seguimiento	100

5.2 Análisis descriptivo de la muestra	101
5.2.1 De la variables clínico-demográficas	101
5.2.2 De las variables intra y postoperatorias	103
5.3 Análisis comparativo de las variables	
clínico-demográficas entre ambos grupos	107
5.3.1 Edad	107
5.3.2 Sexo	107
5.3.3 Raza	108
5.3.4 Lateralidad	108
5.3.5 Localización	109
5.3.6 Tamaño invasión corneal del pterigion	109
5.3. 7 Área de resección quirúrgica	110
5.3.8 Cumplimiento del tratamiento	111
5.4 Análisis de las variables de resultado	113
5.4.1 Variable principal: recidiva	113
5.4.2 Variables secundarias	114
5.5 Resumen resultados	119
CAPÍTULO	
06 Discusión	123
6.1 De los materiales y métodos empleados	125
6.1.1 Diseño del estudio	126
6.1.2 Selección de sujetos	126
6.1.3 Intervención	127
6.1.4 Recolección y mediciones	131
6.1.5 Análisis de datos	132
6.2 De los datos demográficos y características clínicas	135
6.2.1 Edad y Sexo	135
6.2.2 Raza	135
6.2.3 Lateralidad y localización	136
6.2.4 Tamaño de la invasión corneal	136
6.2.5 Área de resección conjuntival	137
6.2.6 Cumplimiento del tratamiento	137

6.3 De las variables resultado	139
6.3.1 Variable principal: Recidiva	139
6.3.2 Variable secundaria: Tiempo de epitelización	144
6.3.3 Variable secundaria: Complicaciones	147
6.3.4 Variable secundaria: Cicatrización	151
6.4 Limitaciones del estudio	155
6.5 Aportaciones del estudio	157
<small>CAPÍTULO</small> 07 Conclusiones	159
<small>CAPÍTULO</small> 08 Trabajos futuros	163
<small>CAPÍTULO</small> 09 Bibliografía	167
<small>CAPÍTULO</small> 10 Anexos	183
Anexo 1	185
Anexo 2	193
Anexo 3	197
Anexo 4	201

CAPÍTULO
01

Introducción

1.1 Pterigion

- 1.1.1 Definición
- 1.1.2 Epidemiología
- 1.1.3 Fisiopatología
- 1.1.4 Factores de riesgo
- 1.1.5 Sintomatología y diagnóstico

1.2 Tratamiento del pterigion

- 1.2.1 Técnicas quirúrgicas sin injerto en el lecho tras la escisión
- 1.2.2 Técnicas quirúrgicas con injerto en el lecho tras la escisión
- 1.2.3 Tratamientos coadyuvantes

1.3 Terapias con concentrados plaquetarios

- 1.3.1 Evolución histórica
- 1.3.2 Propiedades
- 1.3.3 Técnica de obtención
- 1.3.4 Clasificación
- 1.3.5 Tipos de concentrados de plaquetas
- 1.3.6 Aplicación clínica de los concentrados de plaquetas

1.1

Pterigion

1.1.1 Definición

El término pterigion deriva del griego *pterygos* que significa ala. Es un crecimiento triangular del epitelio conjuntival y tejido conectivo subconjuntival hipertrófico, que aparece en la conjuntiva interpalpebral, en el meridiano horizontal, extendiéndose hacia la córnea.^{1,2} Normalmente se halla en la región nasal pero también puede ser temporal, e incluso, ambos lados, que pueden conectarse formando el denominado “pterigion de doble cabeza”.

El origen no es totalmente conocido y existen controversias sobre si se trata de una degeneración o una proliferación conjuntival.

Esta entidad se clasifica en primaria o recurrente, que surge semanas o meses después de la escisión de un pterigion primario y suele ser más agresivo.

Morfológicamente diferenciamos dos regiones (*fig. 1*): la **cabeza o ápex**, con un margen de progresión normalmente avascular, avanza por la conjuntiva atravesando el limbo e invadiendo la córnea a la que se adhiere fuertemente destruyendo la capa de Bowman. El **cuerpo**, más o menos abultado, se extiende sobre toda la esclera hasta la región cantal siendo carnoso, vascular y móvil por su débil adherencia a los planos profundos.

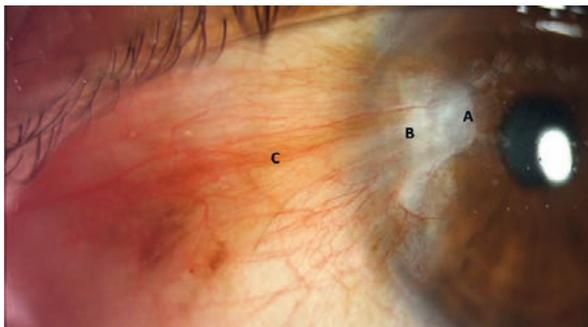


Figura 1. Partes del pterigion: A: zona de avance del ápex, B: cabeza o ápex, C: cuerpo.

Histológicamente hay un crecimiento de fibroblastos activados, vasos sanguíneos y un infiltrado de células inflamatorias y de matriz extracelular anormal formada por acúmulos de elastina, glucosaminoglicanos y alteraciones del colágeno.¹ El epitelio puede tener presentaciones muy diversas: normal, acantótico, hiperqueratótico o incluso displásico. En la citología de impresión se pone de manifiesto una metaplasia escamosa superficial con hiperplasia de células caliciformes. En el borde de avance se evidencia la destrucción de la membrana de Bowman y del estroma corneal superficial, así como la presencia de células madre limbares alteradas.³

1.1.2 Epidemiología

Liu y colaboradores en su reciente meta-análisis de 20 estudios y 900 sujetos, cifran la prevalencia mundial de esta patología en la población general en un 10.2%.⁴ Los autores describen una variación de los valores según una distribución geográfica, que depende de la exposición a la radiación solar y la latitud de los países, así, la mayor concentración se encuentra en el denominado “cinturón del pterigion”, entre la latitud 37° norte y sur del Ecuador.⁵ Aunque la prevalencia aumenta con la edad, la incidencia más alta acontece en grupos jóvenes, siendo mayor entre los 20 y 40 años.

En España, la prevalencia es del 5.9% de la población mayor de 40 años, incrementándose significativamente con la edad, y no se encuentran diferencias entre sexos, que sí se han descrito en otros trabajos con resultados controvertidos.⁶

Respecto a la distribución entre razas, el Barbados EyeStudy reveló que un cuarto de los pacientes negros tenían pterigion, con una frecuencia 2.5 veces mayor que la población caucásica.⁷

1.1.3 Fisiopatología

La patogenia exacta de esta común enfermedad es compleja y permanece, en la actualidad, incompletamente dilucidada orientando a un probable origen multifactorial.

Fisiopatológicamente los pensamientos tradicionales defendían un origen degenerativo de la enfermedad, una degeneración elastótica, basándose en los hallazgos histológicos de abundantes fibras elásticas y ausencia de fibroblastos en la zona patológica. Trabajos ultraestructurales posteriores demostraron que la elastogénesis es un proceso normal de la conjuntiva adulta, tanto en su sustancia propia, como en el tejido conectivo de la Tenon y en la episclera profunda existe una producción continua de fibras elásticas, fibras que son de morfología anormal en el pterigion. También se describió, con microscopía electrónica, la presencia, en el pterigion, de material granular eosinofílico secundario a una excesiva actividad de producción de material de matriz elástica y presencia de fibroblastos e histocitos en zonas de material elástico precursor.² Así, los autores concluyen que los hallazgos degenerativos se limitan a la zona subconjuntival mientras que el origen de la enfermedad es un desorden proliferativo de los fibroblastos con similares características a los tumores benignos.⁸ Este pensamiento también se fundamenta en la frecuencia de recurrencia, así como el efecto beneficioso de los antimetabolitos y radioterapia suprimiendo la actividad celular. La presencia de diferentes citoquinas proinflamatorias y/o factores de crecimiento angiogénicos y fibrogénicos en el pterigion apoyan su capacidad proliferativa e invasiva.¹ También se ha demostrado que muchos tipos de sus células expresan metaloproteinasas de matriz 1 (MMP-1).⁹ Sabemos que la MMP-1 activada tiene la capacidad de liberar péptidos quimiotácticos de colágeno, promover la infiltración de leucocitos y mediar tanto en la invasión de células tumorales como en la migración de queratinocitos. Así se podría argumentar que los niveles de MMP-1 reflejan la hiperplasia y la inflamación que caracterizan la enfermedad.

1.1.4 Factores de riesgo

Estudios poblacionales han apuntado tradicionalmente a los factores medioambientales, en concreto la exposición acumulada a la radiación ultravioleta, como los principales agentes involucrados con el desarrollo de esta enfermedad, encontrando una directa relación en la proximidad al ecuador y la mayor prevalencia de la enfermedad.^{10,11} Estudios más recientes han implicado una gran cantidad de mecanismos patológicos, como las infecciones víricas, la herencia, la sequedad ocular, la edad, los microtraumas, etc. que no son incompatibles con la teoría de exposición ultravioleta.

Los factores patogénicos más relevantes relacionados son:

La **radiación ultravioleta (UV)** que, absorbida por la córnea y la conjuntiva, promovería el daño en las células y la consecuente proliferación celular.¹⁰ Son conocidos los cambios que aparecen en los queratocitos epidérmicos como respuesta a la exposición a UVB: su activación en las primeras dos horas, la secreción de proteínas proinflamatorias y factores de crecimiento reflejando la existencia de daño celular entre las 2 y 4 horas y en mayor exposición (16-24h) la diferenciación terminal de los queratinocitos, eliminando las células dañadas. Di Girolamo y col. han descrito eventos similares en el pterigion y también han demostrado el efecto específico de UVB sobre la inducción de MMP-1 en sus células epiteliales.^{12,13}

La mayor frecuencia de presentación nasal del pterigion apoyaría la teoría de etiopatogenia mediada por UV. El trauma ultravioleta es superior en esta zona, bien sea por más exposición o por más concentración debido al reflejo desde el lateral nasal.

Liu y colaboradores en su meta-análisis observan mayor prevalencia en las zonas rurales que en las urbanas, relacionándolo con más actividad al aire libre.¹⁴

Los **factores genéticos** que inicialmente, debido a casos aislados, se definieron en un patrón autosómico dominante y que posteriormente fue descartado, se concretarían en genes relacionados con la reparación del DNA, la proliferación celular, la migración y la angiogénesis.¹⁵

La **inflamación crónica** de la zona limbar, barrera natural ante el sobrecrecimiento conjuntival, provocaría una insuficiencia límbica sectorial que conllevaría a una conjuntivalización activa y progresiva de

la córnea a expensas de una masa con extensa proliferación epitelial, inflamación, angiogénesis y remodelación del tejido conectivo.¹¹

Las **infecciones víricas** también se han relacionado tras detectar una variedad de virus oncogénicos, incluido el virus del papiloma humano (VPH), el citomegalovirus (CMV) y el virus del herpes simple (VHS) en muestras de pterigion. El más vinculado es el VPH que codifica proteínas que inactivan p53, generando inestabilidad cromosómica y aumentando la probabilidad de que una célula evolucione hacia la displasia.¹⁶ En la literatura hay mucha disparidad entre la detección de VPH en el pterigion, desde 0 al 100%, disparidad atribuida a elementos étnicos y geográficos, a las técnicas de laboratorio y al diseño del estudio.

Estos factores no son excluyentes y varios podrían formar parte del origen multifactorial de esta entidad. Es posible que exista una predisposición genética que juegue un papel significativo en el desarrollo del pterigion. Las infecciones, así como diferentes condicionantes ambientales conducirían a procesos inflamatorios más o menos crónicos potencialmente relacionados con el origen de la patología. La exposición ultravioleta podría inducir directa o indirectamente la sobreexpresión de factores de crecimiento angiogénicos y fibroblásticos, pudiendo contribuir en la patogénesis de la enfermedad.

1.1.5 Sintomatología y Diagnóstico

Existe una alta variabilidad en la forma de presentación de esta enfermedad, desde una tumoración inactiva con poca vascularización y sin crecimiento hasta un formato muy activo, con importante hiperemia y bastante aumento de tamaño. Así, el pterigion puede ser asintomático pero lo más frecuente es que el paciente refiera un compromiso estético o síntomas irritativos leves como quemazón, enrojecimiento, fotofobia, lagrimeo y sensación de cuerpo extraño. La severidad de los síntomas es proporcional al tamaño y la morfología de la proliferación, y empeora con la luz, el viento y el polvo.¹⁷ Ocasionalmente, el curso clínico se acompaña de dolor ocular asociado a micro-ulceraciones en la línea apical o en la córnea adyacente por el efecto Dellen.

A veces el pterigion provoca alteraciones visuales, normalmente como consecuencia de modificaciones de la película lagrimal con clínica de

deslumbramiento, fotofobia, lagrimeo, y reducción de la sensibilidad del contraste por difracción de la luz.¹⁸ Eventualmente puede existir una disminución real de la visión por invasión de la zona óptica, en casos avanzados, o por inducción de astigmatismo secundario a la modificación de la curvatura corneal, generalmente a favor de la regla y proporcional a los milímetros de invasión (*fig. 2 A y B*).¹⁹

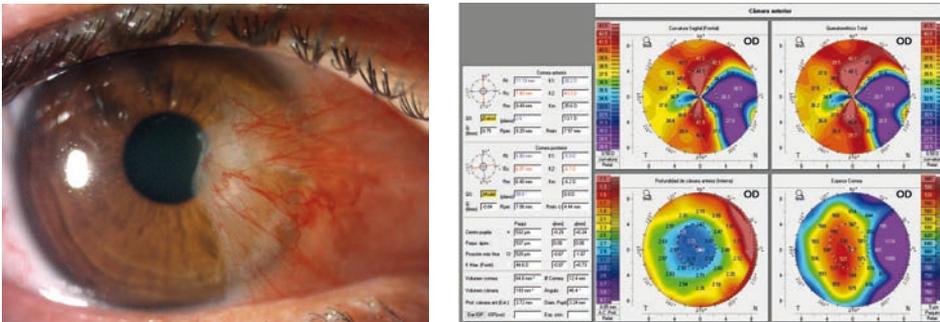


Figura 2. Pterigion avanzado. A: Biomicroscopía: sobrepasa el margen pupilar. B: Topografía: Astigmatismo a favor de la regla secundario al aplanamiento eje horizontal.

En formas avanzadas o recurrentes puede aparecer simbléfaron, generalmente afectando al canto medio, fibrosis a los músculos extraoculares, incluso cierto enoftalmos, que cursan o no con diplopia secundaria a la restricción de los movimientos oculares. El ectropion o entropion del punto lagrimal con lagrimeo persistente también son manifestaciones que se pueden asociar a esta patología.

Se ha sugerido que las manifestaciones del pterigion, así como su grosor y comportamiento tras la escisión quirúrgica, varían en relación a la localización geográfica del país, en los climas tropicales el pterigion suele ser más grueso, con más manifestaciones y se comporta de forma más agresiva tras la intervención.¹⁴

Aunque clínicamente la morfología tan característica hace difícil errar el diagnóstico debemos considerar el diagnóstico diferencial con el pseudopterigion, que es una adherencia conjuntival a la córnea provocada por un proceso inflamatorio corneal, cicatricial o traumático, que puede aparecer en cualquier cuadrante o dirección y con poca adherencia a planos profundos corneales. Los tumores conjuntivales, la neoplasia conjuntival

intraepitelial y el carcinoma escamoso, también pueden asemejar un pterigion y es la anatomía patológica la que proporciona el diagnóstico de certeza. Así, el estudio histopatológico tras la escisión puede confirmarlo y diferenciarlo de otros diagnósticos diferenciales probables.

1.2

Tratamiento del pterigion

El diagnóstico y el tratamiento correcto del pterigion puede reducir los signos y síntomas, y una actitud quirúrgica adecuada puede prevenir una posible pérdida de visión y daño estructural permanente. En la literatura se ha demostrado que los cambios topográficos y el astigmatismo existente mejoran, aunque no revierten totalmente, tras la cirugía.^{20,21}

Cuando el pterigion es pequeño, sin afectación visual y poca sintomatología el tratamiento debe ser conservador con lubricantes oculares sin conservantes y seguimiento periódico valorando la evolución (*fig. 3*). En casos de inflamación moderada puede estar indicado el uso de corticoides suaves de forma puntual. La cirugía, con las diferentes técnicas quirúrgicas descritas, acaba siendo el tratamiento efectivo y definitivo, en la mayoría de los casos, pero supone todo un reto donde la dificultad del manejo radica en el desconocimiento de la propia enfermedad, de sus mecanismos fisiopatológicos, y en la tendencia a la recidiva tras la escisión. La recurrencia que puede oscilar entre el 0% y el 89% según la técnica quirúrgica empleada, es la causa más frecuente de fracaso de la cirugía y a menudo se asocia a más morbilidad ocular que la propia patología. Así, el objetivo del tratamiento quirúrgico debe ser, en primer lugar, evitar su recidiva, pero también proporcionar al paciente buena apariencia estética eliminando la sintomatología asociada.²²

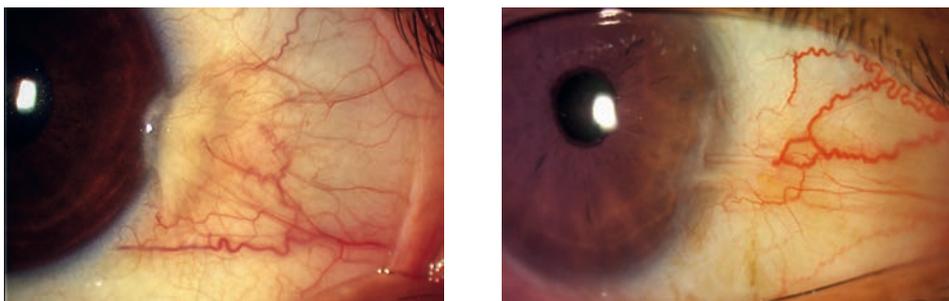


Figura 3. Diferentes aspectos de pterigion pequeño.

El denominador común del manejo quirúrgico es la escisión completa del pterigion y se complementa con diferentes enfoques terapéuticos para disminuir la recurrencia. La escisión debe comprender todo el tejido fibrovascular y la Tenon, tanto del lecho escleral como de la zona circundante, para reducir la posibilidad de recidiva, pero evitando eliminar demasiado tejido epitelial por la capacidad de retracción conjuntival. El pterigion está muy adherido a la córnea dificultando encontrar un buen plano de disección en este punto, a diferencia de la zona escleral donde el cuerpo tiene poca adherencia tisular al tejido adyacente, siendo fácil de reseca.

En el caso de las recidivas la escisión es más compleja, debido a la distorsión de los diferentes planos anatómicos con importante cicatrización fibrosa y elevada adherencia del cuerpo del pterigion a la esclera subyacente y, en muchas ocasiones, a la musculatura. Así, es mucho más difícil realizar una correcta separación tanto a nivel corneal como escleral requiriendo, en ocasiones, una disección profunda en ambos niveles. En el proceso de escisión es importante realizar una cuidadosa y correcta hemostasia de toda la zona.

Tras la retirada del pterigion la diversidad terapéutica radica en las diferentes opciones de tratamiento coadyuvante aplicadas, y las clasificamos según se implante o no injerto en el lecho desnudo.

1.2.1 Técnicas quirúrgicas sin injerto en el lecho tras la escisión

Esclera desnuda

Procedimiento descrito por D'Ombrain en 1948, donde tras la escisión simple del pterigion y la sutura o no de la conjuntiva a planos profundos, no se actúa sobre la herida provocada dejando que epitelice desde la conjuntiva adyacente (*fig. 4*).²³ La tasa de recurrencia es inaceptablemente alta (40-80%), con un riesgo de recidiva 6 veces mayor frente al autoinjerto conjuntival, que además puede ser altamente agresiva generando mucha morbilidad: desarrollo de simbléfaron, limitación de la movilidad ocular y aparición de diplopia.^{24,25} Otras complicaciones relacionadas son la necrosis e infecciones esclerales.

En la actualidad esta técnica no está recomendada y su papel queda relegado a un espacio en la historia del tratamiento de esta entidad.

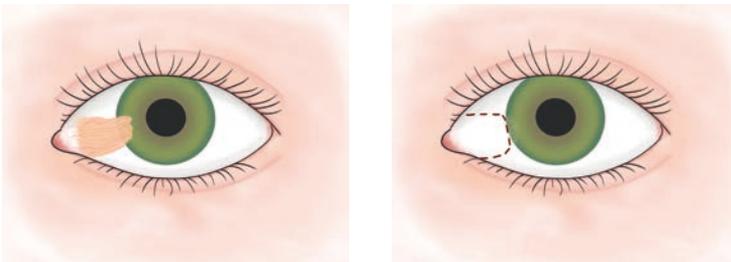


Figura 4. Esquema de técnica quirúrgica de escisión + esclera desnuda.

Cierre conjuntival simple

Empezó a usarse a finales de los años 40 para mejorar los resultados obtenidos con la esclera desnuda. Después de la escisión simple, la herida se cierra con aproximación y sutura, con nylon 10-0, de los bordes conjuntivales, añadiendo o no incisiones relajantes (*fig. 5*). A pesar de ello las tasas de recurrencia descritas en la literatura no son significativamente inferiores al procedimiento de esclera desnuda (45-70%).²²

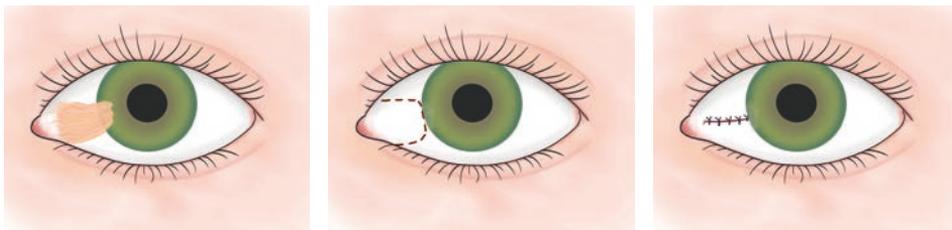


Figura 5. Esquema de técnica quirúrgica de escisión + cierre conjuntival simple.

1.2.2 Técnicas quirúrgicas con injerto en el lecho tras la escisión

La introducción de tejido sano como injerto tras la escisión contribuye a disminuir la recurrencia tanto física como fisiológicamente.

Transposición conjuntival

Existen diferentes métodos de superposición conjuntival para cerrar el defecto tras la eliminación del pterigion, como el colgajo pediculado rotacional, pero sin mejoría significativa en los índices de recurrencia.

Autoinjerto conjuntival (AIC)

Se considera la técnica de elección en la cirugía del pterigion con los índices de recidiva más bajos (2-5%) y con un excelente resultado estético.²⁶ Es el procedimiento con el que se comparan el resto de opciones terapéuticas.

La técnica consiste en cubrir la esclera expuesta tras la escisión del pterigion con conjuntiva del propio paciente, procedente del área bulbar temporal-superior y con una superficie 0.5-1 mm mayor al defecto conjuntival existente (*fig. 6*). El reto es conseguir un injerto amplio, que cubra todo el lecho, libre de Tenon, para disminuir las recidivas y mejorar el resultado estético, y sin ojales. En la colocación el autoinjerto debe mantener su orientación original y puede suturarse o fijarse con adhesivos tisulares biológicos comercializados. El uso de estas sustancias biocompatibles y biodegradables tiene la ventaja, frente a la sutura, de reducir el tiempo quirúrgico y disminuir el dolor y las molestias postoperatorias, sin observar diferencias en cuanto a resultados; aunque diferentes estudios han demostrado menor recurrencia utilizando adhesivos tisulares.²⁷

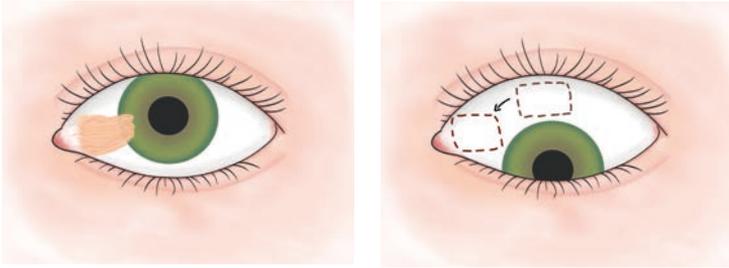


Figura 6. Esquema de la técnica quirúrgica de autoinjerto conjuntival tras la escisión del pterigion.

Una variante es la técnica de escisión extensa seguida de autoinjerto de gran tamaño, indicada, sobretodo, en recurrencias severas o cuando el autoinjerto convencional no es suficiente.

Otra modificación es el autoinjerto limboconjuntival. Según la literatura, añadir el tejido limbar al injerto conjuntival disminuiría los índices de recurrencia, respecto a la técnica de autoinjerto convencional, en los casos de pterigionrecidivado. Mientras que no existirían diferencias significativas entre los dos procedimientos cuando se trata de pterigion primario.²⁸

Trasplante de membrana amniótica (TMA)

Si revisamos la literatura médica vemos que la membrana amniótica fetal se empezó a utilizar hace más de un siglo en trasplantes y reconstrucciones de la superficie cutánea.²⁹

En oftalmología, el primero en utilizar las membranas fetales fue De Rotth en 1940 para la reconstrucción del simbléfaron, sin demasiado éxito.³⁰ Posteriormente, Sorsby y colaboradores usaron exitosamente la membrana amniótica procesada químicamente, como recubrimiento temporal en el tratamiento de quemaduras químicas oculares, introduciendo el concepto de propiedades biológicas que se suman a las mecánicas ya conocidas.³¹ A pesar de sus buenos resultados la técnica se abandonó durante un periodo de casi 50 años. En 1995, Kim y Tseng introducen el trasplante de membrana amniótica preservada en el tratamiento de la patología de la superficie ocular, y con ellos renace un interés generalizado por el uso de este tejido que en estos últimos 25 años ha demostrado su eficacia para el tratamiento reconstructivo de la superficie ocular.³²

Histológicamente la membrana amniótica (MA), o amnion, es la capa más interna de la placenta, recubre la placenta por su cara fetal, y está formada por tres capas (*fig. 7*):³³

- **Epitelio:** monocapa de células cuboides con múltiples microvellosidades en la superficie y gran capacidad secretora. Se une, mediante hemidesmosomas, a la membrana basal.
- **Membrana basal:** membrana fina continua de gran resistencia compuesta de colágeno IV y VIII, fibronectina y laminina.
- **Matriz estromal:** capa más gruesa, aunque el grosor es variable dependiendo de la localización, y avascular formada por tejido conectivo y fibroblastos. Es la capa en contacto con el corion.

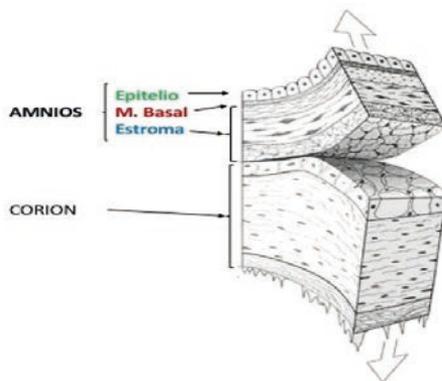


Figura 7

Histología de la membrana amniótica con sus tres capas, así como el corion.

Aunque el amnion se encuentra adyacente al corion no está completamente fusionado con él, de manera que ambos pueden separarse fácilmente mediante disección roma.

La estructura histológica del amnion varía desde la concepción hasta el momento del parto y para el trasplante se utiliza el amnion maduro, presente en las placentas de las mujeres embarazadas a término.

En la práctica clínica las dos caras, epitelial y estromal, se diferencian tanto por el aspecto como por el comportamiento cuando se toca con una torunda absorbente, la hemosteta. La cara epitelial es de aspecto más liso y menos pegajosa con la hemosteta mientras que la estromal se adhiere mucho más y su aspecto es más rugoso.

Inmunológicamente sabemos, gracias a técnicas de inmunofluorescencia, que el amnios presenta una baja antigenicidad, las células epiteliales no expresan en su superficie los antígenos HLA-A, B, C y DR.³⁴ Así, no provoca respuestas inmunológicas locales ni respuesta inmune contra el injerto, no se han detectado anticuerpos HLA en el suero de los receptores.³⁵ Y tanto en el implante como autoinjerto, propio recién nacido, como en aloinjerto el amnios queda incluido en los tejidos sin llegar a vascularizarse y sin respuesta inmunológica.³⁶ En cambio, el corion, probablemente debido a la presencia de decidua maternal, posee una considerable antigenicidad que conlleva una intensa respuesta inmunológica celular provocando, en el caso de implante alogénico, neovascularización y el fenómeno típico de rechazo del receptor contra el injerto.

Las *propiedades biológicas* de la membrana amniótica derivan en varios *atributos clínicos* que indican su utilidad en diferentes patologías.

La principal característica es que favorece el crecimiento, adhesión y diferenciación de las células epiteliales, además de prevenir su apoptosis.³⁷ Así, surge su principal efecto clínico y utilidad en la mayor parte de los casos, gracias a sus propiedades mecánicas actúa como una membrana basal que es un excelente sustrato para el crecimiento epitelial de los tejidos sobre ella. Además, sus células epiteliales contienen una gran cantidad de vacuolas en el citoplasma secretoras de factores de crecimiento,³⁸ que promueven, aún más, la epitelización. Por estos motivos, facilita enormemente la regeneración tisular, pero manteniendo siempre el fenotipo epitelial preexistente.³⁹ Este concepto es importante ya que el epitelio generado procederá de las “stemcells” presentes en esa zona, sin que se produzca transdiferenciación celular.

La membrana amniótica se ha utilizado como sustrato, in vitro e in vivo, en el cultivo de diferentes células, manteniendo la morfología epitelial normal así como su diferenciación.^{40,41} Esto nos sugiere un mecanismo de acción diferente al de otros trasplantes de membranas mucosas, como la bucal o nasal, donde las células epiteliales trasplantadas sobreviven y funcionan como sustitutas de la superficie epitelial ocular, sin integrarse en el tejido participando de la epitelización como sí ocurre en el caso de la membrana amniótica. Esta propiedad puede tener un potencial impacto en la ingeniería tisular.

Otro de los efectos clínicos que se consigue con el TMA es una marcada reducción de la inflamación. El amnios contiene una gran cantidad de sustancias que inhiben distintos mediadores de la inflamación, las proteasas,⁴² y, por otro lado, posee la capacidad de precipitar las células inflamatorias a una rápida apoptosis.⁴³ La reducción de la inflamación se consigue tanto en los tejidos que quedan localizados bajo el implante como en las zonas circundantes. Todo esto favorece, a su vez, la epitelización, ya que mejora el microambiente en el que se encuentran las “stemcells” y por tanto su actividad.

El TMA también reduce la formación de cicatrices durante el proceso de regeneración tisular. El mecanismo por el que se consigue este efecto no es del todo conocido, aunque existen diferentes teorías sobre cuál es la base fisiológica: el amnios actuaría como una barrera mecánica de colágeno ante la formación de fibrosis, los factores de crecimiento producidos en las células epiteliales inhibirían la señal del factor de crecimiento transformador β (β -TGF),⁴⁴ y la MA favorece el paso de citoquinas entre las células epiteliales y estromales que serían las responsables de inhibir la formación de tejido fibrótico.⁴⁵

En la práctica clínica la MA también comporta una reducción de la neovascularización debido a la producción de potentes componentes antiangiogénicos como trombospondina 1, endostatina e inhibidores tisulares de metaloproteasas.⁴⁶

Finalmente, también se ha descrito cierto poder de protección frente a las infecciones atribuible tanto a una acción física de barrera que limita la entrada de microorganismos, como a la presencia de batricidina, beta-lisina, lisozima, transferrina y 7-S inmunoglobulinas en la membrana amniótica.⁴⁷

Tabla 1. Propiedades de la membrana amniótica.

Propiedades de la MA

- Favorece la epitelización
- Disminuye la inflamación
- Reduce la formación de cicatrices
- Reduce la neovascularización
- Protege ante las infecciones

La *obtención de la membrana amniótica* es a partir de la placenta de partos realizados mediante cesárea electiva con autorización por escrito de la madre y con serologías negativas de virus de la inmunodeficiencia humana, hepatitis B, hepatitis C y sífilis, para evitar la posible transmisión de enfermedades infecciosas en el receptor. Al tratarse de un donante vivo es necesario cubrir el periodo ventana para estas enfermedades, así se debe realizar el estudio en la donante en el momento del parto y con posterioridad, esperando un mínimo de tres meses si utilizamos serologías, o un mínimo de diez días si el método utilizado es la PCR.

De forma generalizada la membrana amniótica se obtiene según la técnica descrita por Tseng.⁴⁸ Una vez obtenida la placenta, en condiciones de esterilidad, se procede a su lavado en una solución antibiótica que contiene 50 µg/ml de penicilina, 50 µg/ml de estreptomina, 100 µg/ml de neomicina, 2.5 µg/ml de anfotericina B y agua destilada. El amnion se separa del resto de la placenta mediante disección roma a través del espacio virtual que existe entre las dos membranas, y se coloca sobre fragmentos de papel de nitrocelulosa, con el epitelio hacia arriba y la superficie estromal en contacto con el papel (*fig. 8 A y B*).

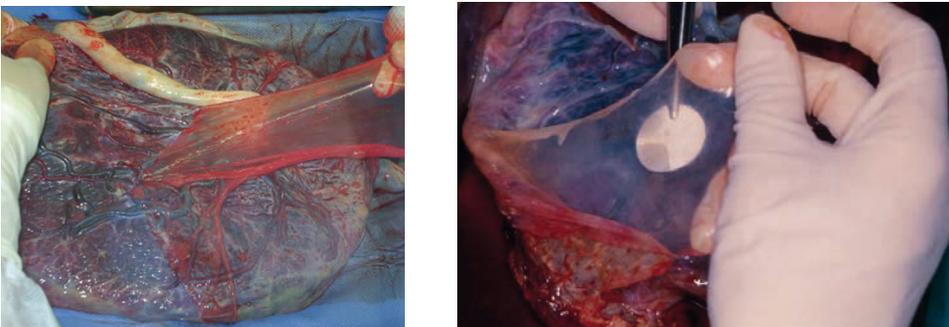


Figura 8. Obtención de la membrana amniótica. A: Disección de la membrana del resto de placenta. B: Colocación en el papel nitrocelulosa.

Una vez se dispone del tejido existen diferentes *formas de preservación*. Lo más sencillo es la **MA fresca** que, tras la obtención bajo condiciones estériles y la irrigación con suero salino estéril, se guarda a 4 °C en una

solución salina con 50.000 UI de penicilina y 1 g de estreptomina por 400 ml de solución salina.⁴⁹ A pesar de tener las propiedades biológicas originales, en nuestro entorno no se usa por el riesgo de transmisión microbiológica pese a la existencia de serologías negativas, debido a la imposibilidad de valoración tras el periodo ventana. En cambio, en países en vías de desarrollo, donde las técnicas de preservación no están totalmente implementadas, la MA fresca es la más utilizada.

Lo más utilizado en los países desarrollados, es que la membrana amniótica se preserve en el Banco de Tejidos según la técnica descrita por Tseng, obteniendo la **MA criopreservada**.⁴⁸ Los fragmentos de membrana amniótica se conservan en recipientes independientes a -80 °C, junto a una sustancia crioprotectora en una proporción 1:1, glicerol o dimetilsulfóxido (*fig. 9*). Así se puede conservar congelada y disponible para su uso durante un mínimo de 12 meses, habiendo autores que reportan buenos resultados conservando la MA a -140 °C durante 5 años.⁵⁰ Para utilizarla es suficiente con extraerla del congelador 10-15 minutos antes de la cirugía, ya que a temperatura ambiente se descongela en poco tiempo.

Se ha visto que la cantidad de factores biológicos activos disminuye con el tiempo de preservación: 50% a los dos meses e indetectables a los 18 meses.



Figura 9
MA conservada en glicerol.

Otra forma de preservación es la **MA liofilizada** donde los trozos de MA se congelan rápidamente entre -50 y -80°C y luego se secan a alto vacío usando un dispositivo liofilizador. El agua presente en el tejido se extrae, entre 90 y 95%, por sublimación y el tejido suele esterilizarse mediante irradiación gamma.⁵¹ El pretratamiento de la MA con sacáridos

lioprotectores reduce el daño celular y protege mejor su estabilidad bioquímica.⁵² Las ventajas de este método son la posibilidad de almacenamiento a temperatura ambiente con una vida media de tres años y la garantía de esterilidad gracias a la radiación aplicada.⁵³ Los inconvenientes son que, a pesar que mantiene la estructura histológica existen mayores diferencias en la ultraestructura que con la criopreservación y la menor concentración de factores de crecimiento, que aunque parece no comprometer la supervivencia celular en vivo es necesario valorar las repercusiones en la práctica clínica.⁵⁴ Antes de su uso, el tejido se rehidrata con suero fisiológico antes de su uso en pocos minutos pudiéndose sujetar de forma habitual (*fig. 10*).

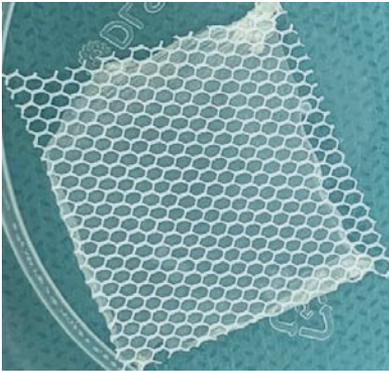


Figura 10

MA liofilizada sobre malla de soporte.

Existe otra posibilidad, la **MA secada al aire**, donde los trozos de MA se mantienen a temperatura ambiente bajo una campana y se exponen al aire durante diferentes periodos de tiempo. Por lo general, la esterilización es mediante irradiación gamma.⁵⁰

Comercialmente, a parte de la membrana amniótica deshidratada, existe la MA criopreservada adaptada diferentes dispositivos que actúan como soporte para la aplicación. El primero en aparecer fue el dispositivo médico Prokera® (Bio-Tissue, Inc., Miami, FL, EUA) que permite la utilización de la MA soportada en un anillo de 15 o 16 mm diámetro que se coloca sin suturar sobre la superficie ocular actuando como un vendaje compresivo que tarda tres días en eliminarse. Sus ventajas son la inducción de menos inflamación, la necesidad de menos tiempo quirúrgico y menos número de controles postoperatorios.

Cabe resaltar su utilidad para prevenir la formación de simbléfaron en casos de inflamación grave de la superficie ocular. Con diseño parecido existe el AmnioClip® (KET Kunststoffund Elasttechnik GmbH, Liegau-Augustusbad, Alemania), que es una MA entre dos anillos que puede colocarse como una lente de contacto grande.

Se han descrito dos formas de *implantar la MA* en la superficie ocular, como injerto o como recubrimiento, según el objetivo deseado, porque tienen comportamiento e indicaciones diferentes.

En los casos que se usa como **injerto** el objetivo es que actúe como una membrana basal favoreciendo la epitelización centripeta sobre ella a partir del epitelio sano circundante y manteniendo el fenotipo epitelial normal. Técnicamente esto se consigue si el fragmento de membrana amniótica se sutura borde a borde con el tejido sano adyacente, sin sobrepasar los márgenes del defecto epitelial y con la cara epitelial hacia arriba (*fig. 11*).

La principal indicación clínica del injerto de MA es la reconstrucción de la superficie conjuntival y la literatura ha demostrado que es una alternativa al injerto conjuntival tras resecciones conjuntivales extensas.⁵⁵ Los resultados demuestran que el área a reconstruir puede ser extensa siempre que el lecho no esté isquémico y el epitelio de los márgenes sea normal, así como el estroma subconjuntival. A nivel de la córnea se puede usar en defectos epiteliales y/o estromales que no han respondido al tratamiento médico⁵⁶ con una o varias capas,⁵⁷ o para disminuir el dolor en queratopatías bullosas.⁵⁸

Con esta técnica el implante de MA permanece bajo el nuevo epitelio formado durante un periodo de tiempo más o menos prolongado según la vascularización.⁵⁹



Figura 11

Implante MA (en negro) como injerto, con el epitelio hacia arriba.

La segunda opción es el uso de la membrana como un **recubrimiento**. El fragmento de membrana amniótica se implanta, con la cara epitelial hacia abajo, sobrepasando los márgenes del defecto epitelial para reducir

el proceso inflamatorio, favorecer la epitelización y disminuir el proceso de cicatrización bajo la membrana (fig. 12). Estos objetivos se consiguen gracias al efecto derivado tanto de las propiedades biológicas ya descritas, como de una acción mecánica, igual a la de las lentes de contacto, que ayuda a la estabilización del epitelio corneal, protege del roce mecánico y continuo de los párpados, disminuye la sintomatología y evita la sequedad corneal. Así, la aplicación clínica es en aquellas patologías que se requiere suprimir la reacción inflamatoria refractaria.

Con esta forma de implante, a diferencia del injerto, el epitelio crece por debajo de la MA y no colabora en sujetarla en la periferia, de manera que cuando se retiran las suturas que la fijan, ésta cae en su totalidad sin que queden restos en la superficie ocular que pudiesen comprometer la transparencia.⁶⁰ Así, la eficacia del procedimiento está directamente relacionada con el tiempo de permanencia del implante en la superficie ocular.

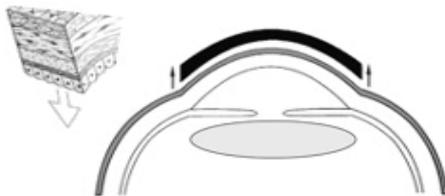


Figura 12

Implante de MA (en negro) como recubrimiento, con el epitelio hacia abajo.

La MA liofilizada o secada no permiten diferenciar la cara epitelial de la estromal de manera que no hay diferencias de orientación entre las dos formas de implante.

En la *cirugía del pterigion* la membrana amniótica actúa tanto de modo estructural, una membrana basal que facilita la epitelización, como molecularmente favoreciendo la diferenciación epitelial e inhibiendo la neovascularización y la inflamación tanto del lecho como del tejido circundante. La MA ha demostrado suprimir la señal de β -TGF en los fibroblastos tanto conjuntivales como del pterigion, disminuyendo la cicatrización y la fibrosis residual.⁶¹

Técnicamente, tras la escisión habitual del pterigion la MA se posiciona como injerto, mediante suturas o pegamentos biológicos, para favorecer una rápida epitelización conjuntival. Se trata, comparado con el autoinjerto

conjuntival (AIC), de un procedimiento más sencillo porque se evita la manipulación de la conjuntiva bulbar superior y no tiene limitaciones de tamaño, el injerto de MA es un 50-100% mayor que el injerto conjuntival.

Según los resultados bibliográficos, el injerto de membrana amniótica en esta patología presenta índices más elevados de recurrencia que el AIC, pero el TMA ha demostrado ser una buena alternativa en los casos que se precisa una resección extensa, si el pterigion es de doble cabeza, cuando existen cirugías conjuntivales previas que impiden la obtención del autoinjerto o si se necesita preservar la conjuntiva bulbar superior para futuros tratamientos. Clearfield y col., en su metanálisis sistemático Cochrane, refieren un porcentaje de recidiva del 3,3-16,7% del autoinjerto conjuntival frente al 6,4-42,3% con MA.⁶² El estudio demostraba que los pacientes tratados con AIC tenían un 47% menos de riesgo de recidiva a los 6 meses respecto a los de MA. Estos resultados se obtienen también en el trabajo de Li y col.⁶³

Así, en la actualidad en el planteamiento quirúrgico de la enfermedad hay que considerar diferentes aspectos. En primer lugar, la extensión, el tamaño y el número, simple o doble, de la lesión, después si se trata de un pterigion primario o recurrente, y, por último, si tenemos conjuntiva suficiente para poder realizar la técnica de escisión con autoinjerto conjuntival.

1.2.3 Tratamientos coadyuvantes

Usados con el objetivo de disminuir la recurrencia con los diferentes tratamientos quirúrgicos, y, habitualmente, su uso se limita a los casos de recidiva. Los más comunes son la mitomicina C (MMC), la radiación β y el 5-fluoruroacilo (5-Fu).

La **MMC**, agente antimetabólico que induce la apoptosis de queratocitos y miofibroblastos, puede usarse en tres momentos: preoperatorio, intraoperatorio y postoperatorio. El uso más habitual es el intraoperatorio, muy eficaz, con recurrencias reportadas entre el 3% y el 43%, pero con complicaciones importantes como la pérdida de células endoteliales, perforación corneal y calcificación escleral.⁶⁴ Normalmente estas complicaciones se relacionan con concentraciones más elevadas así como con tiempos de exposición más prolongados.

La **radiación β** , emisión ionizante con penetración media que se absorbe en las capas más externas del tejido ocular, inhibe la proliferación de los fibroblastos. El estroncio es el elemento radioactivo más usado en la superficie ocular porque emite abundante radiación β y tiene una larga vida media. Complicaciones como infecciones y perforaciones esclerales, incluso años después en la zona de aplicación, llevaron a su desuso progresivo a partir de los años 90.⁶⁵

El **5-Fu**, análogo de la pirimidina que inhibe la síntesis de ADN en la fase S del ciclo celular, induce la apoptosis de las células con proliferación rápida, como los fibroblastos. Ha demostrado ser una alternativa efectiva reduciendo la posibilidad de recidiva.⁶⁶

El **etanol** desnaturaliza los péptidos y proteínas tisulares. En un trabajo reciente se ha usado el tratamiento del pterigion con bajas tasas de recurrencia y sin complicaciones intraoperatorias, pudiendo ser una alternativa prometedora en el tratamiento es esta patología.⁶⁷

La sobreexpresión del **factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)** en el pterigion ha llevado a usar, principalmente, la inmunoglobulina monoclonal humanizada recombinante, Bevacizumab, en el postoperatorio, sin diferencias estadísticamente significativas entre el grupo tratado y no tratado.⁶⁸ Las inyecciones repetidas en el primer año después de la cirugía pueden ayudar a prevenir la alta tasa de recurrencia;⁶⁹ sin embargo, se deben abordar los efectos secundarios de dosis múltiples o aumentadas.

La **doxiciclina**, que inhibe las MMP y la proliferación celular, ha demostrado impedir el crecimiento del pterigion, a nivel experimental,⁷⁰ y clínicamente ha sido efectiva, usándola por vía oral, en el control del tamaño de la lesión primaria.⁷¹

Otros tratamientos coadyuvantes potenciales son moléculas que han demostrado tener actividad in vitro antiproliferativa sobre los fibroblastos del pterigion. Aquí pertenecen el análogo de poliamina (S)-N1-(2-methyl-1-butyl)-N11-ethyl-4,8- dazaundeano (IPENSpm), la tetramdrina, el inhibidor de TrkA y la curcumina.

1.3

Terapias con concentrados plaquetarios

La cirugía moderna, menos invasiva y con mayor índice de curación, incluye el concepto de medicina regenerativa definido por Manson y Dunnill como la sustitución o la renovación de células, tejidos u órganos con el objetivo de recuperar su funcionalidad.⁷² Este pensamiento forma parte de un campo de la tecnología que engloba diferentes aspectos de la medicina, la biología celular y molecular, los biomateriales y la ingeniería tisular.

Con esta idea se ha definido, en la literatura, la aplicación clínica de diferentes técnicas con el uso de stem cells, factores de crecimiento plaquetarios (FCP), proteínas biológicas, terapia génica, etc.

1.3.1 Evolución Histórica

A pesar del amplio conocimiento fisiológico del proceso de la coagulación el hallazgo de agentes hemostáticos siempre ha supuesto un reto. Existen una gran variedad de estos agentes, sintéticos o biológicos, y entre estos últimos los adhesivos de fibrina son los iniciales y mejor conocidos. Matras et al.⁷³ fueron los primeros, en 1972, en presentar el concepto de **pegamento biológico heterólogo**, a partir de la polimerización de la fibrina, durante la hemostasia en la reparación nerviosa. Gracias a sus valiosas propiedades como la firme adhesión de los tejidos de forma fisiológica, la rápida absorción y la capacidad de provocar hemostasia en pacientes de alto riesgo por coagulopatías, el uso se extendió. Pero en

Estados Unidos en 1978 se prohibió el uso de los pegamentos de fibrina comercializados debido a diferentes desventajas como la toxicidad, podían producirse reacciones de hipersensibilidad, la existencia de transmisión de enfermedades infecciosas y el riesgo de tromboembolismo. Todo ello llevó a un aumento del interés por el desarrollo de **agentes hemostáticos biológicos autólogos**, surgiendo diferentes protocolos caros y complejos, tanto con la técnica original no industrializada como en el procedimiento automatizado, que condicionaron su uso a pesar de la eficiencia en el control de hemorragias pequeñas y difusas, así como de exudados linfáticos y colecciones serosas. Con el manejo progresivo diferentes autores fueron describiendo evidencias que apuntaban a ampliar el concepto de la fibrina como simple adhesivo con características mecánicas de adhesión, hacia la existencia de propiedades biológicas cicatriciales. Esto fue ampliamente demostrado en el campo de la cirugía oral y maxilofacial,^{74,75} llevando a Whitman et al.⁷⁶ a definir el uso del **“gel plaquetario” (concentrado de plaquetas)** para mejorar la cicatrización sustituyendo a los pegamentos de fibrina debido al mayor concentración de plaquetas y fibrinógeno, a pesar que en otras disciplinas, cirugía ortopédica o neurocirugía, los resultados fueron más controvertidos.

Toda esta evolución ha ampliado conceptos terapéuticos que han conducido al resurgimiento de nuevas tecnologías en los concentrados plaquetarios y sus aplicaciones en la regeneración tisular.

1.3.2 Propiedades

Las plaquetas, o trombocitos, son las células sanguíneas, cuyo citoplasma no contiene núcleo y con múltiples gránulos en su interior, encargadas de promover la coagulación ante un daño vascular. Además de desarrollar un papel fundamental en la hemostasia, las plaquetas son reservorio de factores de crecimiento, moléculas de adhesión tisular, y citoquinas almacenadas en sus α -gránulos.⁷ Entre esos factores mitogénicos y de crecimiento tenemos el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), factores de crecimiento insulinalike (IGF), factor de crecimiento de hepatocito (HGF) y el factor de crecimiento transformador β (TGF- β). También encontramos importantes moléculas de adhesión celular como

la fibrina, fibronectina, y vitronectina que mejoran la actividad de los factores de crecimiento.⁷⁸

A parte de la función hemostática, las plaquetas desempeñan una función en la regeneración tisular y en la remodelación vascular, así como intervienen en la respuesta inflamatoria e inmune. La reparación de los tejidos está mediada por una amplia gama de procesos intracelulares y extracelulares regulados por proteínas señalizadoras. Aunque este procedimiento no es del todo conocido sí sabemos que tras la activación plaquetaria sus α -gránulos se fusionan con la membrana celular liberándose diferentes proteínas biológicamente activas y otras sustancias que intervienen en la expresión de una secuencia génica que dirige el reclutamiento, el crecimiento y la morfogénesis celular fomentando, de esta manera, la reparación hística.⁷⁹

La fibrina es la forma activa del fibrinógeno, molécula soluble fibrilar, que se encuentra tanto a nivel plasmático como almacenada en los α -gránulos plaquetarios y juega un papel primordial en la agregación plaquetaria durante la hemostasia. El fibrinógeno liberado tras la estimulación plaquetaria se transforma en una especie de pegamento biológico capaz de consolidar el racimo plaquetario inicial y de formar una pared protectora durante la coagulación. Debido a la acción de la trombina el fibrinógeno se transforma en fibrina que constituye la primera matriz cicatricial en el lugar de la lesión.⁸⁰

Tabla 2. Componentes de los α -gránulos plaquetarios y sus funciones.⁷⁷

α -gránulos	Función
Proteínas adhesivas	Hemostasia
Factores de coagulación	Producción de trombina y su regulación
Factores fibrinolíticos	Producción de plasmina
Proteasas y antiproteasas	Angiogénesis, regulación del entorno celular y de la coagulación
Factores de crecimiento	Quimiotaxis, proliferación y diferenciación tisular
Citoquinas y quimioquinas	Regulación de la angiogénesis
Proteínas antimicrobianas	Propiedades bactericidas y fungicidas
Glicoproteínas de membrana	Hemostasia

Conocedores de estas propiedades el principal objetivo de los diferentes protocolos era separar los componentes plasmáticos para obtener el plasma con mayor concentrado de plaquetas, pero en la última década se ha descrito la introducción de otros componentes, como los leucocitos que actuarían favoreciendo el proceso de cicatrización promoviendo la quimiotaxis y la angiogénesis gracias a la liberación de VEGF y TGF, potenciando la acción antimicrobiana y mediando en el proceso inflamatorio.⁸¹ De todas maneras son necesarios más estudios que validen el papel de los leucocitos y citoquinas en el proceso inflamatorio.

Recientemente, Di Liddo et al.⁸² han demostrado en un estudio in vitro que los concentrados de última generación que no usan inductores en la polimerización de la fibrina, a parte de las propiedades secundarias a la liberación de moléculas bioactivas retienen en la membrana stem cell hematopoyéticas y células progenitoras endoteliales que potencian, todavía más, la angiogénesis y la vasculogénesis tras su diferenciación gracias a las características de la membrana generada de forma más lenta y natural.

Tienen diferentes formas de presentación: algunos de ellos como PRGF, L-PRF y A-PRF pueden presentarse como una malla de fibrina como producto final de la degradación del fibrinógeno, estimula la migración de los neutrófilos, incrementa la quimiotaxis por sobreexpresión de los receptores de membrana de CD11c/CD18.⁸³

1.3.3 Técnica de obtención

Se han descrito diferentes protocolos y cada uno lleva a un producto diferente, pero todos giran alrededor de la misma idea:

- La muestra sanguínea se obtiene por venopunción justo antes de la intervención variando la cantidad y las características de los tubos. En los primeros protocolos se usaban técnicas complejas de separador celular en el laboratorio hematológico de manera que debía tomarse la muestra varios días previos a la cirugía. Actualmente la técnica es más sencilla, automatizada y disponible comercialmente con kits preparados para usar en la misma área quirúrgica.

- Se centrifuga, con diferente fuerza, velocidad y tiempo, la sangre periférica separándose en varias capas. Con los protocolos iniciales se obtienen tres capas: en la zona superior, representando el 40% del total, el plasma acelular compuesto principalmente de moléculas plasmáticas circulantes, sobretodo fibrinógeno, y en menos porcentaje de plaquetas que aumenta progresivamente según profundizamos en esta capa, es decir, hay mucho más número cerca del extracto inmediatamente inferior. En el fondo se encuentran las células rojas, el 55% del volumen total y en el medio, el 5%, la capa leucocitaria con mayor concentración plaquetaria (*fig. 13A*). En posteriores protocolos que no se usan anticoagulantes aparece un coágulo de fibrina en la zona intermedia, entre las células rojas inferiores y el plasma acelular superior (*fig. 13B*).



Figura 13. Resultado de la centrifugación. A: usando anticoagulantes la sangre se divide en tres zonas diferentes. B: sin usar anticoagulantes se obtiene un coágulo en el centro del tubo.

- Se aspira, variando la técnica de aspiración, el calibre de la aguja y la cantidad de plasma rico en plaquetas, el estrato con mayor contenido plaquetario con o sin células leucocitarias.
- Se completa la coagulación, usando o no activadores, obteniendo la malla de fibrina con diferentes propiedades biológicas.

1.3.4 Clasificación

De forma básica y según fueron surgiendo los aglutinados plaquetarios se dividieron en primera y segunda generación según el proceso de manipulación y la presencia o ausencia de leucocitos. Los de segunda generación surgieron para superar las limitaciones de sus predecesores, evolucionando hacia un proceso más fisiológico donde la manipulación sin aditivos es un procedimiento más natural, sencillo, barato y sin riesgo de rechazo. En los concentrados de primera generación se usan anticoagulantes al obtener la muestra sanguínea y/o inductores para activar las últimas etapas de la coagulación con la posterior polimerización provocada y precipitada de la fibrina.

Respecto a los protocolos vemos que los concentrados de primera generación pueden ser con o sin leucocitos mientras que los de segunda generación siempre incluyen células blancas.

En 2009 se propuso una nueva categorización de estos productos siguiendo diferentes parámetros: los tipos de kits de preparación y de centrifugadoras utilizadas, el contenido del concentrado y las características de la malla de fibrina que sirve de soporte. Así se definieron 4 grupos: plasma rico en plaquetas puro o pobre en leucocitos (P-PRP), plasma rico en plaquetas y leucocitos (L-PRP), fibrina rica en plaquetas (PRF) y Fibrina Rica Plaquetas y Leucocitos (L-PRF).⁸⁴

Con el objetivo de superar las desventajas de las categorizaciones previas que no consideran el volumen final de la preparación, omiten la presencia de células rojas en las preparaciones y no evalúan la eficiencia del producto, en 2016 Magalon et al. introducen una nueva clasificación del plasma rico en plaquetas, la DEPA, basándose en parámetros biológicos propios del campo de la terapia celular.⁸⁵ El reto principal es conseguir el recuento celular completo tanto de la muestra sanguínea extraída como de la elaboración final obtenida y así valorar los diferentes componentes de cada producto: la dosis de plaquetas administradas (D), la eficiencia de la producción (E), la pureza del PRP obtenido (P) y el proceso de activación (A). Para los autores el producto que alcanza una puntuación DEPA AAA administra una dosis muy alta de plaquetas (>5 mil millones) con poca contaminación de los glóbulos rojos y se prepara de forma óptima con

mínima pérdida de plaquetas de la muestra sanguínea, aunque sigue siendo una limitación el desconocimiento de la pureza plaquetaria y la repercusión en la práctica clínica de la dosis implantada. Esta clasificación, tras la evaluación y revisión en diferentes estudios y ensayos clínicos, podría ser una herramienta útil tanto para determinar el impacto clínico como para evaluar la calidad ante la gran variabilidad de composición de los diferentes concentrados existentes.

1.3.5 Tipos de concentrados de plaquetas

Se ha insistido en la gran diversidad de protocolos y productos obtenidos dentro de esta categoría, pero si definimos los principales grupos encontramos:

Plasma Rico en Plaquetas Puro (P-PRP)

Todos los elementos de la familia PRP se basan en el procedimiento inicial descrito por Jo et al⁸⁶ y se consideran concentrados de primera generación porque se usa glutamato de calcio o trombina bovina para activar a las plaquetas y una solución anticoagulante de citrato-fosfato-dextrosa-adenina (CPDA).

El Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRGF) es la modificación del P-PRP desarrollada en 1999 por Anitua y comercializada por BTI (Instituto de BioTecnología, Vitoria, España) que sustituye el activador de la coagulación de trombina de origen animal por cloruro de calcio evitando los riesgos de rechazo.⁸⁷ Existen ciertas discrepancias en el protocolo existiendo autores que incluyen la capa leucocitaria aunque como concepto básico hay que desechar, incluso, el plasma adyacente al estrato de células blancas para evitar su inclusión en el producto final.

Estos protocolos nos proporcionan tres formas de presentación, suspensión, coágulo y membrana, con diferentes aplicaciones clínicas.

La membrana aquí obtenida es una red condensada tetramolecular rígida, resistente pero bastante inmadura formada por fibras de diámetro pequeño. Así, esta matriz aglutina una gran cantidad de fibrina y plaquetas durante la intervención favoreciendo el sellado tisular pero, al igual que los

adhesivos, se disuelve rápidamente perdiendo el potencial quimiotáctico y angiogénico de una membrana.⁸³

Fibrina Rica Plaquetas y Leucocitos (L-PRF)

Los primeros en describir esta técnica de segunda generación fueron Choukroun et al.⁸⁸ en la cirugía implantológica oral eliminando los aditivos del procedimiento para evitar las restricciones de la legislación francesa ante la reimplantación de productos derivados sanguíneos. Se trata de un protocolo sencillo, sin el uso de anticoagulante de manera que en cuanto la sangre entra en contacto con el tubo de cristal se inicia la cascada de coagulación. Tras el centrifugado el fibrinógeno, inicialmente situado en la parte superior del tubo, se transforma en fibrina debido a la acción de la trombina circulante, y encontramos un coágulo de fibrina en el medio del tubo con todas las plaquetas y al menos el 50% de los leucocitos presentes en la muestra inicial, retenidos en su interior (*fig. 13B*). No se consigue una total separación celular de manera que el producto final incorpora leucocitos que hasta el momento no eran deseados.

El éxito de la técnica está totalmente relacionado con la rapidez entre la obtención de la muestra sanguínea y la introducción en la centrifugadora, si no se hace con suficiente rapidez el inicio inmediato de la coagulación puede hacer fracasar el procedimiento.

Este producto sólo se presenta como membrana, no existe el formato en suspensión. La polimerización fisiológica y lenta de la fibrina crea una malla tridimensional con estructuras trimoleculares conectadas que comporta una red fina y flexible que atrapa stemcells circulantes⁸² y favorece la migración celular y la liberación de moléculas bioactivas durante 10 días.⁸⁹

Fibrina Rica Plaquetas y Leucocitos Avanzada (A-PRF)

Choukroun modifica el protocolo de centrifugación para mejorar el L-PRF aumentando el número de plaquetas y de leucocitos con más neutrófilos que participan de la diferenciación de los macrófagos, así se crea un estado anti-inflamatorio que modula la regeneración tisular.⁹⁰

1.3.6 Aplicación Clínica de los concentrados de plaquetas

Los concentrados plaquetarios han representado una gran innovación en el campo de la regeneración tisular y desde 1991 múltiples técnicas se han desarrollado y aplicado en diferentes campos de la medicina, describiéndose inicialmente en el aumento de la cresta alveolar en la cirugía oral y maxilofacial.^{74,75} Estos hemoderivados se han usado de forma eficiente en solitario pero también en combinación con otros biomateriales como membranas de colágeno y materiales de injertos óseos.^{91,92}

Dentro del campo de la cirugía oral otras aplicaciones clínicas referidas en la literatura son la regeneración ósea relacionada con los implantes dentales, el aumento del suelo del seno, la reparación del paladar hundido y de fístulas orales, la reconstrucción en cirugías mandibulares, la regeneración de tejidos blandos orales y el tratamiento de las recesiones, de los defectos intraóseos y de las heridas tras extracciones.⁷⁹

En la bibliografía se encuentran múltiples aplicaciones extraorales de los concentrados plaquetarios en diferentes patologías y, sobretodo, procedimientos quirúrgicos. En traumatología se describe su uso en reparaciones tendinosas, cirugía articular y regeneración músculo-esquelética.⁹³ En dermatología se usan en el tratamiento de úlceras cutáneas y en cirugía plástica en cirugías estéticas y en la dermo-lipectomía abdominal.^{94,95,96} Estos productos también se han utilizado en el campo de la ingeniería genética y la terapia celular donde combinados con otros grupos celulares pueden suponer una ventaja en determinadas situaciones clínicas como la reconstrucción masiva de tejidos.⁹⁷

Aunque la mayoría de las referencias conciernen al uso del concentrado plaquetario en forma de membrana o malla, existen otras formas de presentación y algunos de los protocolos descritos contemplan la posibilidad de realizar una solución autóloga rica en plaquetas y factores de crecimiento suspendidos en una pequeña cantidad de plasma. La suspensión de PRGF se ha usado como inyección farmacológica en la medicina deportiva,⁹⁸ como recubrimiento en la superficie a implantar en cirugía oral⁹⁹ o como tratamiento coadyuvante en la epitelización tras cirugías de la superficie ocular.¹⁰⁰

En la disciplina oftalmológica estos productos también han encontrado su aplicación clínica, tanto en la forma de colirio como de membrana.

A principios de los años 90 se demostró la eficacia del factor de crecimiento epidérmico en colirio en promover la proliferación y migración de las células epiteliales corneales, describiendo la presencia de receptores para diferentes factores de crecimiento en el tejido corneal.^{101,102} Además, también se evidenció que el factor de crecimiento fibroblástico y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas intervenían en la proliferación y migración de los fibroblastos estromales.¹⁰³

Siguiendo esta línea existen referencias del uso de hemoderivados de concentrados de plaquetas con el objetivo de mejorar la sintomatología en ojo seco,^{104,105} después de los tratamientos corneales con láser Keratomileusis (LASIK) al mejorar la reinervación.¹⁰⁶

La presentación en forma de membrana se ha postulado como tratamiento coadyuvante a procedimientos quirúrgicos y como alternativa a la membrana amniótica en diferentes procesos de la superficie ocular como la postqueratoplastia,¹⁰⁷ queratopatía en banda,¹⁰⁷ defecto epitelial persistente,¹⁰⁸ erosiones corneales recidivantes,¹⁰⁹ úlcera neurotrófica, perforación corneal¹¹⁰ y pterigion.¹⁰⁷

Recientemente, Cakmak y col. describen el uso del injerto de la membrana 3-D de PRF, hemoderivado de segunda generación, tras la escisión del pterigion primario, obteniendo buenos resultados en 35 casos.¹¹¹

CAPÍTULO
02

Justificación

Justificación

El pterigion es una enfermedad de distribución mundial, pero con mayor prevalencia, superando el 10%, en los países comprendidos entre los 40º de latitud norte y sur. En muchos de estos países supone un problema sanitario y se encuentra dentro de los planes estratégicos de salud ocular y prevención de la ceguera. Las corrientes migratorias han provocado una ampliación e incremento del impacto de esta enfermedad en diferentes entornos, como por ejemplo el del propio estudio.

La prevalencia de la enfermedad crea la necesidad de establecer estrategias de prevención, mejorar el conocimiento fisiopatológico y determinar la técnica quirúrgica con mejores resultados clínicos y estéticos para el paciente, y con menos índice de recidiva.

La recidiva es la complicación más importante tras la cirugía y, gracias a la evolución de las diferentes técnicas, su incidencia se ha reducido por debajo del 10% cuando se usa el autoinjerto de conjuntiva que, además, confiere los mejores resultados estéticos. En ocasiones, este tipo de injerto presenta limitaciones, como cuando el pterigión es extenso o de doble cabeza siendo imposible obtener un injerto del tamaño necesario. Otras veces, interesa preservar la conjuntiva bulbar superior para procedimientos quirúrgicos posteriores, tal y como puede suceder en sujetos con glaucoma. En estas situaciones la membrana amniótica supone una alternativa razonable, aunque no podemos obviar su carácter heterólogo, con el posible riesgo de transmisión de enfermedades, y la dependencia de una entidad externa para su obtención, preservación y distribución.

En el siglo XXI han ido aparecido muchos avances en un nuevo campo interdisciplinar que aplica principios de ingeniería, la medicina regenerativa o también denominada terapia celular. Progresivamente, han ido surgiendo numerosas aplicaciones en diferentes patologías, suponiendo un impacto significativo en la salud humana. Dentro de los diferentes tratamientos existentes en este ámbito la aplicación de factores de crecimiento es el más extendido, usándose en muchas disciplinas.

En este contexto y con el objetivo de salvar tanto las limitaciones del autoinjerto conjuntival como los inconvenientes de la membrana amniótica, se decide evaluar una nueva técnica de injerto tras la escisión del pterigion. Un injerto autólogo, creado a partir de la sangre del propio paciente tras su centrifugación, que no tiene limitaciones de tamaño y que puede preservar la propia conjuntiva sana.

Si se demuestra que no existen diferencias entre el tratamiento control y el tratamiento experimental, respecto a la tasa de recidiva, se concluiría disponer de una alternativa terapéutica, comparable con las existentes hasta la actualidad, para tratar la patología del pterigion.

Como posibles riesgos del ensayo hay que considerar la posibilidad que los índices de recidiva sean mayores en el tratamiento experimental y que los sujetos precisen, según la gravedad, una reintervención.

CAPÍTULO
03

Hipótesis y Objetivos

3.1 Hipótesis

3.1.1 H0 (Hipótesis nula)

3.1.2 H1 (Hipótesis alternativa)

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo principal

3.2.2 Objetivos secundarios

Hipótesis y objetivos

Considerando que en la patología del pterigion primario no siempre es posible o recomendable obtener un injerto de conjuntiva para utilizar como injerto tras la escisión y que la opción terapéutica, en estos casos, es la membrana amniótica, heteróloga con unos índices de recidiva mayores que el autoinjerto, en este trabajo se establecieron diferentes objetivos y así la hipótesis del estudio del uso de la membrana autóloga de plasma rico en factores de crecimiento como alternativa en este procedimiento quirúrgico.

3.1

Hipótesis

3.1.1 H0 (Hipótesis nula)

La técnica de injerto de membrana autóloga de plasma rico en factores de crecimiento, con el uso coadyuvante de colirio también enriquecido en factores de crecimiento, no es más eficaz que la técnica estándar de injerto de membrana amniótica, en términos de recidiva, durante periodo de seguimiento mínimo de seis meses, después de la cirugía de pterigion primario.

3.1.2 H1 (Hipótesis alternativa)

La técnica de injerto de membrana autóloga de plasma rico en factores de crecimiento, con el uso coadyuvante de colirio también enriquecido en factores de crecimiento, es significativamente más eficaz que la técnica estándar de injerto de membrana amniótica, en términos de recidiva durante periodo de seguimiento mínimo de seis meses, después de la cirugía de pterigion primario.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo principal

- Demostrar que el injerto de membrana de plasma rico en factores de crecimiento no presenta mayores índices de recidiva que la membrana amniótica, en la cirugía del pterigion primario.

3.2.2 Objetivos secundarios

- Valorar el proceso de epitelización conjuntival tras ambas técnicas de tratamiento.
- Estimar la seguridad de los dos métodos, en términos de aparición de complicaciones en los primeros tres meses después de la cirugía.
- Evaluar el resultado estético de ambos procedimientos.
- Definir la frecuencia aparición de granuloma en cada técnica y si existe mayor asociación a la tasa de recurrencia.

CAPÍTULO
04

Material es y Métodos

4.1 Diseño del estudio

4.2 Selección de sujetos

- 4.2.1 Criterios diagnósticos
- 4.2.2 Participantes
- 4.2.3 Entorno de los participantes
- 4.2.4 Técnica de selección
- 4.2.5 Criterios de inclusión y exclusión
- 4.2.6 Criterios de salida

4.3 Intervención

- 4.3.1 Método experimental
- 4.3.2 Método control
- 4.3.3 Postoperatorio y seguimiento

4.4 Recolección y mediciones

- 4.4.1 Recogida de datos
- 4.4.2 Variables

4.5 Análisis de datos

- 4.5.1 Tamaño de la muestra
- 4.5.2 Randomización
- 4.5.3 Método estadístico

4.6 Aspectos éticos

- 4.6.1 Consideraciones generales
- 4.6.2 Consentimiento informado
- 4.6.3 Confidencialidad de datos
- 4.6.4 Seguro

4.1

Diseño del estudio

Ensayo clínico aleatorizado, controlado, paralelo, simple ciego, unicéntrico, para evaluar la eficacia de la técnica de membrana y colirio de plasma rico en factores de crecimiento, en la cirugía de pterigion primario, en comparación con la técnica de membrana amniótica, en términos de recidiva después de la intervención, en el área de influencia del Hospital de Santa Creu i Sant Pau de Barcelona.

Para dicha evaluación se crearon dos brazos paralelos de intervención, el brazo experimental de los casos tratados con la m-PRGF, y el brazo control con tratamiento activo, la MA.

Los evaluadores y los analizadores de datos sí estuvieron enmascarados.

4.2 Selección de sujetos

4.2.1 Criterios diagnósticos

Establecer los criterios de diagnóstico de la patología a valorar, el pterigion, fue básico ante la selección de los participantes en el ensayo clínico (EC). Clínicamente los candidatos debían presentar una proliferación fibrovascular en la conjuntiva interpalpebral que invadiese la córnea, sin criterios de malignidad y con indicación de intervención quirúrgica. Esta indicación terapéutica se estableció en base al crecimiento de la tumoración, la afectación visual, ya fuese por el propio pterigion o por el astigmatismo generado de forma secundaria, y la persistencia de molestias clínicas resistentes al tratamiento médico, lágrimas artificiales, usado frecuentemente.

4.2.2 Participantes

La población del estudio fueron los pacientes diagnosticados de pterigion con indicación de tratamiento quirúrgico. La población de la muestra correspondió a los pacientes del área sanitaria del hospital de la Santa Creu i Sant Pau, en el ensanche derecho de Barcelona, España, diagnosticados de pterigion primario que requirieron reparación quirúrgica. La muestra del estudio estuvo formada por los pacientes operados de pterigion en el hospital de la Santa Creu i Sant Pau durante el año 2019 y principios del 2020.

4.2.3 Entorno de los participantes

Siguiendo el procedimiento habitual, los pacientes afectos de pterigion con indicación quirúrgica, diagnosticados en las consultas externas del servicio de oftalmología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP) o en el dispensario del CAP Guinardó, se remitieron al departamento de superficie ocular del propio hospital, correspondiendo a la **visita preselección**.

4.2.4 Técnica de selección

Se utilizó la técnica de muestreo no probabilística, no aleatoria, consecutiva. El investigador principal incluyó a los sujetos de forma consecutiva, según el orden de llegada, a partir de la inclusión del primero elegible, conforme a los criterios de selección. Siguiendo este orden de incorporación, se otorgó un código numérico natural cardinal a cada participante que, posteriormente, serviría para la asignación del brazo de tratamiento.

El centro llevó un registro, tanto de los pacientes incluidos como de los no incluidos, con el fin de asegurar no introducir ningún sesgo en el proceso de selección.

4.2.5 Criterios de inclusión y exclusión

Una vez en la unidad de superficie ocular, alguno de los investigadores llevó a cabo la **visita de reclutamiento e inclusión**. En ese momento, se seleccionaron los candidatos según los criterios de inclusión, condiciones necesarias que debe cumplir la población de estudio, y los de exclusión, factores que impedirían la participación en el estudio. Y cumpliendo con los principios de la Declaración de Helsinki, actualizados en la asamblea general de Seúl en octubre de 2008.

Los criterios de selección establecidos fueron:

Criterios de inclusión

- Paciente con edad entre 20 y 60 años.
- Pterigion primario.
- Pterigion en crecimiento y/o
- Pterigion que invade la córnea con riesgo de afectación a la visión y/o
- Pterigion que provoca molestias oculares resistentes al tratamiento médico prescrito, medidas medioambientales y lágrimas artificiales.

Criterios exclusión

- Antecedentes de cirugía en el mismo ojo.
- Pterigion recurrente.
- Diagnóstico de pseudopterigion.
- Uso de tratamiento inmunosupresor o inmunomodulador.
- Uso de tratamiento oftalmológico tópico crónico exceptuando las lágrimas artificiales.
- Antecedentes de enfermedad palpebral o de la superficie ocular (SO).

Tabla 3. Criterios de inclusión/exclusión del ensayo clínico.

Criterios inclusión	Criterios exclusión
Edad 20-60 años	Pterigionrecidivado
Pterigion primario	Pseudopterigion
Crecimiento del pterigion y/o	Tratamiento sistémico inmunosupresor o inmunomodulador
Riesgo afectación visual y/o	Tratamiento ocular tópico crónico (no lágrimas)
Sintomatología refractaria al tratamiento médico	Antecedentes enfermedad palpebral o SO

4.2.6 Criterios de salida

No se establecieron criterios de salida clínicos, pero evidentemente los sujetos fueron libres de abandonar en cualquier momento y por los motivos que consideraron oportunos. En estos casos se registró el último seguimiento realizado y se intentó conocer el motivo del cese.

4.3

Intervención

4.3.1 Método experimental

Preparación de PRGF (membrana y colirio)

La membrana y el colirio de plasma rico en factores de crecimiento se obtienen usando el sistema **Endoret®PRGF**, comercializado por BTI (98 Instituto Biotecnológico, S.L., Miñano; Álava, España). Dicho sistema está compuesto por el kit de extracción, Kit PRGF® monouso, la microcentrifuga BTI PRGF system® y la estufa de calor uhorno Plasmatherm-H (*fig. 14 A, B y C*).

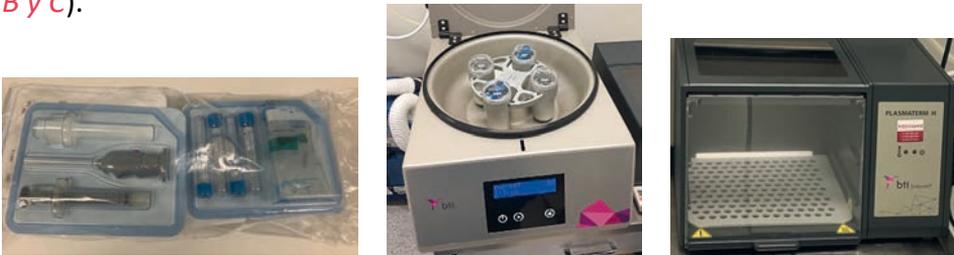


Figura 14. A: KitPRGF®, B: Centrifugadora BTI PRGF system®, y C: Plasmatherm-H.

Se trata de un sistema cerrado con Kits desechables que, tras la obtención de sangre del propio paciente en las condiciones de máxima esterilidad, separa los componentes celulares y activa significativamente las plaquetas.

El procedimiento se llevó a cabo siguiendo las indicaciones estrictas facilitadas por la casa comercial y por el mismo equipo de quirofanistas formadas adecuadamente tanto en la teoría como en la práctica, que asistieron en todas y cada una de las cirugías. En el área de acogida

quirúrgica, preanestesia, treinta minutos antes del posible inicio de la cirugía, se realizó la punción venosa recogiendo la muestra sanguínea en tubos estériles de 5ml con 3.8% de citrato sódico como anticoagulante para evitar la ionización del calcio y que se active la cascada de la coagulación (fig. 15 A y B). Inmediatamente, los seis tubos se centrifugaron a 460 g durante 8 minutos a temperatura ambiente. Con este proceso la sangre se separa en tres capas en función de la densidad: serie roja (eritrocitos) en el fondo del tubo, serie blanca (leucocitos) en el medio y plasma rico en factores de crecimiento en la zona superior que, a su vez, se subdivide en dos mitades, dos fracciones: la fracción 2 (F2) con mayor concentración de factores de crecimiento, es el 50% justo encima de la zona ocupada por la serie blanca, y la fracción 1 (F1) la mitad de plasma encima de la F2 (fig. 16).



Figura 15. A: Venopunción. B: muestra sanguínea en los tubos estériles.

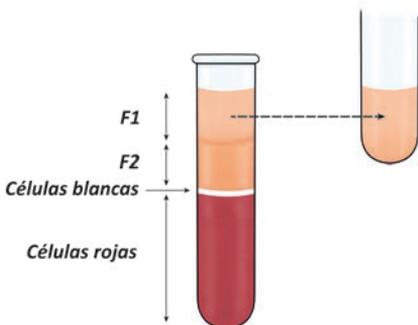


Figura 16
Diferentes fracciones sanguíneas tras la centrifugación.

Utilizando el Kit PRGF[®] se pipetearon unos 5 ml de la F1, se añadió el doble de volumen de cloruro cálcico al 10% para activar las plaquetas,

y se incubó en un recipiente de cristal de 35 mm a 37 °C durante 15-20 minutos en el Plasmatherm (estufa de calor). Tras ese periodo de tiempo se obtuvo la membrana de PRGF, m-PRGF, lista para implantar (*fig. 17 A, B y C*).



Figura 17. A: Pipeteado, B: Incubación en el Plasmatherm a 37 °C y C: m-PRGF.

Para preparar el colirio se utilizaron 4 de los 6 tubos iniciales, toda la porción de plasma separada con la centrifugación, es decir, tanto la F1 como la F2, desechando los 2 ml en contacto con la serie blanca para evitar incluir estas células. Este plasma se traspasó a diferentes tubos con vacío, se activó con cloruro cálcico y se incubó durante 40-60 minutos en los mismos contenedores en la estufa de calor. Al finalizar se rellenaron las diferentes monodosis estériles, normalmente unas 30 de 0.6 ml (*fig. 18*) que se entregaron al paciente que las conservaba en su domicilio, en el congelador (-20 °C), sólo manteniendo a temperatura ambiente la monodosis para el tratamiento diario. En el centro no se almacenó la medicación y el equipo llevó un registro estricto de la dispensación de este medicamento.



Figura 18
Monodosis de colirio de PRGF.

Procedimiento quirúrgico

Todas las intervenciones se llevaron a cabo por el mismo cirujano, la autora de este trabajo, que, tras marcar el crecimiento trapezoidal con un marcador de violeta genciana estéril bajo anestesia tópica (solución de tetracaínahidrocloruro 1 mg/ml+ oxibuprocaínahidrocloruro 4 mg/ml: Laboratorios Alcon, Inc., Fort Worth, TX), inyectaba lidocaina 10 mg/ml en la zona subconjuntival de la lesión. (*fig. 19*). Una vez obtenida la anestesia, se realizó una disección roma del pterigion a nivel del limbo con la posterior avulsión de la cabeza, intentando mantener el plano de clivaje superficial entre la lesión y el tejido corneal para evitar escalones e irregularidades. A continuación, se procedió a la disección cuidadosa del cuerpo del pterigion con la tijera de Wescott, procurando retirar toda la Tenon subyacente. Antes de colocar el injerto se ejecutó la retirada minuciosa de los restos de tejido fibrovascular adheridos al limbo.

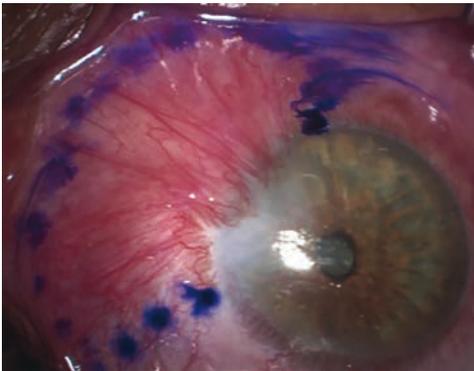


Figura 19
Marcado del pterigion previo a la disección.

La zona de esclera desnuda se cubrió con la m-PRGF que, tras recortarla para adaptarla a la medida, se pegó a la esclera y a la conjuntiva circundante, borde a borde, con el adhesivo de fibrina Tisseel® (2 ml trombina humana 500 UI + 2 ml fibrinógeno humano 91 mg/ml, Laboratorio Baxter, S.L.) (*fig. 20*). Al finalizar la cirugía se aplicó una dosis de pomada oftalmológica de Icol® (cloranfenicol 10 mg/g +dexametasona 0.5 mg/g: Laboratorios Alcon, Inc., Fort Worth, TX) y se tapó el ojo durante 24 horas.

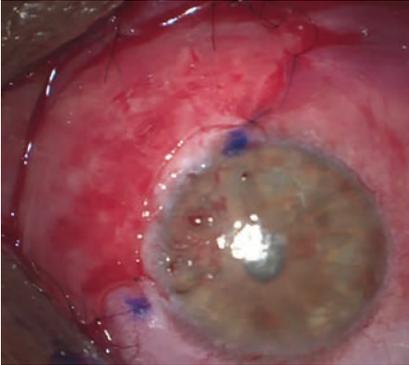


Figura 20

Injerto de m-PRGF tras la escisión del pterigion.

4.3.2 Método control

Preparación de la membrana amniótica (MA)

El proceso de obtención, procesamiento, almacenamiento y distribución de la MA se realiza habitualmente por parte de los diferentes bancos de tejidos.

En este estudio se usó la MA criopreservada del Banc de Sang i Teixits de Barcelona, que llegaba al quirófano congelada dentro de un medio de cultivo con antibióticos. Una vez confirmado el proceso quirúrgico, se siguieron las indicaciones facilitadas por el banco referente al tratamiento de la MA previo a su uso: descongelación a temperatura ambiente y lavado abundante con suero fisiológico (3 lavados con jeringas de 20 cc).

Procedimiento quirúrgico

Quirúrgicamente el procedimiento fue igual al descrito en el método experimental exceptuando el implante utilizado. Se cubrió el defecto conjuntival generado tras la resección del pterigion con la MA, adhiriéndola a la esclera desnuda y borde a borde a la conjuntiva circundante, después de recortar el tamaño necesario (*fig. 21*).

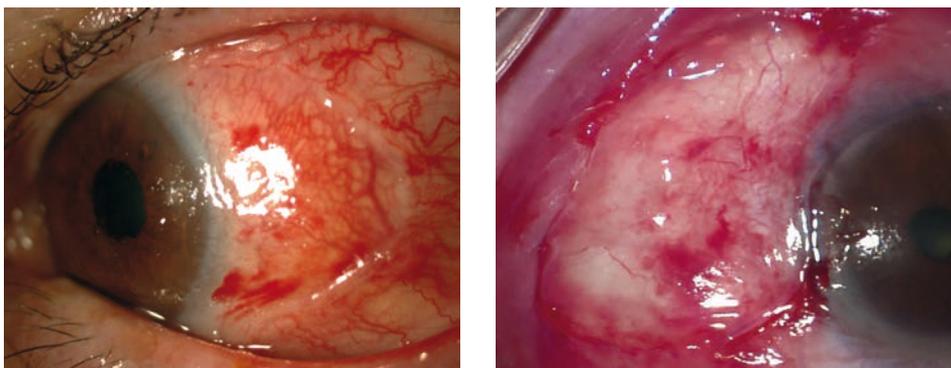


Figura 21. Injerto de MA adherida borde a borde a la conjuntiva circundante.

4.3.3 Postoperatorio y seguimiento

Pauta postoperatoria

En el postoperatorio se prescribió tratamiento con la pomada de Icol® (cloranfenicol 10 mg/g + dexametasona 0.5 mg/g: Laboratorios Alcon, Inc., Fort Worth, TX) 5 veces al día. En el grupo de estudio se añadió el uso del colirio PRGF 3 veces al día. Tras la epitelización completa, la pomada se sustituyó por colirio de dexametasona (1 mg/ml, Laboratorios Alcon, Inc., Fort Worth, TX) con la misma posología hasta el mes de la intervención. Los corticosteroides tópicos se mantuvieron entre 10 y 12 semanas a dosis descendientes, dependiendo del grado de inflamación. Durante todo este periodo se usó el colirio de PRGF 3 veces al día, en el grupo experimental.

Tratamientos concomitantes

Otros fármacos que se prescribieron de forma concomitante en el ensayo clínico fueron las lágrimas artificiales, cuando los pacientes referían molestias de sequedad de la superficie ocular, y los hipotensores tópicos, siempre β -bloqueantes, cuando la tensión ocular subió por encima de 23 mmHg.

Cronograma de seguimiento

Una vez realizada la cirugía el seguimiento postquirúrgico se llevó a cabo al día siguiente, a la semana, a partir de ahí cada dos días hasta el cierre del defecto epitelial, y entonces al 1, 3, 6 y 12 meses.

La visita del día después de la cirugía incluía desocluid el ojo, la exploración oftalmológica y facilitar las instrucciones adecuadas para la correcta pauta terapéutica.

En cada uno de los controles planificados se valoraron las diferentes variables por parte de los evaluadores de resultados.

4.4

Recolección y mediciones

4.4.1 Recogida de datos

La fuente principal de información del estudio fue tanto la entrevista clínica como la exploración realizadas a los pacientes dentro del seguimiento planificado entre los primeros seis meses y el año después de la cirugía. Además, se revisó la historia clínica del paciente pudiendo determinar visitas de urgencias o espontáneas, efectos adversos, etc.

Todos los datos fueron registrados tanto en la historia clínica como en el cuaderno de recogida de datos (CRD), usando el número asignado según la correlación al incluirse en el ensayo clínico. El cuaderno de recogida de datos fue doble, uno manual con una carpeta por sujeto con 3 diferentes fichas correspondiendo primera visita, cirugía y visitas sucesivas (*Anexo 1*), y uno electrónico usando un programa propio del Instituto de Investigación del HSCSP, **Clinapsis**, con una pestaña por visita dentro del registro de cada sujeto (*fig. 22*).

Código: 1 ←

Fecha de alta: 22/11/2019

Centro: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

Estado: Incluido

Contraseña: idCLUMX

CUESTIONARIOS

1-	C1_VI	1
2-	C1_V0	1
3-	C1_VS	7

ACCIONES

Modificar participante

Eliminar participante

Registros

Mostrar: Todas entradas

Introduzca la palabra de búsqueda...

Fecha	Cuestionario	Orden	Usuarios	Estado	
22/11/2019 17:55	C1_VI	2	zcampo@sampau.cat	En Registro	Resp. Q. X
23/05/2020 18:30	C1_V0	3	zcampo@sampau.cat	En Registro	Resp. Q. X
23/05/2020 18:50	C1_VS	4	zcampo@sampau.cat	En Registro	Resp. Q. X
30/06/2020 14:50	C1_VI	5	zcampo@sampau.cat	En Registro	Resp. Q. X
30/06/2020 14:50	C1_VS	6	zcampo@sampau.cat	En Registro	Resp. Q. X
30/06/2020 14:50	C1_VS	7	zcampo@sampau.cat	En Registro	Resp. Q. X
30/06/2020 14:50	C1_VS	8	zcampo@sampau.cat	En Registro	Resp. Q. X
09/11/2020 11:58	C1_VS	9	zcampo@sampau.cat	En Registro	Resp. Q. X
09/11/2020 11:59	C1_VS	10	zcampo@sampau.cat	En Registro	Resp. Q. X
Fecha	Cuestionario	Orden	Usuarios	Estado	

Figura 22. Imagen del Clinapsis que muestra los diferentes registros (elipse), correspondiendo a cada visita, del sujeto 1 (flecha).

4.4.2 Variables

Para valorar los resultados y comparar los dos brazos de tratamiento se establecieron las variables, derivadas directamente de los objetivos, con carácter no invasivo y de fácil medición.

Variables demográficas

- Edad (intervalos de 1 año).
- Sexo
- Raza: americana (latina), caucásica, amarilla, negra.

Variables clínicas

- Lateralidad: ojo derecho u ojo izquierdo.
- Localización: nasal o temporal.
- Presión Intraocular (PIO) en mmHg. Medida con el tonómetro de Goldmann.
- Longitud pterigion limbo-vértice en mm. Definida como los milímetros que mide el pterigion desde su vértice adherido al tejido corneal hasta el limbo, es decir, la longitud de la invasión corneal (*fig. 23*).
- Longitud vertical del pterigion en mm. Definida como los milímetros que tiene el cuerpo del pterigion justo en la zona que acabalga el limbo corneal, es decir, en el momento que empieza a invadir la córnea (*fig 23*).
- Área invasión corneal del pterigion en mm². Calculada como si se tratase de un triángulo donde la longitud limbo-vértice es la altura y la longitud de invasión del limbo la base.

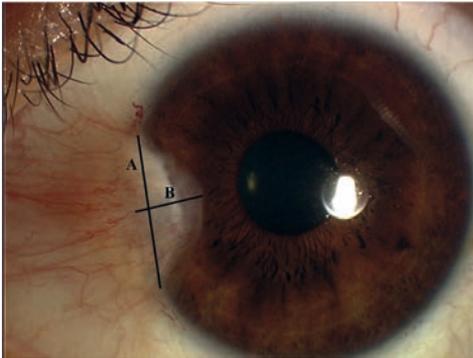


Figura 23

Invasión corneal.

A: Longitud vertical y

B: Longitud limbo-vértice.

- Resección superior-inferior conjuntival en mm. Definida como la longitud del segmento vertical más largo de esclera descubierta tras la resección conjuntival, es decir, desde la parte más superior a la más inferior (*fig. 24*).
- Resección limbo-caruncular en mm. Definida como la longitud del segmento más extenso en el eje horizontal, desde el limbo corneal hasta la zona caruncular, de esclera descubierta tras la resección conjuntival (*fig. 24*).
- Área de resección quirúrgica conjuntival en mm². Calculada como la de un rectángulo o cuadrado, multiplicando la longitud de los lados.

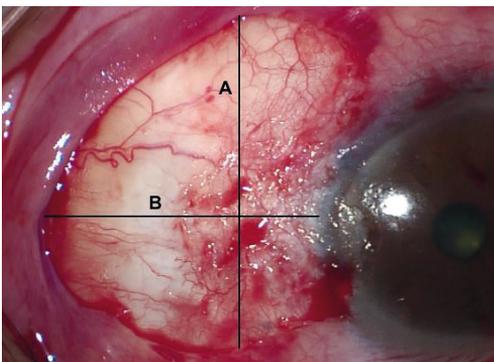


Figura 24

Resección quirúrgica.

A: Resección vertical y

B: Resección limbo-caruncular.

- Tamaño defecto epitelial postoperatorio en mm². Definido como la superficie ocular de la zona intervenida sin epitelio, medida en la lámpara de hendidura tras la instilación de fluoresceína.

- Cumplimiento del tratamiento que se evaluó, en cada visita, usando diferentes métodos indirectos. En primer lugar, mediante la entrevista médica preguntando por la pauta realizada y así valorar la coincidencia con la prescrita. El segundo de los sistemas usado fue la respuesta clínica, considerando el grado de inflamación de la superficie ocular, sobretodo a partir del cierre del defecto epitelial, como indicativo indirecto del cumplimiento, ya que en la mayoría de los pacientes la inflamación sigue un curso similar si se cumple el tratamiento prescrito. El último procedimiento utilizado se basó en la aparición de efectos secundarios, como la hipertensión ocular, por la aplicación de esteroides.

Variables resultado

Variable primaria:

- La tasa de recidiva, definida como la aparición de tejido fibrovascular, en la posición del pterigion extirpado previamente, con el ápice cruzando el limbo y extendiéndose hacia la córnea (*fig. 25*).



Figura 25. Inicio de recidiva sobrepasando el limbo.

Variabes secundarias:

- Tiempo de epitelización completa en ambas técnicas, que se define como los días que tarda en crecer las células epiteliales sobre el injerto de membrana amniótica o de plasma rico en factores de crecimiento, cubriéndolo totalmente. Para esta medición se usó la tinción de fluoresceína y la luz cobalto del biomicroscopio, así,

cuando la epitelización se completa la tinción es negativa (*fig.26*). Mientras existió el defecto epitelial el paciente se controlaba en periodos de cada 2 días.

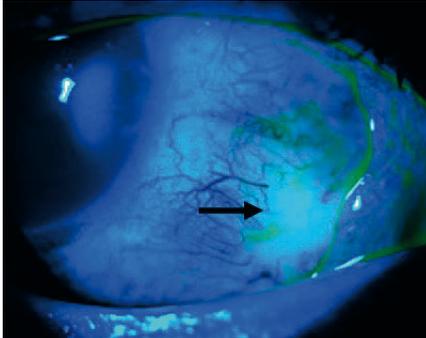


Figura 26
Pequeño efecto epitelial que tinte con fluoresceína (flecha).

- Las complicaciones postoperatorias en ambas técnicas, concretadas en la existencia de una o varias de las siguientes entidades: infección, escleritis, retracción del injerto, pérdida del injerto, simblefaron, hipertensión intraocular y aparición de granuloma. Consideramos la hipertensión ocular cuando la medición con el tonómetro de Goldmann era \geq a 25 mmHg.
- Cicatrización tisular correcta. Definida como la epitelización y cicatrización de la conjuntiva con aspecto similar a la conjuntiva sana, sin granulomas, sin líneas de fibrosis, sin proliferación vascular. Se categorizó siguiendo la siguiente escala (*fig. 27*):
 - 0: ausencia de cicatrización. Mismo aspecto que la conjuntiva normal.
 - 1: fibrosis leve sólo visible en el examen con el biomicroscopio.
 - 2: fibrosis moderada con vascularización sólo visible con el biomicroscopio.
 - 3: fibrosis y neovascularización severa visible macroscópicamente.



Figura 27. Categorías de la cicatrización conjuntival.

4.5

Análisis de datos

4.5.1 Tamaño de la muestra

Para calcular el tamaño muestral se optó por utilizar un test estadístico bilateral, un nivel de confianza, o seguridad, del 95%, una potencia estadística del 80%, un 10% de proporción esperada de pérdidas y una diferencia del 11% entre las proporciones de recidivas de ambos grupos. Con estos parámetros se calculó el tamaño de la muestra del estudio en 116 ojos para ambos grupos.

4.5.2 Randomización

Aleatorización

En este estudio se realizó un proceso de aleatorización simple equilibrado, de tal manera que el sujeto se asignaba al grupo con probabilidad variable, es decir, la probabilidad era menor cuanto mayor era el número de sujetos ya asignados a dicho grupo hasta el momento. Esto requería la aplicación de un algoritmo que cada vez que se iba a asignar un nuevo sujeto a uno de los grupos, la probabilidad de que ese sujeto quedara asignado a dicho grupo era inversamente proporcional al número de individuos incluidos en él hasta ese momento. Para este proceso se utilizó el programa estadístico **Epidat** versión 4.0.

Implementación

El profesional encargado del diseño del estudio generó la consecuencia de aleatorización. El documento que contenía esta información se entregó a la administrativa responsable de la gestión quirúrgica, que realizó la asignación de tratamiento de los sujetos reclutados al programar la intervención. Así, se consiguió que el investigador principal y sus colaboradores desconociesen el grupo asignado a cada sujeto, obteniendo un método adecuado para el ocultamiento de la asignación.

Enmascaramiento

Este estudio fue un estudio simple ciego ya que los pacientes no podían saber el grupo de tratamiento al que iban a ser asignados, pero debido a las características de la técnica quirúrgica de cada procedimiento fue imposible el enmascaramiento de la cirujana principal.

Sí se pudo mantener oculta la asignación de grupos para los evaluadores clínicos normalmente independientes y ajenos a la fase experimental, aunque durante la primera visita postoperatoria el aspecto clínico permitía distinguir los dos brazos terapéuticos, pero a la semana la apariencia era indiferenciable.

La persona encargada de realizar el análisis estadístico también se mantuvo cegada. Estrategias como evitar escribir en la historia clínica el procedimiento llevado a cabo permitieron mantener estos enmascaramientos.

4.5.3 Método estadístico

El primer paso del análisis estadístico fue realizar un análisis descriptivo de la muestra. A fin de describir las variables se facilitaron porcentajes y valores absolutos para las variables categóricas. En caso de variables ordinales o cuantitativas con una clara asimetría, se calculó la mediana y los cuartiles. En las variables cuantitativas, sin problemas de normalidad, se obtuvieron las medias con su desviación típica.

Con todos estos datos se procedió a verificar la comparabilidad de los grupos de m-PRGF y MA. Se utilizó la prueba de chi-cuadrado o la prueba

exacta de Fisher para comparar proporciones y se usó la prueba t de Student para comparar medias entre los grupos con datos de distribución normal. La prueba de Mann-Whitney se empleó para confrontar las variables cuantitativas entre grupos en caso de una distribución no normal, determinada mediante la inspección visual de la distribución de frecuencias y la magnitud de la diferencia entre media y mediana. Finalmente, se utilizó el análisis de supervivencia, graficando la evolución con la curva de Kaplan-Meier y la comparación con el test de log-rank, para la aparición de la recurrencia.

Se han obtenido los porcentajes totales y los válidos usándolos para el análisis los resultados válidos, eliminando los datos perdidos y no registrados en la base de datos. Del mismo modo se obtuvieron los valores máximos y mínimos detectando posibles errores en el registro de los datos. Se efectuó el análisis intentado incluir en el examen todos los sujetos que sealeatorizaron. En todos los casos se consideró el valor usual para el error de tipo I del 5% (alfa = 0.05).

Los análisis se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico **IBM-SPSS** (V26.0)(IBM Corp. Released 2019. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0. Armonk, NY: IBM Corp.).

4.6

Aspectos éticos

4.6.1 Consideraciones generales

El estudio se llevó a cabo siguiendo rigurosamente las recomendaciones éticas internacionales para investigación y ensayos clínicos en humanos, con las normas recogidas en la Declaración de Helsinki y siguiendo las recomendaciones del Ministerio de Sanidad español en materia de ensayos clínicos.

Antes de incluir algún sujeto en el estudio, un Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Hospital de Sant Pau (CEIm) y la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) aprobaron el protocolo del estudio, la información facilitada al sujeto y el modelo de consentimiento informado utilizado (*Anexo 2y 3*).

El estudio se desarrolló de acuerdo con el protocolo y con los Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNTs) que aseguraban el cumplimiento de las normas de Buena Práctica Clínica (BPC), tal como se describe en las Normas Tripartitas Armonizadas de la ICH para Buena Práctica Clínica.

4.6.2 Consentimiento informado

Antes del comienzo del ensayo, y antes de la obtención del consentimiento informado, el investigador o la persona designada por el mismo, explicó al posible sujeto del ensayo los objetivos, métodos y riesgos potenciales del estudio y cualquier molestia que éste pudiera ocasionar.

La explicación se realizó en un lenguaje entendible y se facilitó el tiempo necesario para meditar y tener la oportunidad de formular preguntas.

La información proporcionada contemplaba:

- Explicación del carácter experimental del ensayo clínico.
- Explicación del objetivo.
- Descripción de los dos brazos de tratamiento y asignación aleatoria.
- Descripción de los procedimientos a seguir, duración de la participación del sujeto, número aproximado de sujetos que participarán en el ensayo.
- Responsabilidades del sujeto.
- Riesgos e incomodidades razonablemente previsibles para el sujeto y medidas previstas de solución.
- Descripción de los beneficios para el sujeto/la sociedad.
- Disponibilidad de tratamientos alternativos con sus riesgos y beneficios potenciales.
- Condiciones de participación: Consentimiento expresado según su libre voluntad, derecho a abandonar el ensayo en cualquier momento, derecho a negarse a participar sin perjuicio para el sujeto.
- Explicación de que la identidad del sujeto es confidencial pero que las historias pueden ser revisadas por el monitor del ensayo, los auditores y pueden ponerse en conocimiento de las autoridades sanitarias.
- Declaración de que nuevos hallazgos relevantes se pondrán a disposición del sujeto.
- Identificación de a quién y a qué servicio pueden acudir para obtener respuestas respecto a cualquier aspecto del ensayo o los derechos del sujeto (nombre y número de teléfono).
- Descripción de las circunstancias en las que el investigador puede interrumpir la participación de un sujeto en un ensayo.

Así, en la visita de selección se facilitó toda esta información solicitando la colaboración. Se recogió por escrito la aceptación del paciente firmando el consentimiento informado del ensayo clínico que incluía todos los puntos descritos (*Anexo 4*).

Este consentimiento no sustituyó al propio del procedimiento quirúrgico que recogía las alternativas terapéuticas, las consecuencias, los riesgos típicos y personalizados, así como las consecuencias tras la intervención, y que todos los pacientes también firmaron.

4.6.3 Confidencialidad de datos

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustó a lo dispuesto en el Reglamento (UE) nº 2016/679 y a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal vigente, con el Real Decreto por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica y la demás normativa vigente.

Sólo el investigador principal, sus colaboradores y el personal técnico participantes en el estudio tenían acceso a la identidad de los sujetos y, ni los diferentes informes del estudio, ni el CRD usado, ni la base de datos generada, contenían identificación alguna del paciente, más que un código numérico que no permitía desvelar su identidad, y que únicamente la autora de este trabajo podía asociar los datos a una persona identificada o identificable.

4.6.4 Seguro

En este ensayo, de acuerdo con el Real Decreto 1090/2015 que regula los ensayos clínicos con medicamentos, los daños y perjuicios sobre el sujeto de estudio que pudieran resultar como consecuencia, se consideró que el medicamento en investigación no estaba suficientemente respaldado por datos científicos publicados sobre su seguridad y eficacia, de manera que el nivel de intervención que constituía el trabajo era alto, teniéndose que contratar un seguro para cubrir a los participantes

CAPÍTULO
05

Resultados

5.1 Análisis del flujo de participantes

5.1.1 Diagrama de flujo

5.1.2 Período de seguimiento

5.2 Análisis descriptivo de la muestra

5.2.1 De las variables clínico-demográficas

5.2.2 De las variables intra y
postoperatorias

5.3 Análisis comparativo de las variables clínico-demográficas entre ambos grupos

5.3.1 Edad

5.3.2 Sexo

5.3.3 Raza

5.3.4 Lateralidad

5.3.5 Localización

5.3.6 Tamaño de resección quirúrgica

5.3.8 Cumplimiento del tratamiento

5.4 Análisis de las variables de resultado

5.4.1 Variable principal: recidiva

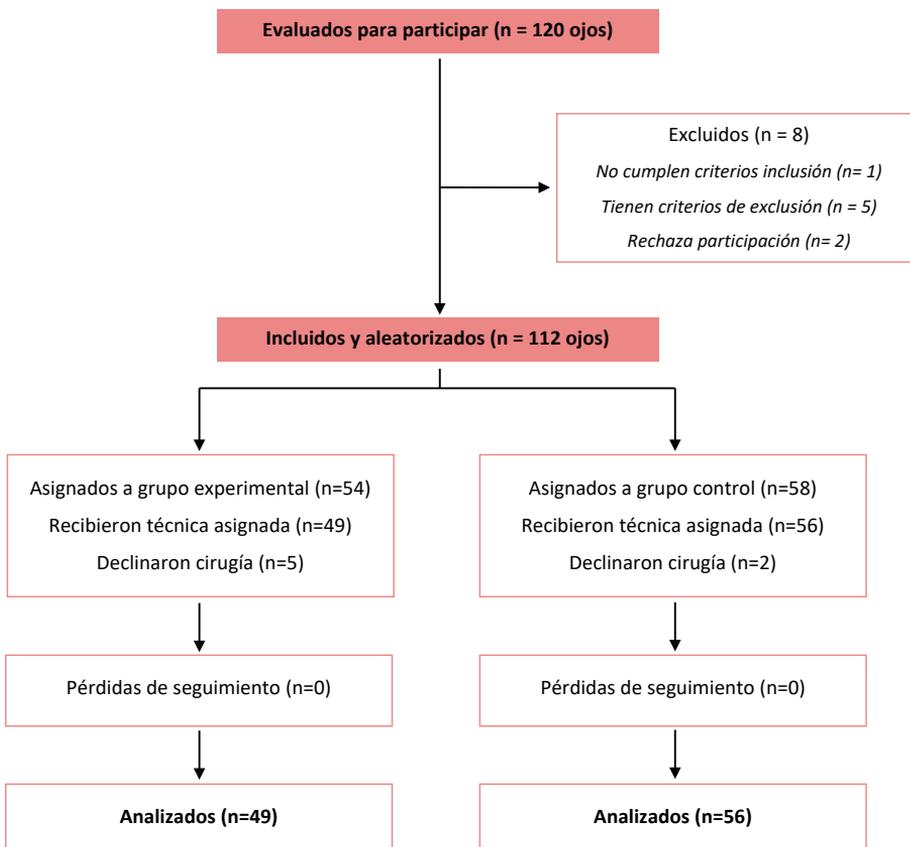
5.4.2 Variables secundarias

5.5 Resumen resultados

5.1

Análisis del flujo de participantes

5.1.1 Diagrama de flujo



Se derivaron 120 pacientes a la unidad de segmento anterior del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau en el periodo comprendido entre septiembre de 2018 y octubre de 2019. Veintiocho individuos fueron excluidos del estudio por: no cumplir criterios de inclusión (19 pacientes), presentar cirugía previa ocular (6 pacientes), estar en tratamiento inmunosupresor sistémico (1 paciente), rechazar la participación en el estudio (2 pacientes).

Por lo tanto, 112 ojos de 98 pacientes fueron incluidos en este ensayo clínico, y aleatorizados en los dos brazos de tratamiento, 54 casos en el grupo experimental y 58 en el grupo control. Cinco de los 54 sujetos asignados a la técnica de m-PRGF y 2 de los 58 candidatos al injerto de MA, declinaron operarse dentro del periodo de garantía establecido para este tipo de cirugías.

Así, recibieron el tratamiento, se monitorizaron y evaluaron **105 ojos de 93 pacientes** (13 pacientes fueron operados de ambos ojos) distribuidos en el grupo de estudio 49 ojos (46,6%) y en el grupo control 56 ojos (53,33%).

5.1.2 Periodo de seguimiento

Las intervenciones quirúrgicas de los dos grupos de tratamiento se llevaron a cabo desde marzo de 2019 hasta febrero de 2020.

La media del periodo de seguimiento de los sujetos fue de 11,06 meses en el grupo de MA y 10,32 en el de m-PRGF, con un rango entre los 6 y los 12 meses, sin que estas diferencias sean estadísticamente significativas ($p=0,34$).

Tabla 4. Tiempo de seguimiento.

Tiempo de seguimiento	m-PRGF	MA	P
Media \pm DS	11,06 \pm 4,17	10,32 \pm 3,90	0,34

5.2

Análisis descriptivo de la muestra

5.2.1 De la variables clínico-demográficas

Edad

La edad media de la muestra fue de $45,63 \pm 8,17$ años, con un rango entre 24,23 y 66,82 años.

Sexo

De los 93 pacientes incluidos en el estudio, 43 fueron hombres y 50 mujeres. Y el porcentaje válido, considerando los pacientes que se operaron de los dos ojos, 13, correspondió al 46,2% varones y 53,8% hembras.

Raza

La raza americana latina fue la más habitual en la muestra, representando el 88,6% de los casos (n=93). El porcentaje restante se repartió entre la caucásica 6,7% (n=7), negra 3,8% (n=4) y amarilla 1% (n=1).

Tabla 5. Descripción de las variables demográficas de la muestra.

Variable demográfica		Media \pm DS	Mediana	N y Porcentaje válido (%)
Edad		45,63 \pm 8,17	45,92	
Sexo	Hombre			43 (46,2%)
	Mujer			50 (53,8%)
Raza	Latina			93 (88,6%)
	Caucásica			7,00 (6,7%)
	Negra			4,00 (3,8%)
	Asiática			1,00 (1%)

Lateralidad

De los 105 ojos intervenidos, 51 (48,6%) fueron derechos y 54 (51,4%) izquierdos, sin encontrar predominancia clara por ninguna de las lateralidades

Localización

En el ensayo clínico la mayoría de los sujetos, 102 (97,1%) presentaron el pterigion localizado en la región nasal de la conjuntiva interpalpebral.

Tamaño y área de invasión corneal del pterigion

Respecto a las medidas del pterigion se observó que la media de la longitud vertical del pterigion en la zona del limbo fue de 4,57 mm, con un rango entre 2 y 10 mm, la longitud de invasión corneal horizontal, limbo-vértice, fue de 2,3 mm de media, con un rango entre 1 y 5,5 mm, y el área de invasión corneal de los 105 ojos intervenidos tuvo un valor medio de $11,5 \pm 8,32 \text{ mm}^2$.

Tensión ocular

Los sujetos presentaron de tensión ocular entre 9 y 23 mmHg, con una media de 15,15 mmHg.

Tabla 6. Descripción de las variables clínicas de la muestra.

Variable clínica	Media \pm DS	Mediana	N y Porcentaje válido (%)
Lateralidad Derecho			51 (48,6%)
Izquierdo			54 (51,4%)
Localización Nasal			102 (97,1%)
Temporal			3,00 (2,9%)
Longitud vertical	4,57 \pm 1,31	4,5	
Longitud limbo-vértice	2,30 \pm 0,93	2,00	
Área de invasión corneal	11,5 \pm 8,32	9,00	
Tensión ocular	15,15 \pm 2,90	15	

5.2.2 De las variables intra y postoperatorias

Técnica aplicada

Después de la aleatorización la distribución de la muestra entre los dos brazos del estudio fue de 56 sujetos (53,3%) en el grupo de membrana amniótica y 49 en el de m-PRGF (46,7%).

Tabla 7. Descripción de la distribución de las técnicas.

Técnicas aplicadas	N	Porcentaje válido (%)
Resección + MA	56	53,3%
Resección + mPRG	49	46,7%

Área de resección conjuntival intraoperatoria

En la cirugía se midió el tamaño de la resección quirúrgica y la media de longitud de la resección vertical, supero-inferior, fue de $13,53 \pm 2,08$ mm y la de la resección limbo-caruncular de $7,64 \pm 1,50$ mm, con un área media de extirpación de $103,86 \pm 29,95$ mm².

Tabla 8. Descripción de la variable área de resección.

Variable intra y postoperatoria	Media \pm DS	Mediana
Área de resección	$103,86 \pm 29,95$	96

Tiempo epitelización

El seguimiento de los sujetos fue estricto mientras presentaron defecto epitelial para poder concretar el momento de la epitelización completa. Como media, la reparación epitelial total se produjo a los $16,24 \pm 5,6$ días siguiendo un patrón de variación bastante constante con discreta asimetría positiva con más valores mayores a la media.

Tabla 9. Descripción de la variable tiempo de epitelización.

Variable tiempo epitelización	Media \pm DS	Mediana
Tº epitelización	$16,24 \pm 5,6$	17

Complicaciones

El 81,90% de los sujetos no presentaron complicaciones en el seguimiento postoperatorio, mientras que 19 ojos sí que presentaron alguna de ellas: 17 sólo 1 y 2 sujetos dos.

Tabla 10. Descripción de la existencia de complicaciones.

Complicaciones	N	Porcentaje válido (%)
Ausencia	86	81,90%
Presencia	19	18,1%

La distribución de las complicaciones se muestra en la *Tabla 11*. En ninguno de los casos existió pérdida del injerto, así como infección, escleritis ni simbléfaron.

Las complicaciones más frecuentes fueron el granuloma conjuntival y la HTO, aconteciendo en un 13,3% (n=14) y un 6,7% (n=7) de la muestra respectivamente.

Tabla 11. Descripción de las diferentes complicaciones de la muestra.

Complicaciones	N	Porcentaje válido (%)
Pérdida del injerto	0,00	0%
Infección	0,00	0%
Escleritis	0,00	0%
Simblefaron	0,00	0%
Granuloma conjuntival	14	13,3%
HTO	7,00	6,7%
TOTAL	19 (18,1%)	

Recidiva

La recidiva de la enfermedad se produjo en 11 sujetos del estudio, es decir, en el 15,5% de la muestra.

Tabla 12. Descripción de la existencia de recidiva.

Recidiva	N	Porcentaje válido (%)
Ausencia	94	84,5%
Presencia	11	15,5%

Cicatrización conjuntival

La ausencia de cicatrices, como consecuencia de un proceso de regeneración y reconstitución conjuntival correcto, aconteció en el 75,2% de los sujetos de la muestra. En 26 casos (24,8%) aparecieron diferentes niveles de cicatrización, con una distribución, según la escala confeccionada para el propio EC, bastante igualitaria entre los 3 grupos, tal y como se describe en la *Tabla 13*.

Tabla 13. Descripción de la cicatrización de la muestra.

Cicatrización conjuntival	N y Porcentaje válido (%)
Ausencia	79 (75,2%)
Presencia	26 (24,8%)
1	9,00 (34,61%)
2	8,00 (30,76%)
3	9,00 (34,61%)

Cumplimiento del tratamiento

En la mayor parte de los casos, 86,7% (n=91), hubo un cumplimiento de la pauta de tratamiento, y únicamente 14 sujetos (13,3%) de la muestra no siguieron las indicaciones terapéuticas pertinentes en algún momento del seguimiento.

5.3

Análisis comparativo de las variables clínico-demográficas entre ambos grupos

5.3.1 Edad

Comparando la variable de la edad entre los dos grupos En la serie de m-PRG la media de edad fue de $45,60 \pm 7,59$ años y en el grupo de MA de la media de edad de los controles fue de $45,66 \pm 8,75$ años, sin encontrar diferencias significativas usando la prueba de Levene ($p=0,182$).

Tabla 14. Edad en las dos técnicas.

Edad	MA	m-PRGF	P
Media \pm DS	$45,66 \pm 8,75$	$45,60 \pm 7,59$	0.182

5.3.2 Sexo

La distribución de los participantes según el sexo fue de 24 hombres (57,1%) y 18 mujeres (42,9%) en el grupo de m-PRGF y de 19 hombres (37,3%) y 32 mujeres (62,7%) en el conjunto de MA, sin encontrar diferencias significativas con la prueba exacta de Fisher ($p=0,063$).

Tabla 15. Sexo en los grupos.

Sexo	MA N y % válido	m-PRGF N y % válido	P
Hombre	19 (37,3%)	24 (57,1%)	0,063
Mujer	32 (62,7%)	18 (42,9%)	

5.3.3 Raza

En ambos grupos mayoritariamente se intervinieron pacientes de raza americana latina, 44 sujetos (89,9%) en el grupo de estudio y 49 sujetos (87,5%) en el grupo control. En los participantes restantes la etnia con mayor porcentaje fue la caucásica, con 3 sujetos (6,1%) en los casos de m-PRGF y 4 sujetos (7,1%) en los de MA. La raza negra fue la propia de dos participantes en cada uno de los brazos de tratamiento, mientras que la amarilla no tuvo representación en el conjunto experimental, y tan sólo 1 sujeto (1,8%) en el control. Las diferencias entre los dos grupos fueron mínimas y no representaron significancia estadística con el test chi-cuadrado de Pearson ($p=0,814$).

Tabla 16. Proporción de la variable raza en los grupos.

Raza	MA N y %válido	m-PRGF N y %válido	P
Americana	49 (87,5%)	44 (89,8%)	0,814
Caucásica	4 (7,1%)	3 (6,1%)	
Amarilla	1 (1,8%)	0 (0,0%)	
Negra	2 (3,6%)	2 (4,1%)	

5.3.4 Lateralidad

De los 49 casos con la técnica experimental, 25 fueron ojos derechos (51,0%) y 24 (49,0%) izquierdos. En el grupo control hubieron 26 (46,4%) ojos derechos y 30 (53,6%) izquierdos.

No se encontraron diferencias significativas en la distribución de la lateralidad entre los dos grupos con la prueba estadística exacta de Fisher ($p=0,698$).

Tabla 17. Proporción de la variable lateralidad en los grupos.

Lateralidad	MA N y %válido	m-PRGF N y %válido	P
Derecho	26 (46,4%)	25 (51,0%)	0.698
Izquierdo	30 (53,6%)	24 (49,0%)	

5.3.5 Localización

En el 98% de los casos operados con la técnica experimental y en el 96,4% de los intervenidos con la MA, el pterigion estaba localizado en la conjuntiva nasal. Mientras que pterigion temporales sólo se encontraron en el 2,0% y 3,6% de los casos respectivamente. El análisis estadístico de estos parámetros, con la prueba exacta de Fisher tampoco demostró diferencia significativa ($p=1$).

Tabla 18. Proporción de la variable localización del pterigion en los dos grupos.

Localización	MA N y %válido	m-PRGF N y %válido	P
Nasal	54 (96,4%)	48 (98%)	1
Temporal	2 (3,6%)	1 (2,0%)	

5.3.6 Tamaño invasión corneal del pterigion

Midiendo la altura del pterigion en la zona del limbo corneal y la longitud limbo-vértice se calculó el área de invasión corneal de esta patología para cada uno de los grupos, así en el grupo experimental la media fue de $12,86 \pm 1,18 \text{ mm}^2$, con el rango entre 10,52 y 15,21 mm^2 . En los sujetos del grupo estándar el área media fue de $10,30 \pm 1,10 \text{ mm}^2$, entre 8,11 y 12,49 mm^2 . No se encontró diferencia estadísticamente significativa usando la prueba t de Student ($p=0,115$).

Tabla 19. Área de invasión corneal en los dos grupos.

Tamaño invasión	MA	m-PRGF	P
Media ± DS	10,30 ± 1,10	12,86 ± 1,18	0,115
Rango	(8,11-12,49)	(10,52-15,21)	

5.3. 7 Área de resección quirúrgica

La media del área de resección quirúrgica fue de 104,4 mm² en el conjunto de m-PRGF y 103,39 mm² en el de MA (*fig. 28*). Sin encontrar que las diferencias fuesen estadísticamente significativas con la prueba de la U de Mann-Whitney (p=0.489).

Tabla 20. Tamaño de la resección quirúrgica en los dos grupos.

Tamaño resección	MA	m-PRGF	P
Media ± DS	103,39 ± 32,56	104,4 ± 27	0,489
Rango	(95,41-111,36)	(95,87-112,92)	

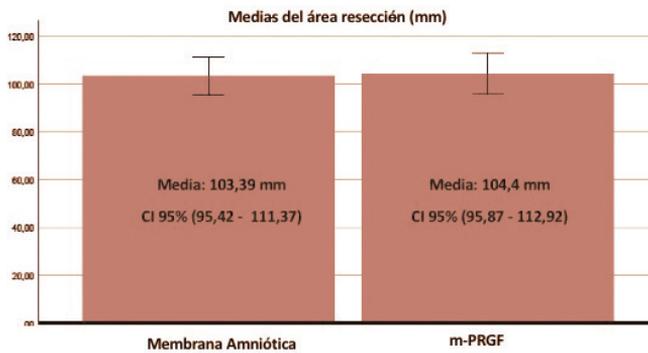


Figura 28. Análisis comparativo del área de resección quirúrgica.

5.3.8 Cumplimiento del tratamiento

En gran parte del seguimiento del EC los pacientes cumplieron el tratamiento prescrito y si consideramos los valores de adherencia al tratamiento entre el grupo experimental y el control encontramos que son de 83,7% y 89,3% respectivamente. El incumplimiento terapéutico en alguna de las visitas de control se registró en el 16,3% de los sujetos con m-PRGF y 10,7% de los tratados con MA. Estas desigualdades no presentaron significación estadística con la prueba exacta de Fisher ($p=0.566$).

Tabla 21. Cumplimiento del tratamiento en los dos grupos.

Cumplimiento tratamiento	MA N y %válido	m-PRGF N y %válido	P
No	6 (10,7%)	8 (16,3%)	0,566
Si	50 (89,3%)	41 (83,7%)	

5.4

Análisis de las variables de resultado

5.4.1 Variable principal: recidiva

Uno de los principales retos en la cirugía del pterigion es el control de la recurrencia. En este ensayo clínico los resultados con las dos técnicas quirúrgicas no presentan diferencias significativas en esta variable, tras el estudio estadístico con la prueba exacta de Fisher ($p=0.340$).

En el grupo intervencionista con m-PRP 7 sujetos (14,3%) presentaron recidiva mientras que en 42 (85,7%) la enfermedad no volvió a aparecer. En el colectivo de MA los sujetos con recurrencia fueron 4 (7,1%) mientras que 52 (92,9%) permanecieron en resolución.

Tabla 22. Recidiva en los dos grupos.

Recidiva	MA N y % válido	m-PRGF N y % válido	P
No	52 (92,9%)	42 (85,7%)	0.340
Si	4 (7,1%)	7 (14,3%)	

5.4.2 Variables secundarias

Tiempo de epitelización

La media de tiempo de cierre epitelial tras la cirugía fue de 17,44 días en el conjunto de m-PRGF y 18,2 días en los que se usó la MA como injerto (*fig. 29*). Con la prueba de la U de Mann-Whitney se comprobó que las disimilitudes de estos resultados entre los dos grupos no tenían significación estadística ($p=0.073$).

Tabla 23. Tiempo de epitelización en los dos grupos.

Tiempo de epitelización	MA	m-PRGF	P
Media \pm DS	18,2 \pm 2,23	17,44 \pm 2,40	0.073
Rango	(13,77-22,62)	(12,66-22,21)	

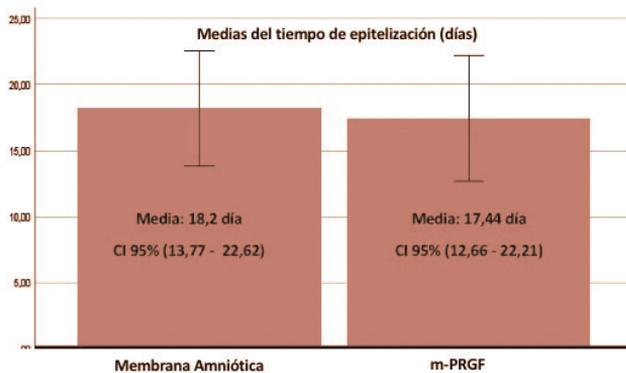


Figura 29. Análisis comparativo del tiempo de cierre del defecto epitelial.

Complicaciones

La mayoría de los sujetos, 14 (28,6%), operados con la técnica de control prácticamente no tuvieron complicaciones en el postoperatorio, que se dieron en 5 casos (8,9%). Mientras que en el grupo del tratamiento experimental el 28,4% desarrollaron complicaciones y el 71,4% no.

El análisis estadístico de estos parámetros, con la prueba exacta de Fisher demostró que la diferencia fue significativa ($p=0,011$).

Tabla 24. Complicaciones en los dos grupos.

Complicaciones	MA	m-PRGF	P
	N y % válido	N y % válido	
Ausencia	51 (91,1%)	35 (71,4%)	0,011
Presencia	5 (8,9%)	14 (28,6%)	

Analizando cada una de las complicaciones encontramos que la HTO sólo sobrevino en 1 caso (1,8%) de MA mientras que sucedió en 6 casos (12,2%) de m-PRGF, teniendo, esta diferencia, significación estadística con la prueba exacta de Fisher ($p=0.048$).

Tabla 25. Distribución de la variable HTO en los dos grupos.

HTO	MA	m-PRGF	P
	N y % válido	N y % válido	
Ausencia	55 (98,2%)	43 (87,8%)	0,048
Presencia	1 (1,8%)	6 (12,2 %)	

En ninguno de los dos brazos del tratamiento hubo sujetos que desarrollaron pérdida del injerto, infección, simblefaron o escleritis.

Tabla 26. Distribución de las variables de complicaciones en los dos grupos.

Complicaciones		MA	m-PRGF
		N y % válido	N y % válido
Pérdida injerto	NO	56 (100%)	49 (100%)
Infección	NO	56 (100%)	49 (100%)
Simblefaron	NO	56 (100%)	49 (100%)
Escleritis	NO	56 (100%)	49 (100%)

El granuloma conjuntival apareció más frecuentemente en el grupo de m-PRGF que en el de MA, un 20,4% respecto a un 7,1%, sin significación estadística con la prueba exacta de Fisher ($p=0.082$).

Tabla 27. Distribución de la variable granuloma en los dos grupos.

Granuloma conjuntival	MA N y % válido	m-PRGF N y % válido	P
Ausencia	52 (92,9%)	39 (79,6%)	0,082
Presencia	4 (7,1%)	10 (20,4 %)	

Cicatrización

En más del 70% de los dos grupos no apareció ningún tipo de grado de cicatriz y la reparación tisular se llevó a cabo de forma correcta asemejando a la conjuntiva normal. Algún tipo de proceso cicatricial se desarrolló en el 23,2% de los sujetos con implante de MA y en el 26,5% de los que recibieron el implante de m-PRGF. La prueba exacta de Fisher demostró que las desigualdades entre los dos brazos terapéuticos no tenían significación estadística ($p=0,821$).

La distribución de la cicatrización, según la escala preestablecida, entre los dos grupos fue algo dispar, en el grupo de MA prácticamente la mitad de los casos tuvieron una cicatrización leve, con fibrosis y sin neovasos, mientras que en el grupo de m-PRGF ese tipo de cicatrización sólo aconteció en $\frac{1}{4}$ de los sujetos con algún grado de cicatriz. La fibrosis y los neovasos visibles macroscópicamente ocurrieron en el 38,46% de los ojos operados con el método experimental frente al 30,77% de los del control.

Tabla 28. Distribución de la variable cicatrización en los dos grupos.

Cicatrización	MA N y % válido	m-PRGF N y % válido	P
Ausencia	43 (76,8%)	36 (73,5%)	
Presencia	13 (23,2%)	13 (26,5 %)	
Grado 1	6,00 (46,15%)	3,00 (23,07%)	0,821
Grado 2	3,00 (23,07%)	5,00 (38,46%)	
Grado 3	4,00 (30,77%)	5,00 (38,46%)	

El análisis multivariable no demostró correlación entre las diferentes variables en ninguno de los grupos.

5.5

Resumen resultados

El resumen de los resultados se evidencia en la tabla 29, 30 y 31. Las características clínicas y demográficas de la muestra se muestran en la *Tabla 29*. La media de edad de los pacientes fue de 43,63 años y el 46,2% fueron hombres. Hubo un claro predominio de la raza latina con el 88,6% de los pacientes analizados. Aproximadamente en la mitad de los casos la cirugía se llevó a cabo en el ojo derecho (48,6%). Respecto a la distribución de las técnicas, 49 de los 105 sujetos (46,7%) fueron asignados al grupo intervención y 56 al grupo control (53,3%). En cuanto al área de resección quirúrgica, la media fue de 103,86 mm² y la mediana de 96 mm². Respecto a la variable principal, la recidiva, aconteció en 11 casos (15,5%), mientras que del resto un 24,8% presentaron algún tipo de cicatrización residual. La media y mediana del tiempo de cierre del defecto epitelial fueron de 16,24 días y 17,00 días respectivamente.

El análisis no revela diferencias significativas en las variables sociodemográficas entre ambos grupos, aunque se observó una distribución desigual en la variable sexo, predominaron las mujeres en el grupo de MA (62,7%) y los hombres en el de m-PRGF (57,10%). No se detectaron diferencias entre los dos grupos en términos de edad (45,66 vs 45,60 años), ojo (46,4% vs 51% ojo derecho), y raza (87,5% vs 89,8,9% fueron de raza latina).

Para poder realizar una comparación válida del tiempo del cierre epitelial y la recidiva, se ha comprobado primero que el área de resección en la cirugía es parecida o sin diferencias significativas en ambos grupos, ya que valores diferentes podrían generar un sesgo importante ante la interpretación de los resultados. Se observó que las medias de esta área de resección

eran muy similares en las dos técnicas (103,39 mm² vs 104,40 mm²) sin haber diferencias significativas entre ellas (p=0,489). En cuanto al tiempo de cierre del defecto epitelial, se ha observado una tendencia de menor tiempo de cierre del defecto epitelial en el grupo experimental (media de 17,44 días) en comparación con el grupo control (media de 18,2 días), sin embargo, esta diferencia no ha tenido significación estadística (p=0,073). Sí que existieron diferencias significativas entre los dos grupos en cuanto al total de complicaciones (p=0,01), con un mayor porcentaje en el grupo intervención (28,6% vs 8,9%). Analizando cada una de las complicaciones se evidenció que el granuloma ocurrió más frecuentemente en el grupo intervención, pero sin significación estadística, significación que sí se encontró en la HTO donde existió un mayor porcentaje (p=0,048) de sujetos con aumento de la TO en el grupo m-PRGF (12,2% vs 1,8%).

Finalmente, en la variable principal de interés que es la recidiva, se ha encontrado una mayor prevalencia en los sujetos del tratamiento experimental (14,3% vs 7,1%), pero este hallazgo no ha sido estadísticamente significativo p=0,43.

Tabla 29. Análisis descriptivo. Variables demográficas y clínicas.

Variable clínica	Media \pm DS	Mediana	N y Porcentaje válido (%)
Edad	43,63 \pm 8,17	45,92	
Sexo (Hombres)			43(46,2%)
Raza			
Latina			93 (88,6%)
Caucásica			4,00 (3,8%)
Negra			7,00 (6,7%)
Asiática			1,00 (1%)
TO	15,15 \pm 2,90	15,00	
Ojo (Derecho)			51 (48,6%)
Localización (nasal)			102 (97,1%)
Técnica aplicada (MA)			56 (53,3%)
Área invasión corneal	11,5 \pm 8,32	9,00	
Complicaciones			
TOTAL			19 (18,1%)
HTO			7,00 (6,71%)
Granuloma			14 (13,3%)
Pérdida injerto			0,00
Escleritis			0,00
Infección			0,00
Simblefaron			0,00
Cumplimiento tto (SI)			91 (86,7%)
Área resección	103,86 \pm 29,95	96,00	
Tiempo epitelización	16,24 \pm 5,6	17,00	
Recidiva			11 (10,5%)

Tabla 30. Análisis comparativo entre ambas técnicas.

Variable clínica	MA	m-PRGF	P
Edad	45,66 ± 8,75	45,60 ± 7,59	0,182
Sexo (Hombres)	19 (37,3%)	24 (57,1%)	0,063
Raza			
Latina	49 (87,5%)	44 (89,8%)	
Caucásica	4,00 (7,1%)	3,00 (6,1%)	0,814
Negra	2,00 (3,6%)	2,00 (4,1%)	
Asiática	1,00 (1,00%)	0,00 (0,00%)	
Ojo (Derecho)	26 (46,4%)	25 (51,0%)	0,698
Localización (nasal)	54 (96,4%)	48 (98%)	1
Área invasión corneal	10,30 ± 1,10	12,86 ± 1,18	0,115
Área resección	103,39 ± 32,56	104,40 ± 27	0,489
Cumplimiento tto (SI)	50 (89,3%)	41 (83,7%)	0,556
Tiempo epitelización	18,2 ± 2,23	17,44 ± 2,40	0,073
Recidiva	4 (7,1%)	7 (14,3%)	0,340
Complicaciones	5 (26,6%)	14 (28,6%)	0,011

Tabla 31. Análisis comparativo de las complicaciones entre ambas técnicas.

Complicaciones		MA N y % válido	m-PRGF N y % válido	P
Granuloma	SI	4 (7,1%)	10 (20,4 %)	0,082
HTO	SI	1 (1,8%)	6 (12,2 %)	0,048
Pérdida injerto	SI	0,00 (0,00%)	0,00 (0,00%)	
Infección	SI	0,00 (0,00%)	0,00 (0,00%)	
Simblefaron	SI	0,00 (0,00%)	0,00 (0,00%)	
Escleritis	SI	0,00 (0,00%)	0,00 (0,00%)	
Infección	SI	0,00 (0,00%)	0,00 (0,00%)	
TOTAL	SI	5 (8,9%)	14 (28,6%)	0,011

CAPÍTULO
06

Discusión

6.1 De los materiales y métodos empleados

- 6.1.1 Diseño del estudio
- 6.1.2 Selección de sujetos
- 6.1.3 Intervención
- 6.1.4 Recolección y mediciones
- 6.1.5 Análisis de datos

6.2 De los datos demográficos y características clínicas

- 6.2.1 Edad y sexo
- 6.2. Raza
- 6.2.3 Lateralidad y localización
- 6.2.4 Tamaño de la invasión corneal
- 6.2.5 Área de resección conjuntival
- 6.2.6 Cumplimiento del tratamiento

6.3 De las variables resultado

- 6.3.1 Variable principal: recidiva
- 6.3.2 Variable secundaria: tiempo de epitelización
- 6.3.3 Variable secundaria: complicaciones
- 6.3.4 Variable secundaria: cicatrización

6.4 Limitaciones del estudio

6.5 Aportaciones del estudio

6.1

De los materiales y métodos empleados

Con el objetivo de interpretar correctamente este ensayo clínico, es necesario evaluar la solidez de los resultados considerando la validez interna.

Existen diferentes escalas, cada una con varios elementos, que se utilizan para evaluar la “calidad” metodológica de los ensayos clínicos controlados y aleatorios. En 1990 se publicó la Declaración de CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) por un grupo internacional de ensayistas clínicos, con consideraciones recomendadas para mejorar la calidad de los EC aleatorizados. Consta de una lista de comprobación de 25 ítems que se deberían incluir en todo informe de un ensayo clínico, junto con un diagrama para ilustrar el flujo de individuos participantes a lo largo del ensayo.

Una de las más utilizadas es la de Jadad de Oxford que, desde 1996, considera 5 aspectos: si el estudio fue aleatorizado, si fue a doble ciego, si se describen las pérdidas y retiradas, si se describe y es adecuado el método de aleatorización y si las condiciones de enmascaramiento son apropiadas. La puntuación es de 0 a 5 y se considera un estudio de pobre calidad si la puntuación es inferior a 3.¹¹² Examinando estos parámetros se puede valorar positivamente la validez interna de este trabajo ya que cumple la mayoría de los requisitos necesarios: es aleatorizado, describe y son correctos tanto el método de aleatorización como el de enmascaramiento y registra las pérdidas de sujetos

6.1.1 Diseño del estudio

Con la finalidad de comparar una nueva técnica de conjuntivoplastia en la cirugía del pterigion primario, con el injerto de membrana amniótica estandarizado en aquellos casos donde el autoinjerto conjuntival no puede realizarse, se diseñó un ensayo clínico controlado intervencionista con dos brazos paralelos. Este tipo de estudio se considera el método de investigación más adecuado cuando el objetivo es evaluar la eficacia y seguridad de un nuevo tratamiento o procedimiento.¹¹³

6.1.2 Selección de sujetos

La fuente de los participantes fue el área de influencia del hospital de Sant Pau, y el origen el centro de atención primaria y no sólo el hospital, más restrictivo y con características más concretas, evitando el sesgo hospitalario. Así, la muestra fue lo más homogénea posible y representativa de la población a la que se quería extrapolar los datos. A esta homogeneidad también contribuyó que la selección de participantes se llevase a cabo en un único centro, por el mismo personal investigador involucrado, con idéntico material de exploración y siguiendo el mismo protocolo. La técnica de muestreo fue no probabilística de correlatividad, según orden de llegada, sin suponer un sesgo en la representatividad de la población, ya que se reclutaron pacientes enfermos, con sintomatología, que demandaban atención médica durante un periodo de tiempo determinado.

En cuanto a la inclusión de los pacientes en este estudio, el criterio principal fue el de diagnóstico de pterigion primario, es decir, la existencia de una proliferación fibrovascular conjuntival con invasión corneal sin antecedentes de cirugía previa de pterigion y con indicación quirúrgica. El pterigion recidivado es una entidad patológica diferente, ya que a los fenómenos etiopatogénicos propios de la enfermedad se suman los mecanismos de reparación y cicatrización por el trauma quirúrgico previo. Así, aunque incluir esta entidad habría permitido aumentar la muestra y acortar el periodo de inclusión, desestimarla favoreció a mantener la uniformidad de la muestra y evitar la dilución de los datos que impedirían extraer conclusiones.

Una limitación importante e insorteable al analizar un producto autólogo es que su calidad está intrínsecamente relacionada con factores individuales, entre los que destacan la edad y el estado de inmunocompetencia.¹¹⁴ Para evitar este sesgo se descartaron los pacientes de edad avanzada así como los casos con tratamiento inmunosupresor o inmunomodulador que, modificando el sistema inmune, podrían condicionar la respuesta postoperatoria y los resultados finales.

Tal y como se representa en el diagrama del estudio, hubo 7 casos que rehusaron la cirugía, de manera que al final recibieron efectivamente la intervención asignada 105 ojos de 93 pacientes. Este posible sesgo de desgaste no parece ser significativo porque las causas de abandono fueron externas y previas a la intervención, los pacientes declinaron operarse, y todos los sujetos tenían características muy similares.

6.1.3 Intervención

La intervención quirúrgica se llevó a cabo por el mismo oftalmólogo evitando inferir un error en este punto.

Injerto de MA

El injerto de MA fue proporcionado por el Banc de Sang i Teixits de Barcelona que usa un protocolo estricto en la obtención y preservación del tejido garantizando la estandarización del proceso para todos los casos.

Se usó la membrana criopreservada, la más universal en nuestro entorno, aunque se ha cuestionado la viabilidad y capacidad proliferativa de sus células con este tipo de conservación, no siendo posible demostrar supervivencia celular tras 18 meses de congelación.¹¹⁵ La MA fresca quedó descartada por el riesgo de transmisión microbiológica y la liofilizada por no haber demostrado la repercusión de su menor concentración de factores de crecimiento respecto a la criopreservada.⁵⁴

Con el objetivo de mantener al máximo las propiedades del tejido en el Banc de Sang i Teixits de Barcelona distribuye injertos con menos de seis meses de congelación e idealmente menos de tres, estos cambios en el

tiempo de preservación pueden suponer una variación dentro del mismo grupo de tratamiento.

Al igual que cualquier tejido de origen vivo se ha descrito modificaciones en su composición, sobretodo en la concentración de factores de crecimiento, según las características de las donantes, la edad gestacional y el sexo y estado de salud del embrión.¹¹⁶ Estas diferencias pueden condicionar los efectos del TMA suponiendo un sesgo incontrolable en el momento de comparar los resultados.

Injerto de m-PRGF

El injerto autólogo rico en factores de crecimiento plaquetarios (FCP) fue el m-PRGF que se obtuvo con el método Endoret® (BTI, 98 Instituto Biotecnológico, S.L., Miñano; Álava, España) también claramente normalizado. Hay una gran diversidad de concentrados plaquetarios con gran variabilidad metodológica, sin estandarización en el proceso de obtención, y existen controversias sobre los factores determinantes de la calidad de estos preparados. En general, los concentrados de plasma rico en plaquetas son una fracción de plasma autólogo cuya concentración de plaquetas es superior a la del plasma en condiciones basales y que contiene FCP secretados por las plaquetas y diferentes proteínas que actúan en la adhesión celular.¹¹⁷ Referente a la calidad y eficiencia del proceso está íntimamente relacionada con:

- La fuerza centrífuga total (condicionada por la fuerza, el tiempo y la rampa de aceleración/desaceleración de la centrifugación).
- La prevención de la activación de las plaquetas en el momento de la venopunción y de la centrifugación para evitar la liberación de factores de crecimiento al medio extra-plaquetario antes de su uso terapéutico.
- La adecuada separación de la fracción plaquetario para obtener un concentrado con alta concentración de plaquetas y con bajo contenido en hematíes y leucocitos. Aunque en protocolos recientes han aparecido nuevos preparados con leucocitos defendiendo la utilidad de este grupo celular en la reparación tisular.⁸²

En el protocolo de estudio se eligió el injerto de PRGF frente a los otros

concentrados plaquetarios descritos por sus diferentes beneficios:

- Garantizar un protocolo minuciosamente descrito y estandarizado.
- Usar un sistema cerrado con Kits desechables, precisando bajos volúmenes de sangre (30-60 ml) y garantizando su esterilidad.
- Conseguir una concentración plaquetaria constante entre 2-5 veces la basal, que es cifra óptima para la estimulación de la proliferación celular. Aunque todos los preparados de concentrados plaquetarios contienen un grupo básico de FCP, la concentración relativa de cada factor varía entre diferentes preparados condicionando su eficiencia clínica, pero trabajos recientes, Weibrich et al., descartan la correlación de la concentración de FCP con concentraciones plaquetarias elevadas.¹¹⁸
- Usar unos parámetros de centrifugación constantes y lentos, de 460 g durante 8 min, asegurando la conservación de la estructura de las plaquetas.
- No contener leucocitos en su composición final ya que el beneficio de la incorporación de la serie blanca es controvertido y porque se ha visto que los preparados con mayor concentración de estas células provocan más inflamación en el lugar de la aplicación.¹¹⁹
- No utilizar trombina bovina en la activación plaquetaria evitando tanto el riesgo de transmisión de patógenos, que eventualmente se podrían escapar de los controles habituales, como el posible desarrollo, por parte del huésped, de coagulopatías o eventuales reacciones de inmunidad.
- Emplear cloruro cálcico para activar las plaquetas. Esta activación es más paulatina que con otros activadores y se consigue imitar más fielmente la secreción fisiológica del contenido de los gránulos α .

En el proceso obtención interviene la manipulación humana, pero el hecho de usar el mismo equipo operador altamente formado garantiza la adecuación del producto, aunque no se pueden descartar errores personales.

De forma semejante a lo descrito en la MA cabe recordar que los concentrados plaquetarios también presentan, independientemente del

protocolo y procedimiento de obtención, diversidad en su composición y concentración de factores de crecimiento. Estas oscilaciones se atribuyen a cambios tanto a nivel interpersonal como dentro del individuo dependiendo del momento. Así, es imposible descartar un sesgo en este nivel, ya que es inviable obtener siempre el mismo injerto.

Común a ambos procedimientos

Habitualmente la fijación del injerto puede ser con sutura o mediante adhesivo tisular. El pegamento biológico es un método eficaz y seguro que incluso en diferentes trabajos, metaanálisis y revisiones, ha demostrado tener menos recurrencias que la fijación con puntos en el AIC, gracias a disminuir el tiempo quirúrgico, la manipulación y la inflamación secundaria.^{120,121} En el estudio se utilizó el adhesivo tisular en todos los procedimientos, considerando sus ventajas en la reducción tanto del tiempo de la cirugía como de las molestias postoperatorias y la exclusión de la retirada de suturas a posteriori.^{122,123}

No se usaron tratamientos coadyuvantes intraoperatorios porque, a pesar que, la MMC al 2% ha demostrado reiteradamente disminuir la tasa de recurrencia en el pterigión primario en técnicas como el cierre conjuntival simple o la de “esclera desnuda”²⁴ y no ha aportado beneficios al autoinjerto conjuntival simple,¹²⁴ no hay suficiente evidencia científica sobre su efecto beneficioso con el injerto de MA y sólo algunas referencias puntuales refiriendo menor recidiva y, además se ha asociado a complicaciones potencialmente graves como la necrosis escleral.¹²⁵

Al tratarse de un procedimiento quirúrgico todos los pacientes recibieron tratamiento antiinflamatorio y antibiótico propio del postoperatorio. En ambos grupos se usó la misma coadministración farmacológica para evitar sesgar el beneficio obtenido, aunque un riesgo mínimo existe por eventuales interacciones con los componentes moleculares, como por ejemplo la infra-regulación de citoquinas, interleuquinas (IL) 6 y 8 que se produce con el uso de esteroides.¹²⁶

6.1.4 Recolección y mediciones

Recogida de datos

El doble CRD conteniendo todas las variables permite asegurar la reproducibilidad confiriendo una buena fiabilidad a los resultados.

El probable sesgo de detección se minimizó con el cegamiento de los evaluadores clínicos, aunque en el postoperatorio inmediato, en la visita del día siguiente, las características clínicas permitían diferenciar los dos grupos, a partir de ahí todos tomaban el mismo aspecto y no se distinguían.

Variables

Haber seguido el protocolo original y concreto del estudio con las variables ya definidas, sin posteriores modificaciones que pudieran satisfacer unos resultados deseados, permite descartar un sesgo de informe selectivo.

Analizando la medición de algunas variables:

- **Área de invasión corneal**

Normalmente la definición de este parámetro varía en la bibliografía y, aunque lo ideal sería utilizar un sistema de imagen reproducible que permitiera, de forma objetiva, hacer comparaciones reales,¹²⁷ en el estudio la medición se realizó en la lámpara de hendidura, tal y como se explica en el apartado de materiales y métodos (*pág. 67*). Esta forma de calcular la invasión del perigion es la más habitual en la literatura, pero es un sistema con limitaciones por la subjetividad.

- **Área de resección**

Podría usarse un método más objetivo basado en una captura de imagen con delimitación automatizada de la zona reseçada y cálculo del área total.

- **Cumplimiento del tratamiento**

Valorar el cumplimiento es muy difícil y lo ideal es usar métodos directos que puedan obtener determinaciones del fármaco, pero en este caso fue inviable.

Los evaluadores usaron la metodología indirecta, la más habitual por costes y sensibilidad, pero con limitaciones derivadas de la falta de objetividad y de la tendencia a la sobreestimación del cumplimiento. Usar varios de estos métodos, y no sólo uno, como la entrevista, la respuesta clínica y los efectos secundarios permitieron mejorar la sensibilidad en la detección del incumplimiento.

El sistema de comunicación del propio sujeto requiere de una entrevista efectiva que no coaccione la respuesta. En este caso la pregunta no fue cerrada, se interrogó abiertamente sobre la pauta, confiriendo la posibilidad de manifestar opiniones, y así facilitar la obtención de diferencias.

La adquisición de la respuesta clínica es un buen indicador de la adherencia a la terapia, aunque con limitaciones en aquellos casos que la patología no responde al régimen farmacológico.

La aparición de efectos secundarios es un buen sistema en este estudio ya que los esteroides tópicos oculares son unos fármacos ampliamente conocidos, y sus efectos sobre la tensión ocular son fácilmente medibles siempre que el paciente asista a los controles programados.

6.1.5 Análisis de datos

La dificultad en el cálculo del tamaño de la muestra vino dada, en primer lugar, por la variabilidad de los resultados sobre la recidiva encontrada en la literatura para los procedimientos. En la técnica de trasplante de membrana amniótica los valores oscilan entre el 4%¹²⁸ y el 60%,¹²⁹ mientras que no hay información sobre el uso de membrana de PRGF, tan sólo hay una referencia con un injerto de otro tipo de derivado plaquetario y la recurrencia se cifra en el 6%.¹¹¹ Otra dificultad fue la limitación a la hora de reclutar, incluir y operar suficientes pacientes que permitiesen detectar pequeñas diferencias en los porcentajes de recidiva entre ambas técnicas.

El cálculo reflejó la necesidad de un número elevadísimo de sujetos para hallar mínimas desigualdades y la inviabilidad, debida a la limitación de la disponibilidad de quirófano y el tiempo destinado al estudio, llevó a resignarse asumiendo diferencias del 10% en la variable de recidiva entre ambos procedimientos como el valor relevante en el momento de tomar

decisiones.

A pesar de ello, hay que considerar que el estudio dispone de un tamaño muestral superior a la mayoría de los estudios encontrados en la literatura sobre la recurrencia de esta enfermedad. Además, cabe destacar que existe un buen valor de potencia estadística y nivel de seguridad con el tamaño de la muestra final.

El sistema de aleatorización estuvo bien calculado obteniendo una secuencia de aleatorización que se ocultó correctamente, y fue la secretaria del servicio de oftalmología, que tenía en poder dicha secuencia, la encargada de implementarla después del reclutamiento. Este esquema garantiza una ausencia de sesgo de selección porque se pudo implementar de forma estricta la asignación al azar, siendo improbable prever las asignaciones a la intervención antes o durante el reclutamiento. De este modo, se puede asegurar la comparabilidad entre los dos grupos.

Aunque en este ensayo clínico se comparaba una nueva técnica quirúrgica con otra ya consolidada, la similitud del procedimiento permitió garantizar el enmascaramiento por parte del sujeto controlando el sesgo de realización. Contrariamente, el investigador principal no estuvo enmascarado, fue conocedor de la asignación al preparar la programación quirúrgica y de llevar a cabo la cirugía. El hecho que no exista un doble cegamiento puede sobrestimar los efectos del tratamiento en un 9%,¹³⁰ pero en este caso las variables medidas no son subjetivas y, además, si se compara la variable del área de resección entre los dos grupos del EC se observa una coincidencia prácticamente del 100% en los valores, de manera que se puede minimizar la existencia de un posible error en el proceso de ejecución donde el cirujano podría intervenir. Los evaluadores clínicos y el analista de datos sí se mantuvieron cegados respecto a la asignación grupal controlando el sesgo de detección.

6.2

De los datos demográficos y características clínicas

Analizando los valores de las variables demográficas y clínicas, y comparándolos entre los dos brazos de tratamiento se refleja el equilibrio y la homogeneidad de la muestra, poniendo de manifiesto la calidad de la aleatorización del ensayo clínico, con una correcta ocultación que garantiza la asignación grupal después del reclutamiento. Cabe destacar que una muestra homogénea comporta mayor probabilidad de detectar pequeñas diferencias cuando se comparan procedimientos.

6.2.1 Edad y Sexo

Los resultados respecto a la distribución etaria, media de $45,63 \pm 8,17$ años, y por sexos concuerdan con los descritos por diferentes autores para el mismo entorno, que concluyen no encontrar diferencias entre los dos sexos, hallar una mayor incidencia entre los 20 y 49 años y una prevalencia de 5,9% en mayores de 40 años.⁶

6.2.2 Raza

La prevalencia de esta enfermedad varía según la localización y latitud de los países, siendo más frecuente en los territorios localizados linealmente alrededor del ecuador, típicamente descritos como el “cinturón del pterigion” donde la exposición solar más intensa incrementa el riesgo.⁵

Existen trabajos que reportan mayor prevalencia en afroamericanos con respecto a caucásicos.⁷ En los últimos años se ha observado una distribución de la inmigración por todos los barrios de Barcelona y en el área de influencia del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau ha crecido la inmigración un 63,9% a expensas, principalmente, de países de América Latina (52%), mientras que la inmigración africana y asiática de este barrio representa alrededor del 10-15% cada una.¹³¹ Esto explica la distribución étnica de la muestra del ensayo clínico donde el 88,6% de los sujetos son latinos inmigrantes de países pertenecientes a la franja geográfica cerca del ecuador, y con una distribución similar entre los dos grupos.

6.2.3 Lateralidad y localización

Las características clínicas de la enfermedad en ambos grupos son comparables a las descritas en la literatura, no mostrando preferencias en la lateralidad entre ojos, apareciendo siempre en la hendidura interpalpebral y con marcada tendencia a la localización nasal respecto a la temporal, 97,1% vs 2,9%, apoyando la teoría etiopatogénica de la radiación ultravioleta porque corresponde a la zona con mayor exposición o concentración por el reflejo desde el ala nasal.¹³

6.2.4 Tamaño de la invasión corneal

El área total del pterigion es un factor importante que, a parte de contribuir a modificar la curvatura corneal y el astigmatismo secundario, se ha correlacionado con los índices de recidiva.¹³¹ Así, a pesar de que el objetivo del estudio era comparar dos métodos terapéuticos, es importante analizar esta variable porque condiciona la variable resultado principal del estudio, la recurrencia, y podría suponer un sesgo del trabajo.

Los valores obtenidos son simétricos entre ambos brazos de tratamiento, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0.115$), y la elevada variabilidad (de 2,5 a 42 mm²) acontece en los dos grupos sin supeditar los resultados finales.

6.2.5 Área de resección conjuntival

El valor del área de resección es proporcional al área total del pterigion. Con la distribución de esta variable se desestima el riesgo de ejecución por parte del interventor ya que los resultados son muy similares en todos los sujetos independientemente del procedimiento quirúrgico recibido.

6.2.6 Cumplimiento del tratamiento

Se estableció el mismo protocolo de tratamiento en todos los sujetos del estudio manteniendo el equilibrio de la muestra.

Sólo en el 13,3% de los sujetos intervenidos y seguidos se detectó un incumplimiento de la pauta terapéutica prescrita en algún momento del seguimiento, es decir, en la mayoría de los casos existió una buena adherencia al tratamiento, distribuida de forma similar entre los dos grupos y las pequeñas diferencias no tuvieron significación estadística ($p=0.566$). De estos valores se desprende que la variable cumplimiento no condiciona los resultados del estudio, sobretodo de la variable principal: la recidiva, teniendo en cuenta que hay referencias bibliográficas que relacionan la recurrencia del pterigion tras la cirugía con dosis inadecuadas de esteroides tópicos en el postoperatorio.¹³²

Los resultados se lograron a través de la entrevista médica y la respuesta clínica, a pesar de que el protocolo inicial describía tres métodos indirectos de la valoración del cumplimiento. La variable HTO, el tercer sistema, es un evaluador retrospectivo de los datos y se analiza una vez concluido el estudio y obtenidos los resultados. A pesar de que la discusión se desarrolla en el apartado complicaciones (*pág. 147*) se puede apuntar la existencia de discrepancias entre la incidencia hallada de esta complicación y lo conocido científicamente, y que hay diferencias significativas entre los dos grupos ($p=0,048$) que pueden cuestionar los valores finales del cumplimiento terapéutico.

6.3

De las variables resultado

Una vez valorada la validez interna del trabajo hay que evaluar los resultados para así poder extrapolarlos a la población general.

El periodo de seguimiento en este estudio, $11,06 \pm 4,17$ en el grupo m-PRGF y $10,32 \pm 3,90$ en el de MA, se considera moderadamente suficiente para evaluar las recurrencias y las posibles complicaciones tardías, teniendo en cuenta que el 50% de las recidivas aparecen en los primeros 4 meses, la mayoría antes de los 6 meses y el 97% se detectan durante el primer año después de la escisión.¹³⁴

6.3.1 Variable principal: Recidiva

La ausencia de recurrencia tras la cirugía del pterigion sigue suponiendo un reto en el abordaje de la enfermedad. La etiopatogenia de esta complicación es multifactorial siendo los desencadenantes más involucrados los directamente relacionados con el procedimiento quirúrgico: la técnica utilizada, el tiempo quirúrgico y la inflamación y la neovascularización postoperatoria. También se han relacionado otros factores como el estado conjuntival del receptor, la exposición al sol en el postoperatorio, la raza y la edad (*fig. 30*).



Figura 30
Recidiva pterigion.

Edad y raza

La recurrencia en la cirugía del pterigion se ha asociado a pacientes más jóvenes y a los de la etnia hispano-latina y negra frente a los caucásicos.^{135,136} En este trabajo, ni el objetivo primario ni los secundarios consistían en correlacionar estas variables con la recurrencia, y su registro se basó en valorar la homogeneidad de la muestra confirmando valor a la comparación de los dos grupos.

Características del pterigion

Las características del pterigion pueden condicionar la técnica quirúrgica en cuanto al tamaño de la resección, el tiempo quirúrgico, el uso de la coagulación y la inflamación postoperatoria. En el estudio se registró el tamaño de la lesión, similar entre los dos grupos, pero no se contemplaron otras características de su morfología. Esto puede suponer una limitación y debería haberse clasificado la enfermedad en base a variables como la carnosidad, vascularización y transparencia tisular del cuerpo, que han demostrado condicionar los resultados finales.²⁵

Técnica quirúrgica

El hecho del único cirujano con suficiente pericia en este tipo de intervenciones presupone tanto la uniformidad de la intervención entre los diferentes sujetos como la aplicación de las premisas quirúrgicas capaces

de minimizar el índice de recidiva: manipulación cuidadosa, limitación del uso de la cauterización y realización de una extensa tenectomía.

Una reflexión similar se establece con el tiempo quirúrgico que, a pesar de no haberse registrado, no se estima que haya sido prolongado ni variable dentro de la muestra tras considerar el único cirujano, el mismo método de adhesión del injerto y el similar tamaño de la resección tisular intraoperatoria entre los sujetos.

Con el objetivo de mejorar la recuperación fisiológica tras la cirugía de pterigion se ha implementado el uso de tejidos sanos cubriendo la esclera desnuda después de la escisión. La naturaleza de estos injertos es muy variable y, partiendo de la base que el AIC es el más efectivo, en este trabajo se analiza la m-PRGF en comparación con el TMA.

Los resultados de recidiva en el grupo tratado con la MA, 7,1%, están dentro de la gran variabilidad descrita bibliográficamente para el TMA tras la cirugía del pterigion primario, intervalo que oscila entre el 4%¹²⁸ y el 60%.¹²⁹ Se asume que el resultado representa al conocimiento científico confiriendo validez al control y desestimando que sea un posible sesgo en la naturaleza comparativa del trabajo. La recurrencia con la m-PRGF, 14,3%, no es comparable con la literatura ya que no existen trabajos realizados con esta técnica y casuística suficiente para poder extrapolar. A pesar de no existir diferencias estadísticamente significativas ($p=0.34$) los resultados de la variable entre los dos procedimientos no deben desestimarse porque en la MA son la mitad que en el grupo de concentrado plaquetario. Las características anatómicas de la MA hacen que, mecánicamente, actúe como un mejor sustrato que la m-PRGF favoreciendo una regeneración tisular más fisiológica pudiendo reducir la recidiva.

Inflamación postoperatoria

La inflamación juega un papel esencial tanto en la patogénesis del pterigion primario, de naturaleza proliferativa e inflamatoria en vez de degenerativa, como en la progresión y el desarrollo de la recurrencia. El origen de esta inflamación depende de la propia técnica quirúrgica, con las características y limitaciones ya comentadas en el apartado anterior,

pero puede verse modulada por el injerto empleado. Considerando la homogeneidad de la muestra entre los dos grupos, que igualan la repercusión de los factores anteriores en la recidiva, podemos atribuir las diferencias encontradas a la naturaleza del injerto tisular empleado, pero, en este campo, quedan muchos elementos por conocer.

La actividad antiinflamatoria del PRGF se explica por la ausencia de células de la serie blanca que comporta valores disminuidos de IL-6, e indetectables de algunas citoquinas proinflamatorias, como la IL-1 β , comparando con otros concentrados plaquetarios.¹³⁷ Al mismo tiempo, el PRGF tiene la capacidad de reducir la expresión de la ciclooxigenasa 2 (COX-2) y la molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1), aminorando el estado inflamatorio celular inducido por la IL-1 β y el factor de necrosis tumoral β (FNT- β) cuya expresión se encuentra aumentada en el pterigion y en el proceso de recidiva.¹³⁸ También se sabe que en estos preparados existen mecanismos de coregulación como el que ejerce el HGF que, a través del factor de transcripción nuclear kappa, suprime la acción proinflamatoria del VEGF.

No hay estudios que evalúen la respuesta inflamatoria tras la cirugía de pterigion con injerto de PRGF, ni con ningún otro tipo de concentrado plaquetario. En cambio, este análisis sí se ha llevado a cabo en casos de injerto de MA y es bien conocido la presencia de inflamación conjuntival alrededor del área quirúrgica, más intensa en los bordes de la escisión, en aproximadamente la mitad de los casos de pterigion operados con TMA, pudiendo persistir hasta 3 meses después de la cirugía.¹³⁹ Comparando esta inflamación postoperatoria del implante de MA frente el AIC, se constatan valores del 84% y 15% respectivamente, al mes de la cirugía, pese a la retirada precoz de suturas.¹⁴⁰ Probablemente esto sea debido a que la MA contiene tanto citoquinas antiinflamatorias, IL-10 e IL-1 α , como proinflamatorias, IL-6 e IL-8, con un mecanismo global final parcialmente desconocido.¹¹⁶ Así, a pesar de las propiedades antiinflamatorias de la MA universalmente alabadas, hay factores incógnitos que condicionan esta acción, como serían la naturaleza del sistema inmune del propio paciente, las particularidades de la enfermedad o las variaciones del injerto en las moléculas relacionadas con la inflamación, bien sea por las características de la donante o por el periodo/método de conservación. Es posible que algo parecido suceda con el PRGF, existiendo perfiles más anabólicos antiinflamatorios y proregenerativos respecto a otros

completamente catabólicos, proinflamatorios y profibróticos, según diferentes particularidades del sujeto. Por otro lado, también se conoce que el potencial efecto de las proteínas plaquetarias está muy limitado en el tiempo porque, a pesar que la membrana puede ser un teórico soporte para su acción, estas pequeñas partículas solubles se liberan demasiado rápido durante la polimerización y no se conoce cuantas se integran en el interior de la matriz de fibrina.¹⁴¹ Esto podría compensarse con el uso mantenido del colirio de PRGF, que garantizaría el acceso prolongado de todos los componentes a la SO, aunque sin conocer exactamente su composición. A la vez, se estima que, más que la concentración de plaquetas, los efectos de los preparados se deben a la interacción de las proteínas, factores de crecimiento, matriz de fibrina y componentes celulares en el producto final, y las variaciones que todo ello puede comportar.

Neovascularización postoperatoria

El VEGF es uno de los principales mediadores tanto de la angiogénesis como de la estimulación fibroblástica y el remodelado tisular, y hay autores que debido a su sobre-expresión en el pterigion recidivado defienden la importancia de la neovascularización en la recurrencia de la enfermedad.¹⁴²

El PRGF actúa en el remodelado vascular pero sin inhibir la formación ni de neovasos ni del VEGF, al contrario, este factor de crecimiento es uno de los más abundantes en su composición.¹⁴³

En la literatura hay trabajos contradictorios sobre los efectos de la MA en la neovascularización, debatiendo sobre una acción más proangiogénica o más antiangiogénica. Recientemente, se ha comprobado, in vitro, la presencia de grandes cantidades de trombospondina en dicha membrana que inhiben la secreción de VEGF por parte de los macrófagos, confirmando su acción antiangiogénica.¹⁴⁴

Con ello se podría atribuir un mayor riesgo de recidiva con el uso del m-PRGF que con el TMA al favorecer la neovascularización.

La falta de conocimiento de los factores predisponentes y la fisiopatología del proceso de recidiva, añadido al desconocimiento ante

el procedimiento específico de actuación de ambos injertos, así como su composición exacta, hace difícil extraer conclusiones sobre la fisiología de los resultados, más allá de la observación de la evolución clínica. Así, se puede resumir que ambos injertos tienen capacidad antiinflamatoria contribuyendo a limitar la aparición de recidivas, la MA tiene más capacidad de inhibir la neovascularización mientras que la membrana de PRGF provoca un remodelado vascular y mecánicamente el TMA actúa de forma más fisiológica favoreciendo la regeneración. Todo esto puede explicar la disparidad de los resultados en la recurrencia que, a pesar de que no suponga significación estadística, son prácticamente el doble con la m-PRGF respecto a la MA.

Son precisos más estudios y con tamaños muestrales mayores para detectar diferencias más pequeñas. Los beneficios también serían superiores si se clasificase la enfermedad en base a características morfológicas reflejo del estado inflamatorio preoperatorio, pudiendo establecer conclusiones para cada subgrupo, así como conocer la influencia del estado inflamatorio previo a la cirugía en el comportamiento del injerto.

6.3.2 Variable secundaria: Tiempo de epitelización

La ausencia de diferencias, en cuanto al tiempo de cierre epitelial del defecto conjuntival con los dos procedimientos, demuestran un efecto parecido en la epitelización. Los valores, en días, presentan bastante variabilidad, aunque esta desviación es similar entre ambos grupos.

Tanto los concentrados plaquetarios, en concreto el PRGF, como la MA se han usado en diferentes campos de la medicina como injertos por su capacidad para favorecer la epitelización. En ambos casos, esta aptitud se asocia a una acción mecánica, una membrana que actúa como sustrato a las células epiteliales, y a un efecto quimiotáctico por el aporte de factores de crecimiento. Tener un entorno hostil no ayuda a la replicación y diferenciación de las células epiteliales, así que, tener la virtud de disminuir los mediadores inflamatorios también contribuye en el tiempo de epitelización, y la relación de ambos injertos en este punto se ha discutido ampliamente en el apartado anterior.

Diferentes trabajos preliminares ponen de manifiesto la utilidad del PRGF ante la epitelización, ya que el ojo es un tejido diana con receptores para

varias familias de factores de crecimiento como son el EGF, PDGF, FGF, IGF y β -TGF. En modelos animales se ha demostrado que el colirio de PRGF aporta EGF que acelera la epitelización corneal en un 30% de los casos.¹⁰¹ Por otro lado, la m-PRGF es capaz de retener en su interior, durante más de 1 semana, al menos el 30% de los factores de crecimiento que tiene el plasma tras la centrifugación y activación plaquetaria, es decir, EGF, PDGF, HGF, IGF, VEGF y β -TGF entre otros.¹⁴⁵ Esta membrana tridimensional, enriquecida en FCP y proteínas, favorece la epitelización con control de la migración y morfogénesis celular por parte del HGF.

A pesar de lo descrito, hubiera cabido esperar que el proceso de epitelización fuese más rápido con el uso de la MA porque, además de la gran cantidad de factores de crecimiento de sus células epiteliales, presenta una ultraestructura anatómica similar a la conjuntiva normal, formada por un epitelio y una verdadera membrana basal con colágeno tipo IV que aumenta la adhesión celular siendo, teóricamente, mejor sustrato mecánico para el crecimiento de las células epiteliales que la malla de fibrina. Los resultados obtenidos en el estudio no respaldan este pensamiento y se hipotetiza un probable efecto sinérgico de varios de los factores de crecimiento en el PRGF, así como la interacción de otros agentes como las proteasas que inhiben las proteínas de la MEC, pudiendo potenciar el proceso de epitelización con este injerto.

Paralelamente, se conoce que la MA se mantiene en la superficie ocular entre 10 días y tres semanas dependiendo de la inflamación, mientras que la malla de fibrina se reabsorbe mucho más rápido, muchas veces desapareciendo en los primeros 5 días (*fig. 31*). Es posible que esto no condicionase los resultados del estudio porque el tratamiento coadyuvante con colirio enriquecido en FCP, aunque sin efecto mecánico, garantizó el aporte mantenido de factores de crecimiento a lo largo del tiempo asegurando favorecer la epitelización, sin embargo, no existen datos sobre los efectos de una posible sobredosificación por estas sustancias.

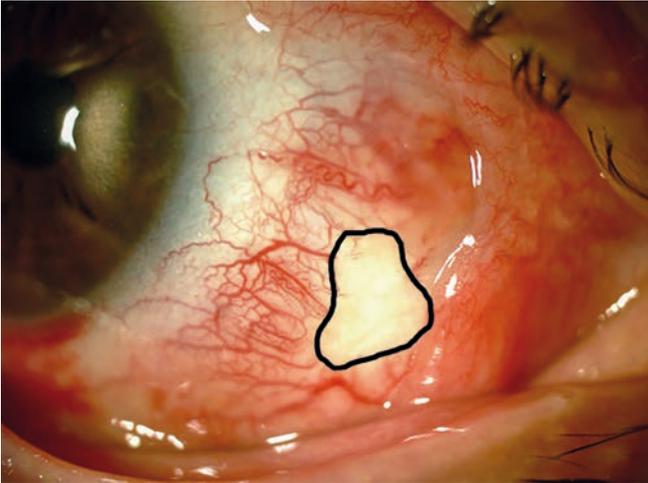


Figura 31. A la semana de postoperatorio con m-PRGF, no se observan restos de la membrana y existe defecto epitelial en la zona pericaruncular (marcado).

La variabilidad de los resultados en la epitelización, además de deberse a la diversidad en las características del huésped y a la capacidad de los antiinflamatorios de debilitar el efecto de los FCP, debe atribuirse a la variabilidad de los propios injertos. Las diferencias individuales en la polimerización y la activación plaquetaria influyen considerablemente en las propiedades mecánicas y biológicas de la matriz de PRGF final, condicionando su estabilidad y permanencia en la SO, así como la cantidad y actividad de los FCP. Por otro lado, asegurar una muestra libre de leucocitos es imprescindible para no inferir modificaciones en dichos factores de crecimiento.¹⁴⁶ Los cambios, ya referidos, en las características de la MA también influyen en la epitelización, tanto en el efecto mecánico como en la acción molecular por oscilaciones en la concentración algunos elementos, como el EGF y el β -TGF.¹¹⁶

Ambos injertos presentan tiempos de epitelización alargados, ninguno ha demostrado ser ventajoso a pesar de las diferencias en los factores de crecimiento y su función, y las características intrínsecas de la membrana. La gran variabilidad responde a la falta de estandarización de los procesos de ambos tejidos conforme a sus propiedades anatómicas y moleculares, pero sin crear diferencias para establecer una superioridad.

Aunque en la bibliografía no se ha establecido la correlación entre el tiempo

de epitelización y la recidiva, es lícito pensar que mientras existe defecto epitelial se perpetúa la respuesta inflamatoria y se activa el proceso de transición epitelial mesenquimal (TEM) que estimulan la proliferación fibrovascular. Aún y así, existe la posibilidad que este proceso pueda estar más o menos inhibido por otras moléculas de los injertos implantados, si se mantienen el tiempo suficiente en la SO.

6.3.3 Variable secundaria: Complicaciones

La mayor parte de las publicaciones sobre complicaciones en cirugía del pterigion primario se centran en la recidiva y se basan en la técnica más estandarizada, el AIC. En este trabajo, los resultados, en cuanto a la presencia o ausencia de complicaciones, demuestran una prevalencia parecida a la descrita en la literatura, alrededor del 20%,¹⁴⁷ aunque con diferente distribución. Habitualmente la complicación más frecuente es la recidiva y después la HTO, mientras que en el estudio el granuloma fue la complicación más prevalente, por delante de la recurrencia, en los dos brazos de intervención.

Comparando los dos grupos de sujetos, en el de m-PRGF hay una significativa mayor incidencia de complicaciones ($p=0,011$), debido a una aparición significativamente mayor de HTO, y también a la existencia de más casos de granuloma conjuntival.

HTO

Antes de la intervención todos los sujetos presentaban una TO normal sin el uso de fármacos hipotensores, y la HTO postoperatoria (6,7%) no se atribuye ni al procedimiento quirúrgico en sí ni a la naturaleza del injerto utilizado, sino que se imputa al tratamiento antiinflamatorio pautado. Los pacientes recibieron, como protocolo terapéutico postoperatorio, dexametasona a dosis descendientes durante 10-12 semanas y este fármaco, un análogo sintético hidrosoluble de la hidrocortisona, provoca aumentos de la TO en 1/3 de la población, los denominados “respondedores a los corticoides”, y en un 5% con valores por encima de los 30 mmHg, es decir, “altos respondedores”.¹⁴⁸

Comparando los resultados del EC con lo referenciado en la literatura se pone de manifiesto una discrepancia en la prevalencia de la hipertensión ocular inducida por corticoides (HTOIE), un 6,7% respecto al 33% supuesto. La explicación de estos hallazgos se sustenta en tres pilares:

- **La edad de los pacientes.** La edad media del estudio fue de 45 años mientras que la HTOIE se presenta, a parte de por otros factores de riesgo, siguiendo un comportamiento bimodal en lo referente a la distribución etaria: infancia o edad avanzada.¹⁴⁹ Con esto puede asumirse que el grupo de edad que recoge el estudio es candidato a presentar una prevalencia más reducida de este efecto secundario.
- **La falta de cumplimiento del tratamiento,** sobretodo a partir de las primeras semanas cuando desaparecen las molestias postoperatorias y el aspecto conjuntival se normaliza. En cualquier caso, los evaluadores tuvieron en consideración otros dos métodos indirectos para valorar el cumplimiento de tratamiento, la entrevista médica y la mejora de la inflamación de la SO, y se cuantificó la falta de seguimiento de la pauta prescrita en un 13,3%. Suponer que ha existido una falta de cumplimiento es creer que los otros dos sistemas de valoración del cumplimiento han errado.
- **El absentismo en consultas externas.** La muestra del estudio estaba mayoritariamente formada por pacientes jóvenes que, al no frecuentar habitualmente las consultas externas, constituyen el grupo de mayor riesgo de ausencia a las citas programadas en nuestra área sanitaria. A pesar de ser un parámetro no analizado en este trabajo sí se tiene la impresión de que, una vez superado el postoperatorio inicial con mayor impacto clínico, tanto estético como sintomatológico, el índice de reprogramación y el absentismo en las citas médicas no es despreciable.

LA HTOIE suele aparecer a las 3-6 semanas del inicio del tratamiento esteroideo¹⁴⁹ y sólo con que los sujetos del estudio perdiesen la visita de las 4-5 semanas ya supondría un sesgo en la detección del posible aumento tensional.

Alguno de estos factores, o la combinación de varios de ellos, condicionan la prevalencia de la HTOIE en los pacientes intervenidos de pterigion en este trabajo y, probablemente, en otros que refieren prevalencias semejantes, 10%.¹⁴⁷

Por otro lado, existen diferencias significativas de la distribución de esta variable entre los dos grupos de tratamiento ($p=0,048$) a favor de los sujetos con m-PRGF que tuvieron mayor porcentaje de HTOIE que los de MA. Esta desigualdad no es atribuible ni a la edad ni al cumplimiento, ya que no fueron variables discrepantes entre los dos grupos, y es posible que se deba a menos absentismo o a dosis más altas de corticoides en los sujetos con m-PRGF. El colectivo con el tratamiento experimental presentó mayores índices de granulomas, en estos casos la actitud terapéutica es aumentar la dosis de corticoides tópicos y se pueden generar dos consecuencias: primero, mejorar la detección de la HTOIE por mayor adherencia a las visitas en este colectivo por responsabilidad ante el control de una complicación y, segundo, más dosis de esteroides que influyen en el incremento de la tensión ocular.

En consecuencia, se puede aceptar que esta variable y su distribución desigual no representan un sesgo en el objetivo principal del estudio, atribuyendo la HTO a los esteroides, sin vinculación con la cirugía ni el injerto implantado, y las diferencias entre los grupos se asocian a la actitud terapéutica ante la aparición de granulomas y/o al absentismo en la consulta.

Granuloma conjuntival

Los resultados de esta variable demuestran que no se trata de una complicación infrecuente tras la escisión del pterigion primario, tal y como refieren algunos autores.^{150,151} De hecho, es la complicación más frecuente en los dos grupos, con ciertas diferencias entre ellos que están en el borde de la significación ($p=0,081$).

Aunque el origen de los granulomas conjuntivales (GC), en general, permanece sin dilucidar,¹⁵² el propio acto quirúrgico puede conllevar a un desequilibrio angiogénico durante la reparación tisular comportando la aparición de esta tumoración con características histológicas inflamatorias.¹⁵² En la cirugía del pterigion primario se han descrito

diferentes factores relacionados con su aparición:

- El primero de ellos es la presencia de cuerpos extraños como las fibras sintéticas, el talco y la sutura y sus diferentes materiales que parecen aumentar el riesgo de aparición de GC frente a los adhesivos tisulares.¹²¹ La alta incidencia de GC en la muestra de estudio no queda justificada con este argumento ya que todos los procedimientos se llevaron a cabo con un pegamento de fibrina sin usar suturas de refuerzo o aproximación.
- Otros factores estimulantes de la proliferación inflamatoria y la neovascularización son la resección incompleta del tejido fibrovascular subconjuntival y el trauma del endotelio vascular.¹⁵³ La intervención se llevó a cabo por un cirujano experto en este tipo de procedimiento sin índices altos de GC en la práctica habitual con el AIC, de manera que se presupone que esta no es la causa del origen.
- La cobertura completa de la esclera desnudada es imprescindible para evitar una respuesta inflamatoria exagerada que pueda conducir al desarrollo del GC. Ambos injertos se reabsorben en el postoperatorio limitando sus efectos sobre la epitelización, tal y como se ha descrito anteriormente, de manera que durante un periodo de tiempo más o menos prolongado una sección escleral, normalmente la zona pericaruncular, permanece desnuda. La m-PRGF se absorbe antes que la MA y, aunque esto no ha tenido efectos sobre el tiempo de epitelización, puede justificar la mayor prevalencia de GC en este grupo de tratamiento. El hecho de coadyuvar el uso de colirio de PRGF en el grupo experimental, prolongando el aporte de factores de crecimiento, no parece influir favorablemente.
- La falta de tratamiento antiinflamatorio también se ha descrito como un condicionante ante esta complicación, pero en la mayoría de los casos, alrededor 88% se cumplió la pauta del protocolo que comprendía dosis elevadas de corticoesteroides, sin diferencias entre los grupos, así que no justifica la diversidad de la incidencia de GC.

A parte de todos estos factores no debe obviarse la naturaleza del propio injerto y sus propiedades.

Wang et al.,¹⁵⁴ recientemente, han puesto de manifiesto que en el contexto de tejido de granulación e infiltrado inflamatorio el epitelio del GC difiere fenotípicamente del epitelio tanto de la conjuntiva normal como del pterigion. Los autores, gracias a sus hallazgos en la expresión génica y características de la membrana basal, relacionan esta variación con la existencia de un proceso de transición epitelial mesenquimal (TEM) muy alargado cuando se desarrolla el granuloma. Este procedimiento, propio del tejido epitelial, se activa para una autoreparación ante un daño epitelial, así que este proceso estará activo mientras exista defecto epitelial. Las diferencias, al borde de la significación, encontradas entre los dos grupos, 24,4% en el de m-PRGF frente a 7,1% en el de MA, se explicarían con una diferencia en la activación del TEM debida a la ultraestructura del injerto. Anatómicamente, la MA es más similar a la conjuntiva normal que, aunque no ha demostrado acortar el tiempo de epitelización, podría aportar un fenotipo más real limitando el desarrollo del GC, a diferencia de la m-PRGF sin membrana basal, fenotípicamente más dispersa, pudiendo activar de forma más relevante la TME. Esto explicaría las diferencias existentes entre los dos grupos de tratamiento.

Otras complicaciones

La dehiscencia del injerto, la infección, la escleritis y el simblefaron son complicaciones raras en las referencias bibliográficas, y no se dieron en este estudio.

6.3.4 Variable secundaria: Cicatrización

Una de las principales preocupaciones en los pacientes con pterigion es el aspecto estético, así que el resultado de la cicatrización condiciona el éxito y la satisfacción tanto del facultativo como de los usuarios. El injerto ideal debería garantizar un proceso de regeneración tisular exento de cicatrices, limitando tanto la aparición de fibrosis y como de neovasos (*fig. 32*).



Figura 32. Aspecto ocular después de 1 año de cirugía de pterigion A: con injerto de MA. B: con injerto de m-PRGF.

Los resultados, a pesar de que la presencia de cicatrización tuvo prácticamente la misma penetrancia en los dos grupos, sí ponen de manifiesto una cierta distribución desigual en la escala diseñada internamente, de la que se extrae que el proceso de cicatrización fue menos controlado en el grupo experimental, con membrana y colirio de PRGF, donde los pacientes tuvieron más fibrosis y neovasos ya fueran visibles o no macroscópicamente.

Con el objetivo de analizar los resultados dividimos el procedimiento de cicatrización en dos procesos, la neovascularización y la fibrosis:

- Respecto a la vascularización es sabido que el PRGF mantiene un equilibrio en el proceso angiogénico por una asociación ambivalente entre factores proangiogénicos (β -TGF, VEGF) y factores antiangiogénicos (tromboglobulinas, trombospondina).¹⁴³ Así, se puede asumir que participa de la remodelación vascular pero no inhibe la formación de neovasos durante el proceso de reparación tisular.
- Contrariamente, la MA actúa inhibiendo la neovascularización debido a la producción de potentes componentes antiangiogénicos como trombospondina 1, endostatina e inhibidores tisulares de metaloproteasas.⁴⁶ Esto explica que, dentro de los sujetos que presentaron cicatrización, los tratados con el concentrado plaquetario tuvieron más incidencia de neovasos.
- Los concentrados plaquetarios basan su acción en los factores de crecimiento y citoquinas almacenadas en los α -gránulos del

citoplasma de las plaquetas. Los diferentes factores promueven de forma precoz y mantenida la proliferación celular, como los fibroblastos, para obtener la reparación tisular al producir moléculas como el colágeno tipo I, principal componente de la MEC. La producción excesiva de colágeno tipo I conducirá a la fibrosis y, por otro lado, la capacidad angiogénica y los vasos formados proporcionan nutrientes que también favorecen la rápida proliferación de los fibroblastos. En consecuencia, parece propio asumir que con este tipo de tratamiento no sea raro encontrar cicatrices fibrosas de menor o mayor magnitud. Antagónicamente, la MA se ha usado con éxito tras amplias resecciones conjuntivales gracias a su capacidad de reducir la formación de cicatrices, aunque, tal y como se explica en el capítulo de la introducción, no se conoce el mecanismo exacto. Este efecto puede ser mecánico, actuando el colágeno como barrera ante la formación de fibrosis, o molecular con la inhibición del β -TGF por los factores de crecimiento epiteliales, o de la formación del tejido fibrótico por parte de las citoquinas.^{44,45} Esta acción impacta tanto sobre los fibroblastos en contacto con la matriz estromal de la membrana como los más alejados, en estos de forma menos potente.

Paralelamente también se ha relacionado de forma estrecha la activación del TEM con procesos fibróticos en diferentes órganos, ya que impide al epitelio formar una capa madura.¹⁵⁵ Así, una desigualdad en esta activación, tal y como se ha justificado en el capítulo del granuloma, puede explicar las diferencias entre los dos grupos.

Por ello, es adecuado pensar que un injerto que provoque la inhibición de la angiogénesis y la infraregulación del β -TGF, manteniendo el balance de la producción de colágeno tipo I, así como la limitación de la activación del TEM, obtendría mejores resultados en el postoperatorio del pterigion, donde el control de la neovascularización y la fibrosis constituye un reto. Así, teóricamente, se podrían esperar grandes desigualdades en la cicatrización entre los dos grupos del EC, pero paradójicamente se encontraron disparidades significativas en cuanto al número de sujetos concicatrización, aunque sí cierta distribución desigual. Dicha disociación teórico-práctica puede deberse a la existencia de una gran diversidad en la participación de los fibroblastos y las células endoteliales en el proceso reparador. El mayor conocimiento de la biología molecular y

celular ha permitido saber que la respuesta de estas células a los factores de crecimiento es variable, condicionada, probablemente, por una especificidad tisular, es decir, el entorno y la ubicación anatómica.¹⁵⁶ Con ello, se puede asumir que a nivel ocular la respuesta es más bien limitada, independientemente del injerto que pueda inhibir más o menos el proceso de cicatrización, y además existen los factores del huésped que también pueden influir limitando, en mayor o menor grado, los componentes menos deseables de la cascada.

En consecuencia, se debería aumentar la investigación de la respuesta celular individualizándola por tejido, enfermedad y huésped, así como correlacionándola con los diferentes tipos de concentrados plaquetarios para establecer claras conclusiones. En los últimos años se aboga por la introducción de otros componentes en estos preparados, como los leucocitos que teóricamente intensifican el proceso de cicatrización promoviendo la quimiotaxis y la angiogénesis gracias a la liberación de VEGF y TGF,⁸¹ y quizás empeorando la cicatrización.

6.4

Limitaciones del estudio

Una limitación del estudio es el tamaño de la muestra que, a pesar de tener un buen valor tanto de potencia estadística como de nivel de seguridad y ser superior a la mayor parte de trabajos publicados en la literatura sobre el tema, debería ser más grande para hacer estimaciones más precisas con menos margen de error. Una muestra considerablemente mayor permitiría detectar diferencias menores entre ambos procedimientos y otorgar, o no, significación estadística a las diferencias encontradas entre ellos en las variables.

El periodo de seguimiento también puede suponer una barrera ya que, aunque fue por encima de los seis meses que es donde acontecen la mayoría de las recidivas, no se puede descartar la aparición de recurrencias a posteriori. Si todos los sujetos se hubiesen controlado durante un periodo mínimo de un año se hubieran detectado más del 97% de las recurrencias.

No haber clasificado y aleatorizado a los participantes en base a las características morfológicas del pterigion previas a la cirugía, tales como la carnosidad, la vascularización y la transparencia del cuerpo, condicionantes del estado inflamatorio preoperatorio, constituye una limitación no despreciable por su capacidad de inferir en el resultado postquirúrgico. Esta graduación previa hubiera permitido establecer conclusiones para los diferentes subgrupos de pterigion.

Desconocer la composición molecular exacta de cada uno de los injertos como tejido vivo, supone una restricción para estandarizar los resultados. Las variaciones dependen de múltiples factores

relacionados con el donante que, oscilando entre un perfil más anabólico antiinflamatorio y proregenerativo, y otro completamente catabólico proinflamatorio y profibrótico, dificultan la homogeneización. Esto es más relevante en el caso de los concentrados plaquetarios donde existe una gran diversidad de productos y, aunque se consideran un medicamento, no son preparados farmacológicos porque se desconoce su concentración y composición, y no existe consenso sobre las variables a evaluar para definir estos parámetros. Todo esto hace difícil poder establecer una dosificación correcta y limitar la sobredosificación.

En el estudio sólo se ha incluido un tipo de concentrado plaquetario con una tecnología y procesamiento muy concreto, el PRGF, por lo que no se pueden extrapolar los resultados a todos los tipos de medicamentos derivados de las plaquetas.

La falta de conocimiento sobre la fisiopatología del pterigion y la cascada específica de eventos en diferentes circunstancias como la recidiva, no permite definir con certeza los requisitos requeridos para un injerto ideal, así como las aportaciones y probable potencial de cada uno de los tejidos utilizados.

6.5

Aportaciones del estudio

El injerto de MA no es la técnica de elección en la cirugía del pterigion primario, pero sí es una sólida alternativa en casos de lesiones muy extensas, doble cabeza y pacientes que podrían necesitar cirugía de glaucoma. En el trabajo se busca una opción a este procedimiento quirúrgico y es la primera vez que se realiza un ensayo clínico comparativo de un concentrado plaquetario, en concreto el PRGF, con otro tipo de injerto en la cirugía del pterigion.

Los resultados proporcionan una alternativa segura y eficaz a la MA en la cirugía del pterigion primario, el PRGF en su formato membrana y colirio conjuntamente. Es una opción de tejido autólogo para la reconstrucción de la superficie ocular siendo mejor que un injerto homólogo o sintético. De la misma manera, también puede suponer una elección terapéutica a considerar ante otros procedimientos quirúrgicos oculares.

El protocolo de obtención del PRGF aporta ventajas ante los otros concentrados plaquetarios, concretamente respecto a una completa estandarización del proceso que garantiza la reproductibilidad, la ausencia del uso de trombina bovina y la posibilidad de generar en el mismo acto la membrana y el colirio pudiendo ser complementarios en los tratamientos.

Este concentrado plaquetario proporciona unas ventajas sobre la membrana amniótica:

- Es autólogo, de manera que se descarta el riesgo potencial de transmisión de enfermedades.

- Es inmediato, sin la necesidad de la participación de instituciones externas, los bancos de tejidos, que puedan condicionar la implantación. Con el uso de la MA liofilizada comercializada esto ya no sería una diferencia entre ambos tejidos.
- Menos costes indirectos ya que no es necesario realizar ningún tipo de estudio serológico preimplantación, obligado normativamente ante el implante de un tejido heterólogo.
- Más fácil de adherir a la superficie ocular cuando se usa un adhesivo biológico. Su alto contenido en fibrina le confiere características adherentes, de manera es necesario menos cantidad de adhesivo y menos tiempo para que quede fijado.

CAPÍTULO
07 | **Conclusiones**

Conclusiones

Las principales conclusiones del estudio son:

En la cirugía del pterigion primario, el tratamiento combinado de membrana y colirio de plasma rico en factores de crecimiento no ha presentado, con la muestra analizada, diferencias significativas en los índices de recidiva respecto a la membrana amniótica. Así, se confirma la hipótesis nula, ambos injertos son igual de eficaces, pero hay que tener en cuenta la discrepancia en los valores porque el PRGF tiene el doble de recidivas que la MA.

A pesar de las diferencias anatómicas entre los dos tejidos, condicionantes del efecto mecánico del proceso de epitelización, el tiempo de crecimiento epitelial conjuntival sobre el implante usado no difiere y, esta variable, no supedita la recurrencia.

Ambos injertos son similares en términos de seguridad, presentan porcentajes parecidos de complicaciones una vez excluida la HTO que, aunque sí fue significativamente más prevalente en los casos con m-PRGF, se considera independiente del procedimiento quirúrgico en sí y del tipo de injerto utilizado.

Los dos implantes obtienen resultados estéticos finales satisfactorios con poca incidencia de cicatrización residual, respondiendo a uno de los principales objetivos ante el planteamiento quirúrgico de la enfermedad. En los sujetos con secuelas cicatriciales se observa una discreta distribución desigual de la intensidad comparando ambos grupos, siendo algo más leve con el uso de la MA.

El granuloma conjuntival fue la complicación que apareció más frecuentemente en los dos procedimientos terapéuticos, sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos, aunque, al igual que en la recidiva, la prevalencia en el grupo de concentrado plaquetario fue superior, 2,5 veces más. Esta variable no se relaciona con la recidiva.

CAPÍTULO

08 | **Trabajos futuros**

Trabajos futuros

El mundo de los concentrados plaquetarios está mediatizado por una elevada presión comercial que limita, en muchas ocasiones, la progresión de la investigación científica.

En este campo las líneas de trabajo deberían encaminarse a concretar los parámetros sanguíneos útiles para determinar la composición exacta de cada producto.

Por otro lado, tendrían que estudiarse los efectos sobre el comportamiento celular de cada una de las formulaciones existentes, para así estandarizarlas y valorar su aplicación en cada patología médica específica.

El pterigion y su tratamiento ocupan un elevado número de referencias bibliográficas en la comunidad científica, múltiples trabajos han ido describiendo y posicionando las diferentes opciones terapéuticas. Es novedoso y escaso el uso de concentrados plaquetarios en esta enfermedad y no existe ninguna publicación comparándolos con las alternativas terapéuticas habituales.

Siguiendo en la misma línea del trabajo y según los resultados obtenidos, la investigación futura que se propone es añadir tratamientos coadyuvantes al injerto de m-PRGF, con el objetivo de controlar la neovascularización y la inflamación, y evaluar la respuesta clínica comparándola con lo observado. Las opciones serían inyectar anti-VEGF y/o corticosteroides de liberación lenta subconjuntival al final la cirugía monitorizando cada una de las variables durante el seguimiento.

CAPÍTULO
09 | **Bibliografía**

Bibliografia

1. Di Girolamo, N., Chui, J., Coroneo, M. T. & Wakefield, D. Pathogenesis of pterygia: Role of cytokines, growth factors, and matrix metalloproteinases. *Progress in Retinal and Eye Research* vol. 23 195–228 (2004).
2. Austin, P., Jakobiec, F. A. & Iwamoto, T. Elastodysplasia and Elastodystrophy as the Pathologic Bases of Ocular Pterygia and Pinguecula. *Ophthalmology*. 90, 96–109 (1983).
3. Dushku, N. & Reid, T. W. Immunohistochemical evidence that human pterygia originate from an invasion of vimentin-expressing altered limbal epithelial basal cells. *Curr. Eye Res.* 13, 473–481 (1994).
4. Liu, L., Wu, J., Geng, J., Yuan, Z. & Huang, D. Geographical prevalence and risk factors for pterygium: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 3, (2013).
5. Detels, R. & Dhir, S. P. Pterygium: A Geographical Study. *Arch. Ophthalmol.* (1967) doi:10.1001/archophth.1967.00980030487014.
6. Rodríguez-Ares, M. T. Prevalence of pinguecula and pterygium in a general population in Spain. *Eye*. 25, 350–357 (2011).
7. Luthra, R., Nemesure, B. B., Wu, S. Y., Xie, S. H. & Leske, M. C. Frequency and risk factors for pterygium in the barbados eye study. *Arch. Ophthalmol.* (2001) doi:10.1001/archophth.119.12.1827.
8. A.S., C., M.C., C. & M.S.R., H. Solar keratosis, pterygium, and squamous cell carcinoma of the conjunctiva in Malawi. *Br. J. Ophthalmol.* (1979).
9. Di Girolamo, N., McCluskey, P., Lloyd, A., Coroneo, M. T. & Wakefield, D. Expression of MMPs and TIMPs in human pterygia and cultured pterygium epithelial cells. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* (2000).

10. Mackenzie, F. D., Hirst, L. W., Battistutta, D. & Green, A. Risk Analysis in the Development of Pterygia. *Ophthalmology* (1992) doi:10.1016/S0161-6420(92)31850-0.
11. Coroneo, M. T., Di Girolamo, N. & Wakefield, D. The pathogenesis of pterygia. *Current Opinion in Ophthalmology* (1999) doi:10.1097/00055735-199908000-00011.
12. Di Girolamo, N., Coroneo, M. T. & Wakefield, D. UVB-Elicited Induction of MMP-1 Expression in Human Ocular Surface Epithelial Cells Is Mediated through the ERK1/2 MAPK-Dependent Pathway. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* (2003) doi:10.1167/iovs.03-0356.
13. Zhou, W. P., Zhu, Y. F., Zhang, B., Qiu, W. Y. & Yao, Y. F. The role of ultraviolet radiation in the pathogenesis of pterygia (Review). *Molecular Medicine Reports* (2016) doi:10.3892/mmr.2016.5223.
14. Liu, L., Wu, J., Geng, J., Yuan, Z. & Huang, D. Geographical prevalence and risk factors for pterygium: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 3, e003787 (2013).
15. Tan, D. T. H., Tang, W. Y., Liu, Y. P., Goh, H. S. & Smith, D. R. Apoptosis and apoptosis related gene expression in normal conjunctiva and pterygium. *Br. J. Ophthalmol.* (2000) doi:10.1136/bjo.84.2.212.
16. Di Girolamo, N. Association of human papilloma virus with pterygia and ocular-surface squamous neoplasia. In *Eye* (2012). doi:10.1038/eye.2011.312.
17. Twelker, J. D., Bailey, I. L., Mannis, M. J. & Satariano, W. A. Evaluating pterygium severity: a survey of corneal specialists. *Cornea* 19, 292–6 (2000).
18. Lin, S., Reiter, K., Dreher, A. W., Frucht-Pery, J. & Feldman, S. T. The effect of pterygia on contrast sensitivity and glare disability. *Am. J. Ophthalmol.* 107, 407–410 (1989).
19. Lindsay, R. G. & Sullivan, L. Pterygium-induced corneal astigmatism. *Clin. Exp. Optom.* 84, 200–203 (2001).
20. Yagmur, M., Ozcan, A. A., Sari, S. & Ersöz, T. R. Visual acuity and corneal topographic changes related with pterygium surgery. *J. Refract. Surg.* 21, 166–70.
21. Maheshwari, S. Pterygium-induced corneal refractive changes. *Indian J. Ophthalmol.* 55, 383–6.
22. Hirst, L. W. The treatment of pterygium. *Survey of Ophthalmology* vol. 48 145–180 (2003).
23. KING, J. H. The pterygium; brief review and evaluation of certain methods of treatment. *AMA. Arch. Ophthalmol.* (1950) doi:10.1001/archophth.1950.00910020867008.

24. Sánchez-Thorin, J. C., Rocha, G. & Yelin, J. B. Meta-analysis on the recurrence rates after bare sclera resection with and without mitomycin C use and conjunctival autograft placement in surgery for primary pterygium. *Br. J. Ophthalmol.* (1998) doi:10.1136/bjo.82.6.661.
25. Tan, D. T. H., Chee, S. P., Dear, K. B. G. & Lim, A. S. M. Effect of pterygium morphology on pterygium recurrence in a controlled trial comparing conjunctival autografting with bare sclera excision. *Arch. Ophthalmol.* (1997) doi:10.1001/archopht.1997.01100160405001.
26. Hirst, L. W. Recurrence and complications after 1000 surgeries using pterygium extended removal followed by extended conjunctival transplant. *Ophthalmology* (2012) doi:10.1016/j.ophtha.2012.06.021.
27. Elwan, S. A. M. Comparison between sutureless and glue free versus sutured limbal conjunctival autograft in primary pterygium surgery. *Saudi J. Ophthalmol.* (2014) doi:10.1016/j.sjopt.2014.03.012.
28. Al Fayez, M. F. Limbal versus conjunctival autograft transplantation for advanced and recurrent pterygium. *Ophthalmology* (2002) doi:10.1016/S0161-6420(02)01160-0.
29. Davis, J. S. Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital. *Johns Hopkins Med. J.* (1910).
30. de ROTTH, A. PLASTIC REPAIR OF CONJUNCTIVAL DEFECTS WITH FETAL MEMBRANES. *Arch. Ophthalmol.* (1940) doi:10.1001/archopht.1940.00860130586006.
31. SORSBY, A. & SYMONS, H. M. Amniotic membrane grafts in caustic burns of the eye (burns of the second degree). *Br. J. Ophthalmol.* 30, 337–345 (1946).
32. Kim, J. C. & Tseng, S. C. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea.* 14, 473–84 (1995).
33. Danforth, D. N. & Hull, R. W. The microscopic anatomy of the fetal membranes with particular reference to the detailed structure of the amnion. *Am. J. Obstet. Gynecol.* (1958) doi:10.1016/0002-9378(58)90610-0.
34. Adinolfi, M. *et al.* Expression of HLA antigens, β 2-microglobulin and enzymes by human amniotic epithelial cells. *Nature* (1982) doi:10.1038/295325a0.
35. Akle, C. A., Welsh, K. I., Adinolfi, M., Leibowitz, S. & Mccoll, I. Immunogenicity of human amniotic epithelial cells after transplantation into volunteers. *Lancet* (1981) doi:10.1016/S0140-6736(81)91212-5.
36. Trelford, J. D., Hanson, F. W., Anderson, D. G. & Mendel, V. Implanted amniotic membrane as an autograft and as an allograft. *J. Med.* (1975).

37. Boudreau, N., Werb, Z. & Bissell, M. J. Suppression of apoptosis by basement membrane requires three-dimensional tissue organization and withdrawal from the cell cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (1996) doi:10.1073/pnas.93.8.3509.
38. Koizumi, N. *et al.* Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Curr. Eye Res.* (2000) doi:10.1076/0271-3683(200003)2031-9FT173.
39. Prabhasawat, P., Barton, K., Burkett, G. & Tseng, S. C. G. Comparison of conjunctival autografts amniotic membrane grafts, and primary closure for pterygium excision. *Ophthalmology* (1997) doi:10.1016/S0161-6420(97)30197-3.
40. Lwebuga-Mukasa, J. S., Thulin, G., Madri, J. A., Barrett, C. & Warshaw, J. B. An acellular human amniotic membrane model for in vitro culture of type ii pneumocytes: The role of the basement membrane in cell morphology and function. *J. Cell. Physiol.* (1984) doi:10.1002/jcp.1041210127.
41. Koizumi, N. *et al.* Amniotic membrane as a substrate for cultivating limbal corneal epithelial cells for autologous transplantation in rabbits. *Cornea* (2000) doi:10.1097/00003226-200001000-00013.
42. Na, B. K. *et al.* Analysis of human amniotic membrane components as proteinase inhibitors for development of therapeutic agent for recalcitrant keratitis. *Placenta* (1999) doi:10.1016/s0143-4004(99)80034-4.
43. Park, W. C. & Tseng, S. C. G. Modulation of acute inflammation and keratocyte death by suturing, blood, and amniotic membrane in PRK. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* (2000).
44. Tseng, S. C. G., Li, D. Q. & Ma, X. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF- β receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J. Cell. Physiol.* (1999) doi:10.1002/(SICI)1097-4652(199906)179:3<325::AID-JCP10>3.0.CO;2-X.
45. Li, D. -Q. & Tseng, S. C. G. Three patterns of cytokine expression potentially involved in epithelial-fibroblast interactions of human ocular surface. *J. Cell. Physiol.* (1995) doi:10.1002/jcp.1041630108.
46. Hao, Y., Ma, D. H. K., Hwang, D. G., Kim, W. S. & Zhang, F. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea* (2000) doi:10.1097/00003226-200005000-00018.
47. Talmi, Y. P., Sigler, L., Inge, E., Finkelstein, Y. & Zohar, Y. Antibacterial properties of human amniotic membranes. *Placenta* (1991) doi:10.1016/0143-4004(91)90010-D.

48. Tseng, S. C. G., Prabhasawat, P., Barton, K., Gray, T. & Meiler, D. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch. Ophthalmol.* (1998) doi:10.1001/archophth.116.4.431.
49. Uçakhan, Ö. Ö., Köklü, G. & Firat, E. Nonpreserved human amniotic membrane transplantation in acute and chronic chemical eye injuries. *Cornea* (2002) doi:10.1097/00003226-200203000-00008.
50. Singh, R. & Chacharkar, M. P. Dried gamma-irradiated amniotic membrane as dressing in burn wound care. *J. Tissue Viability* (2011) doi:10.1016/j.jtv.2010.06.001.
51. Nakamura, T. *et al.* Sterilized, Freeze-Dried Amniotic Membrane: A Useful Substrate for Ocular Surface Reconstruction. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* (2004) doi:10.1167/iovs.03-0752.
52. Allen, C. L. *et al.* Augmented dried versus cryopreserved amniotic membrane as an ocular surface dressing. *PLoS One* (2013) doi:10.1371/journal.pone.0078441.
53. Nouredin, G. S. & Yeung, S. N. The use of dry amniotic membrane in pterygium surgery. *Clinical Ophthalmology* (2016) doi:10.2147/OPHT. S80102.
54. Rodríguez-Ares, M. T. *et al.* Effects of lyophilization on human amniotic membrane. *Acta Ophthalmol.* (2009) doi:10.1111/j.1755-3768.2008.01261.x.
55. Tseng, S. C. G., Prabhasawat, P. & Lee, S. H. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am. J. Ophthalmol.* (1997) doi:10.1016/S0002-9394(14)71693-9.
56. Lee, S. H. & Tseng, S. C. G. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am. J. Ophthalmol.* (1997) doi:10.1016/S0002-9394(14)70125-4.
57. Kruse, F. E., Rohrschneider, K. & Völcker, H. E. Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. *Ophthalmology* (1999) doi:10.1016/S0161-6420(99)90444-X.
58. Pires, R. T. F. *et al.* Amniotic membrane transplantation for symptomatic bullous keratopathy. *Arch. Ophthalmol.* (1999) doi:10.1001/archophth.117.10.1291.
59. Gris, O. *et al.* Histologic findings after amniotic membrane graft in the human cornea. *Ophthalmology* (2002) doi:10.1016/S0161-6420(01)00969-1.

60. Gris, O. *et al.* Amniotic membrane implantation as a therapeutic contact lens for the treatment of epithelial disorders. *Cornea* 21, (2002).
61. Lee, S. B., Li, D. Q., Tan, D. T. H., Meller, D. & Tseng, S. C. G. Suppression of TGF- β signaling in both normal conjunctival fibroblasts and pterygial body fibroblasts by amniotic membrane. *Curr. Eye Res.* (2000) doi:10.1076/0271-3683(200004)2041-5FT325.
62. Clearfield, E., Hawkins, B. S. & Kuo, I. C. Conjunctival Autograft Versus Amniotic Membrane Transplantation for Treatment of Pterygium: Findings From a Cochrane Systematic Review. *Am. J. Ophthalmol.* (2017) doi:10.1016/j.ajo.2017.07.004.
63. Li, M. *et al.* Comparison of conjunctival autograft transplantation and amniotic membrane transplantation for pterygium: A meta-analysis. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* (2012) doi:10.1007/s00417-011-1820-8.
64. Rubinfeld, R. S. *et al.* Serious Complications of Topical Mitomycin-C after Pterygium Surgery. *Ophthalmology* (1992) doi:10.1016/S0161-6420(92)31749-X.
65. Murube, J. Pterygium: Its treatment with beta therapy. *Ocul. Surf.* (2009) doi:10.1016/S1542-0124(12)70287-2.
66. Kareem, A. A., Farhood, Q. K. & Alhammami, H. A. The use of antimetabolites as adjunctive therapy in the surgical treatment of pterygium. *Clin. Ophthalmol.* (2012) doi:10.2147/OPHTH.S38388.
67. Tsumi, E., Levy, J., Pitchkhadze, A., Baidousi, A. & Lifshitz, T. New approach for pterygium removal using 20 % ethanol. *Int. Ophthalmol.* (2012) doi:10.1007/s10792-012-9597-2.
68. Razeghinejad, M. R. & Banifatemi, M. Subconjunctival bevacizumab for primary pterygium excision; a randomized clinical trial. *J. Ophthalmic Vis. Res.* (2014).
69. Bayar, S. A., Kucukerdonmez, C., Oner, O. & Akova, Y. A. Subconjunctival bevacizumab in the impending recurrent pterygia. *Int. Ophthalmol.* (2014) doi:10.1007/s10792-013-9852-1.
70. Cox, C. A. *et al.* Doxycycline's effect on ocular angiogenesis: An in vivo analysis. *Ophthalmology* (2010) doi:10.1016/j.ophtha.2010.01.037.
71. Rúa, O., Larráyo, I. M., Barajas, M. T., Velilla, S. & Martínez, A. Oral Doxycycline Reduces Pterygium Lesions; Results from a Double Blind, Randomized, Placebo Controlled Clinical Trial. *PLoS One* (2012) doi:10.1371/journal.pone.0052696.
72. Mason, C. & Dunnill, P. A brief definition of regenerative medicine. *Regenerative Medicine* (2008) doi:10.2217/17460751.3.1.1.

73. Matras, H., Dinges, H. P., Mamoli, B. & Lassmann, H. Non-sutured nerve transplantation. a report on animal experiments. *J. Maxillofac. Surg.* (1973) doi:10.1016/S0301-0503(73)80010-4.
74. Hotz, G. Alveolar ridge augmentation with hydroxylapatite using fibrin sealant for fixation. Part I: An experimental study. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* (1991) doi:10.1016/S0901-5027(05)80175-4.
75. Hotz, G. Alveolar ridge augmentation with hydroxylapatite using fibrin sealant for fixation. Part II: Clinical application. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* (1991) doi:10.1016/S0901-5027(05)80176-6.
76. Whitman, D. H., Berry, R. L. & Green, D. M. Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J. Oral Maxillofac. Surg.* (1997) doi:10.1016/S0278-2391(97)90187-7.
77. Nurden, A. T., Nurden, P., Sanchez, M., Andia, I. & Anitua, E. Platelets and wound healing. *Frontiers in Bioscience* (2008) doi:10.2741/2947.
78. Nurden, A. T. Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb. Haemost.* (2011) doi:10.1160/THS10-11-0720.
79. Prakash, S. & Thakur, A. Platelet Concentrates: Past, Present and Future. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery* (2011) doi:10.1007/s12663-011-0182-4.
80. Clark, R. A. F. Fibrin and wound healing. in *Annals of the New York Academy of Sciences* (2001). doi:10.1111/j.1749-6632.2001.tb03522.x.
81. Li, Q. *et al.* Platelet-rich fibrin promotes periodontal regeneration and enhances alveolar bone augmentation. *Biomed Res. Int.* (2013) doi:10.1155/2013/638043.
82. Di Liddo, R. *et al.* Leucocyte and Platelet-rich Fibrin: a carrier of autologous multipotent cells for regenerative medicine. *J. Cell. Mol. Med.* (2018) doi:10.1111/jcmm.13468.
83. M. Dohan Ehrenfest, D. *et al.* Do the Fibrin Architecture and Leukocyte Content Influence the Growth Factor Release of Platelet Concentrates? An Evidence-based Answer Comparing a Pure Platelet-Rich Plasma (P-PRP) Gel and a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF). *Curr. Pharm. Biotechnol.* (2012) doi:10.2174/138920112800624382.
84. Dohan Ehrenfest, D. M., Rasmusson, L. & Albrektsson, T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology* (2009) doi:10.1016/j.tibtech.2008.11.009.
85. Magalon, J. *et al.* DEPA classification: a proposal for standardising PRP use and a retrospective application of available devices. *BMJ Open Sport Exerc. Med.* (2016) doi:10.1136/bmjsem-2015-000060.

86. Jo, C. H., Roh, Y. H., Kim, J. E., Shin, S. & Yoon, K. S. Optimizing platelet-rich plasma gel formation by varying time and gravitational forces during centrifugation. *J. Oral Implantol.* (2013) doi:10.1563/AAID-JOI-D-10-00155.
87. Anitua, E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Pract. Proced. Aesthet. Dent.* (2001).
88. Choukroun, J., Adda, F., Schoeffler, C. & Vervelle, A. Une opportunité en paro implantologie: le PRF. *Implantodontie* (2001).
89. Giannini, S. *et al.* Comparison between PRP, PRGF and PRF: Lights and shadows in three similar but different protocols. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* (2015).
90. Ghanaati, S. *et al.* Advanced platelet-rich fibrin: A new concept for cell-Based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J. Oral Implantol.* (2014) doi:10.1563/aaid-joi-D-14-00138.
91. Özdemir, B. & Ökte, E. Treatment of intrabony defects with beta-tricalciumphosphate alone and in combination with platelet-rich plasma. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* (2012) doi:10.1002/jbm.b.32660.
92. Camargo, P. M. *et al.* A Surgical Reentry Study on the Influence of Platelet-Rich Plasma in Enhancing the Regenerative Effects of Bovine Porous Bone Mineral and Guided Tissue Regeneration in the Treatment of Intrabony Defects in Humans. *J. Periodontol.* (2009) doi:10.1902/jop.2009.080600.
93. Salamanna, F. *et al.* New and emerging strategies in platelet-rich plasma application in musculoskeletal regenerative procedures: General overview on still open questions and outlook. *BioMed Research International* (2015) doi:10.1155/2015/846045.
94. Anitua, E. *et al.* Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* (2008) doi:10.1002/jbm.b.30886.
95. Man, D., Plosker, H. & Winland-Brown, J. E. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast. Reconstr. Surg.* (2001) doi:10.1097/00006534-200101000-00037.
96. Schettino, A. M., de Oliveira, D. F. V. & Franco, T. R. Uso de plasma autólogo em dermolipectomia abdominal - nota prévia. *Revista do Colegio Brasileiro de Cirurgioes* (2011) doi:10.1590/S0100-69912011000300012.
97. Anitua, E. *et al.* New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends in Biotechnology* (2006) doi:10.1016/j.tibtech.2006.02.010.

98. Sánchez, M., Anitua, E., Orive, G., Mujika, I. & Andia, I. Platelet-rich therapies in the treatment of orthopaedic sport injuries. *Sports Medicine* (2009) doi:10.2165/00007256-200939050-00002.
99. Anitua, E., Orive, G., Aguirre, J. J. & Andía, I. Clinical Outcome of Immediately Loaded Dental Implants Bioactivated With Plasma Rich in Growth Factors: A 5-Year Retrospective Study. *J. Periodontol.* (2008) doi:10.1902/jop.2008.070580.
100. Anitua, E., Muruzabal, F., Alcalde, I., Merayo-Llodes, J. & Orive, G. Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates corneal wound healing and reduces haze formation after PRK surgery. *Exp. Eye Res.* (2013) doi:10.1016/j.exer.2013.07.007.
101. Schultz, G. *et al.* Growth factors and ocular wound healing. *Eye* (1994) doi:10.1038/eye.1994.43.
102. Kitazawa, T. *et al.* The mechanism of accelerated corneal epithelial healing by human epidermal growth factor. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* (1990)
103. Barton, K., Nava, A., Monroy, D. C. & Pflugfelder, S. C. Cytokines and tear function in ocular surface disease. in *Advances in Experimental Medicine and Biology* (1998). doi:10.1007/978-1-4615-5359-5_6
104. Alio, J. L., Colecha, J. R., Pastor, S., Rodriguez, A. & Artola, A. Symptomatic dry eye treatment with autologous platelet-rich plasma. *Ophthalmic Res.* (2007) doi:10.1159/000100933.
105. López-Plandolit, S., Morales, M. C., Freire, V., Grau, A. E. & Durán, J. A. Efficacy of plasma rich in growth factors for the treatment of dry eye. *Cornea* (2011) doi:10.1097/ICO.0b013e31820d86d6.
106. Alio, J. L., 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) doi:10.3928/1081-597x-20070601-13.
107. Sanchez-Avila, R. M. *et al.* Plasma rich in growth factors membrane as coadjuvant treatment in the surgery of ocular surface disorders. *Med. (United States)* (2018) doi:10.1097/MD.00000000000010242.
108. López-Plandolit, S., Morales, M. C., Freire, V., Etxebarria, J. & Durán, J. A. Plasma rich in growth factors as a therapeutic agent for persistent corneal epithelial defects. *Cornea* (2010) doi:10.1097/ICO.0b013e3181a81820.
109. Lee, J. H., Kim, M. J., Ha, S. W. & Kim, H. K. Autologous Platelet-rich Plasma Eye Drops in the Treatment of Recurrent Corneal Erosions. *Korean J. Ophthalmol.* (2016) doi:10.3341/kjo.2016.30.2.101.

110. Alio, J. L., Rodriguez, A. E., Martinez, L. M. & Rio, A. L. Autologous fibrin membrane combined with solid platelet-rich plasma in the management of perforated corneal ulcers: A pilot study. *JAMA Ophthalmol.* (2013) doi:10.1001/jamaophthalmol.2013.2474.
111. Cakmak, H. B., Dereli Can, G., Can, M. E. & Cagil, N. A novel graft option after pterygium excision: Platelet-rich fibrin for conjunctivoplasty. *Eye*(2017) doi:10.1038/eye.2017.109.
112. Clark, H. D. *et al.* Assessing the quality of randomized trials: Reliability of the Jadad scale. *Control. Clin. Trials* (1999) doi:10.1016/S0197-2456(99)00026-4.
113. Sacristán, J. A. & Soto, J. *Evaluación crítica de ensayos clínicos. Publicado en Med Clin (Barc)* (1993).
114. Harloff, S. *et al.* Epitheliotropic capacity of serum eye drops from healthy donors versus serum from immunosuppressed patients with rheumatoid arthritis. *Klin. Monbl. Augenheilkd.* (2008) doi:10.1055/s-2008-1027199
115. Kruse, F. E. *et al.* Cryopreserved human amniotic membrane for ocular surface reconstruction. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* (2000) doi:10.1007/s004170050012.
116. Rahman, I., Said, D. G., Maharajan, V. S. & Dua, H. S. Amniotic membrane in ophthalmology: Indications and limitations. in *Eye* (2009). doi:10.1038/eye.2008.410.
117. Rodríguez Flores, J., Palomar Gallego, M. A. & Torres García-Denche, J. Plasma rico en plaquetas: Fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. *Rev. Esp. Cir. Oral y Maxilofac.* (2012) doi:10.1016/j.maxilo.2011.10.007.
118. Weibrich, G., Kleis, W. K. G., Hafner, G. & Hitzler, W. E. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* (2002) doi:10.1054/jcms.2002.0285.
119. Dragoo, J. L. *et al.* Comparison of the acute inflammatory response of two commercial platelet-rich plasma systems in healthy rabbit tendons. *Am. J. Sports Med.* (2012) doi:10.1177/0363546512442334.
120. Pan, H. W., Zhong, J. X. & Jing, C. X. Comparison of fibrin glue versus suture for conjunctival autografting in pterygium surgery: A meta-analysis. *Ophthalmology* (2011) doi:10.1016/j.ophtha.2010.10.033.
121. Romano, V., Cruciani, M., Conti, L. & Fontana, L. Fibrin glue versus sutures for conjunctival autografting in primary pterygium surgery. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2016) doi:10.1002/14651858.CD011308.pub2.

122. Marticorena, J. *et al.* Pterygium surgery: Conjunctival autograft using a fibrin adhesive. *Cornea* (2006) doi:10.1097/01.ico.0000164780.25914.0a.
123. Uy, H. S., Reyes, J. M. G., Flores, J. D. G. & Lim-Bon-Siong, R. Comparison of fibrin glue and sutures for attaching conjunctival autografts after pterygium excision. *Ophthalmology* (2005) doi:10.1016/j.ophtha.2004.08.028.
124. Clearfield, E., Muthappan, V., Wang, X. & Kuo, I. C. Conjunctival autograft for pterygium. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2016) doi:10.1002/14651858.CD011349.pub2.
125. Salman, A. G. & Mansour, D. E. The recurrence of pterygium after different modalities of surgical treatment. *Saudi J. Ophthalmol.* (2011) doi:10.1016/j.sjopt.2010.10.013.
126. Dua, H. S., Gomes, J. A. P., King, A. J. & Maharajan, V. S. The amniotic membrane in ophthalmology. *Surv. Ophthalmol.* (2004) doi:10.1016/j.survophthal.2003.10.004.
127. Mohd Radzi, H., Khairidzan, M. K., Mohd Zulfaezal, C. A. & Azrin, E. A. Corneo-ptyerygium total area measurements utilising image analysis method. *J. Optom.* (2019) doi:10.1016/j.optom.2019.04.001.
128. Ma, D. H. K., See, L. C., Liau, S. B. & Tsai, R. J. F. Amniotic membrane graft for primary pterygium: Comparison with conjunctival autograft and topical mitomycin C treatment. *Br. J. Ophthalmol.* (2000) doi:10.1136/bjo.84.9.973.
129. Essex, R. W., Snibson, G. R., Daniell, M. & Tole, D. M. Amniotic membrane grafting in the surgical management of primary pterygium. *Clin. Exp. Ophthalmol.* (2004) doi:10.1111/j.1442-9071.2004.00884.x.
130. Schulz, K. F., Chalmers, I., Hayes, R. J. & Altman, D. G. Empirical Evidence of Bias: Dimensions of Methodological Quality Associated With Estimates of Treatment Effects in Controlled Trials. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* (1995) doi:10.1001/jama.273.5.408.
131. Barcelona, A. No Title. *bcn.cat/estadistica*.
132. Mahar, P. S. & Manzar, N. Pterygium recurrence related to its size and corneal involvement. *J. Coll. Physicians Surg. Pakistan* (2013) doi:02.2013/JCPSP.120123.
133. Yaisawang, S. & Piyapattanakorn, P. Role of post-operative topical corticosteroids in recurrence rate after pterygium excision with conjunctival autograft. *J. Med. Assoc. Thail.* (2003).
134. Hirst, L. W., Sebban, A. & Chant, D. Pterygium Recurrence Time. *Ophthalmology* (1994) doi:10.1016/S0161-6420(94)31270-X.

135. Röck, T., Bramkamp, M., Bartz-Schmidt, K. U. & Röck, D. A retrospective study to compare the recurrence rate after treatment of pterygium by conjunctival autograft, primary closure, and amniotic membrane transplantation. *Med. Sci. Monit.* (2019) doi:10.12659/MSM.915629.
136. Campagna, G., Adams, M., Wang, L., Khandelwal, S. & Al-Mohtaseb, Z. Comparison of pterygium recurrence rates among different races and ethnicities after primary pterygium excision by surgeons in training. *Cornea* (2018) doi:10.1097/ICO.0000000000001453.
137. Masuki, H. *et al.* Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *Int. J. Implant Dent.* (2016) doi:10.1186/s40729-016-0052-4.
138. Anitua, E. *et al.* PRGF exerts more potent proliferative and anti-inflammatory effects than autologous serum on a cell culture inflammatory model. *Exp. Eye Res.* (2016) doi:10.1016/j.exer.2016.08.012.
139. Kheirkhah, A., Casas, V., Sheha, H., Raju, V. K. & Tseng, S. C. G. Role of conjunctival inflammation in surgical outcome after amniotic membrane transplantation with or without fibrin glue for pterygium. *Cornea* (2008) doi:10.1097/ICO.0b013e31815873da.
140. Kheirkhah, A. *et al.* Postoperative conjunctival inflammation after pterygium surgery with amniotic membrane transplantation versus conjunctival autograft. *Am. J. Ophthalmol.* (2011) doi:10.1016/j.ajo.2011.04.013.
141. Dohan, D. M. *et al.* Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* (2006) doi:10.1016/j.tripleo.2005.07.008.
142. Gumus, K. *et al.* Overexpression of vascular endothelial growth factor receptor 2 in pterygia may have a predictive value for a higher postoperative recurrence rate. *Br. J. Ophthalmol.* (2014) doi:10.1136/bjophthalmol-2012-301944.
143. Anitua, E., Andia, I., Ardanza, B., Nurden, P. & Nurden, A. T. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and Haemostasis* (2004) doi:10.1160/TH03-07-0440.
144. Faraj, L. A. *et al.* In vitro anti-angiogenic effects of cryo-preserved amniotic membrane and the role of TIMP2 and thrombospondin. *J. EuCornea* (2018) doi:10.1016/j.xjec.2017.09.001.
145. Anitua, E., Zalduendo, M. M., Alkhraisat, M. H. & Orive, G. Release kinetics of platelet-derived and plasma-derived growth factors from autologous plasma rich in growth factors. *Ann. Anat.* (2013) doi:10.1016/j.aanat.2013.04.004.

146. Anitua, E., Zalduendo, M. M., Prado, R., Alkhraisat, M. H. & Orive, G. Morphogen and proinflammatory cytokine release kinetics from PRGF-Endoret fibrin scaffolds: Evaluation of the effect of leukocyte inclusion. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* (2015) doi:10.1002/jbm.a.35244.
147. Phanthanthurarux, S. & Chantaren, P. A survey of surgical techniques in Pterygium, Thailand 2016. *Asia-Pacific Journal of Ophthalmology* (2019) doi:10.1097/01.APO.0000605100.25659.f7.
148. Fini, M. E. *et al.* Steroid-induced ocular hypertension/glaucoma: Focus on pharmacogenomics and implications for precision medicine. *Progress in Retinal and Eye Research* (2017) doi:10.1016/j.preteyeres.2016.09.003.
149. Razeghinejad, M. R. & Katz, L. J. Steroid-induced iatrogenic glaucoma. *Ophthalmic Research* (2012) doi:10.1159/000328630.
150. Zhang, Z., Yang, Z., Pan, Q., Chen, P. & Guo, L. Clinicopathologic characteristics and the surgical outcome of conjunctival granulomas after pterygium surgery. *Cornea* (2018) doi:10.1097/ICO.0000000000001647.
151. Emara, K. M., Allam, M. F., Elsayed, M. N. M. A. & Ghafar, K. A. E. L. Recurrence after correction of acquired ankle equinus deformity in children using Ilizarov technique. *Strateg. Trauma Limb Reconstr.* (2008) doi:10.1007/s11751-008-0045-9.
152. Wu, D. *et al.* Medically uncontrolled conjunctival pyogenic granulomas: Correlation between clinical characteristics and histological findings. *Oncotarget* (2017) doi:10.18632/oncotarget.13961.
153. Levy, R. L., Naidu, S. & Jacobson, L. Safety and efficacy of the technique of complete Tenon's membrane excision and mitomycin C in pterygium surgery. *Eye Contact Lens* (2005) doi:10.1097/01.ICL.0000140908.17491.A0.
154. Wang, G. *et al.* Epithelial dysplasia in pterygium postoperative granuloma. *Exp. Eye Res.* (2018) doi:10.1016/j.exer.2018.08.014.
155. Iwano, M. *et al.* Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J. Clin. Invest.* (2002) doi:10.1172/JCI0215518.
156. Anitua, E. *et al.* Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors. *Cell Prolif.* (2009) doi:10.1111/j.1365-2184.2009.00583.x.

CAPÍTULO

10

Anexos

Anexo 1

Cuaderno manual de recogida de datos:

- A: Correspondiente a **Visita de selección**
- B: Correspondiente a la **Visita 0: datos de la cirugía**
- C: Correspondiente a **Visitas sucesivas**

A



Código Protocolo:
 Promotor: IR-HSCSP
 Versión 00, Marzo 2019

Nº Paciente: Fecha: - - Visita:

día mes año

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS
 2019

**ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO PARA EVALUAR LA EFICACIA DEL
 INJERTO DE MEMBRANA DE FIBRINA CON COLIRIO CONCENTRADO EN
 FACTORES DE CRECIMIENTO AUTÓLOGO EN LA CIRUGÍA DE PTERIGIO
 PRIMARIO COMPARÁNDOLA CON EL INJERTO DE MEMBRANA AMNIÓTICA EN
 TÉRMINOS DE RECIDIVA DURANTE EL PRIMER AÑO DESPUÉS DE LA CIRUGÍA**

Código del Protocolo	IIBSP-PTE-2018-35
-----------------------------	--------------------------

Promotor	Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau – IIB Sant Pau Hospital de la Santa Creu i Sant Pau c/ Sant Antoni Maria Claret, 167 08025 Barcelona
Investigador Principal	Zoraida Del Campo
Fecha	____-____-____
Código de paciente	____-____

HISTORIA CLÍNICA

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha del consentimiento informado ____ - ____ - ____

DATOS DEMOGRÁFICOS

Fecha de nacimiento ____ - ____ - ____

Sexo Hombre **0** Mujer **1**

Raza

- 0 = Americana (latina)
- 1 = Caucásica (blancos, mediterráneos)
- 2 = Amarilla
- 3 = Negra

Firma del Investigador:

B



Código Protocolo:
 Promotor: IR-HSCSP
 Versión 00, Marzo 2019

Nº Paciente: Fecha: - - Visita:

día mes año

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS 2019

**ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO PARA EVALUAR LA EFICACIA DEL
 INJERTO DE MEMBRANA DE FIBRINA CON COLIRIO CONCENTRADO EN
 FACTORES DE CRECIMIENTO AUTÓLOGO EN LA CIRUGÍA DE PTERIGIO
 PRIMARIO COMPARÁNDOLA CON EL INJERTO DE MEMBRANA AMNIÓTICA EN
 TÉRMINOS DE RECIDIVA DURANTE EL PRIMER AÑO DESPUÉS DE LA CIRUGÍA**

Código del Protocolo	IIBSP-PTE-2018-35
----------------------	-------------------

Promotor	Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau – IIB Sant Pau Hospital de la Santa Creu i Sant Pau c/ Sant Antoni Maria Claret, 167 08025 Barcelona
Investigador Principal	Zoraida del Campo
Fecha	____-____-____
Código de paciente	____-____

INTERVENCIÓN

Área de resección:

Técnica aplicada:

Firma del Investigador:

C



Código Protocolo:
 Promotor: IR-HSCSP
 Versión 00, Marzo 2019

Nº Paciente: Fecha: - - Visita:

día mes año

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS
 2019

ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO PARA EVALUAR LA EFICACIA DEL INJERTO DE MEMBRANA DE FIBRINA CON COLIRIO CONCENTRADO EN FACTORES DE CRECIMIENTO AUTÓLOGO EN LA CIRUGÍA DE PTERIGIO PRIMARIO COMPARÁNDOLA CON EL INJERTO DE MEMBRANA AMNIÓTICA EN TÉRMINOS DE RECIDIVA DURANTE EL PRIMER AÑO DESPUÉS DE LA CIRUGÍA

Código del Protocolo	IIBSP-PTE-2018-35
----------------------	-------------------

Promotor	Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau – IIB Sant Pau Hospital de la Santa Creu i Sant Pau c/ Sant Antoni Maria Claret, 167 08025 Barcelona
Investigador Principal	Zoraida del Campo
Fecha	_ _ - _ _ - _ _ _ _
Código de paciente	_ _ - _ _

Firma del Investigador:

Nº Paciente: Fecha: - - Visita:
día mes año

EXPLORACIÓN FÍSICA

Defecto epitelial 0 NO

1 SI

Área defecto epitelial

Fecha cierre defecto epitelial

Complicaciones de la Cirugía:

0 = No

1 = HTO

2 = Infección

3 = Granuloma

4 = Simblefaron

5 = Pérdida de injerto

6 = Escleritis

Recidiva del Pterigio: 0 = No 1 = Si

Fecha de recidiva del pterigio:

(Táchese donde corresponda)

DESCRIPCIÓN DE ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

Si No

Acontecimiento adverso:

Grave: SI NO (si la respuesta es SI, rellenar la hoja de notificación de AA y enviar por FAX al monitor)

Fecha y hora en que se informa:

<input type="text"/>	-	<input type="text"/>	-	<input type="text"/>	<input type="text"/>	:	<input type="text"/>
<small>día</small>		<small>mes</small>		<small>año</small>	<small>hora</small>		<small>minutos</small>

Fecha y hora de la ingesta de La última dosis:

<input type="text"/>	-	<input type="text"/>	-	<input type="text"/>	<input type="text"/>	:	<input type="text"/>
<small>día</small>		<small>mes</small>		<small>año</small>	<small>hora</small>		<small>minutos</small>

Fecha y hora de inicio:

<input type="text"/>	-	<input type="text"/>	-	<input type="text"/>	<input type="text"/>	:	<input type="text"/>
<small>día</small>		<small>mes</small>		<small>año</small>	<small>hora</small>		<small>minutos</small>

Fecha y hora de remisión:

<input type="text"/>	-	<input type="text"/>	-	<input type="text"/>	<input type="text"/>	:	<input type="text"/>
<small>día</small>		<small>mes</small>		<small>año</small>	<small>hora</small>		<small>minutos</small>

Firma del Investigador:

Anexo 2

Dictamen del Comité de Ética de la investigación con medicamentos del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.



Sant Antoni Ma Claret, 167 · 08025 Barcelona
 Tel. 93 291 90 00 · Fax 93 291 94 27
 e-mail: santpau@santpau.cat
 www.santpau.cat

DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS.

Doña Milagros Alonso Martínez, Secretaria del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos de la **Fundació de Gestió Sanitària del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau** de Barcelona,

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la siguiente propuesta de ensayo clínico

CÓDIGO: IIBSP-PTE-2018-35 NÚMERO EUDRACT: 2018-003042-16 N° REF. HSCSP: 18/241 (R)
TÍTULO: Ensayo clínico aleatorizado para evaluar la eficacia del injerto de membrana de fibrina con colirio concentrado en factores de crecimiento autólogo en la cirugía de pterigio primario comparándola con el injerto de membrana amniótica en términos de recidiva durante el primer año después de la cirugía.

PROMOTOR: INSTITUT DE RECERCA HSCSP

PROTOCOLO: Versión 3. Fecha: 08/01/2019.
 HIP/CI GENERAL: Versión 3. Fecha: 08/01/2019.

Que este Comité ha realizado la evaluación de la parte I de la solicitud de autorización del ensayo, ha valorado las respuestas del promotor a las aclaraciones solicitadas (si las hubiera) y ha transmitido a la Agencia Española de medicamentos su opinión final sobre la parte I.

Que este Comité ha realizado la evaluación de la parte II de la solicitud de autorización del ensayo, de acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 1090/2015 y en el art 7 del reglamento (UE) 536/2014 y considera que:

- El procedimiento para obtener el consentimiento informado (incluyendo las hojas de información al sujeto de ensayo y consentimientos informados mencionados en el encabezamiento), y el plan de reclutamiento de sujetos previsto son adecuados y cumplen con los requisitos para la obtención del consentimiento informado previstos en el capítulo II del Real Decreto 1090/2015.
- Las compensaciones previstas a los participantes son adecuadas, así como las previsiones de indemnización por daños y perjuicios que pueda sufrir el participante.
- El procedimiento previsto para el manejo de datos personales es adecuado.
- El uso futuro de las muestras biológicas obtenidas durante el ensayo se adecua a lo previsto en el Real Decreto 1716/2011.
- Para la realización del ensayo se consideran adecuados los centros e investigadores previstos en el anexo II a este dictamen, teniendo en cuenta las declaraciones de idoneidad emitidas por el promotor y por los responsables de las instituciones correspondientes.

Y emite **DICTAMEN FAVORABLE** en la reunión celebrada el día 15 de enero de 2019. (acta n° 01/2019).

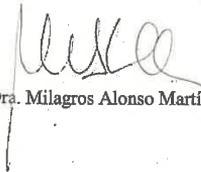


Sant Antoni Ma Claret, 167 · 08025 Barcelona
Tel. 93 291 90 00 · Fax 93 291 94 27
e-mail: santpau@santpau.cat
www.santpau.cat

Que en dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente –Real Decreto 1090/2015 – para que la decisión del citado CEIm sea válida.

Que el CEIm de la Fundació de Gestió Sanitària del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento, y que la composición del CEIm es la indicada en el anexo I, teniendo en cuenta que en el caso de que algún miembro participe en el ensayo o declare algún conflicto de interés no habrá participado en la evaluación ni en el dictamen de la solicitud de autorización del ensayo clínico.

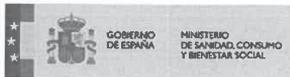
Lo que firmo en Barcelona, a 16 de enero de 2019.



Dra. Milagros Alonso Martínez

Anexo 3

Resolución de la autorización del ensayo clínico por la AEMPS



agencia española de
medicamentos y
productos sanitarios

DEPARTAMENTO
DE MEDICAMENTOS
DE USO HUMANO
Área de Ensayos Clínicos

Referencia: MUH/CLIN/EC

ASUNTO: RESOLUCIÓN DE LA SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE UN ENSAYO CLÍNICO

DESTINATARIO: Institut de Recerca H. de la Santa Creu i Sant Pau
Sant Antoni Maria Claret 167
08025 Barcelona (España)

DATOS DE LA SOLICITUD

Solicitud de autorización del Ensayo clínico N° EudraCT 2018-003042-16 y título **Ensayo clínico aleatorizado para evaluar la eficacia del injerto de membrana de fibrina con colirio concentrado en factores de crecimiento autólogo en la cirugía de pterigio primario comparándola con el injerto de membrana amniótica en términos de recidiva durante el primer año después de la cirugía.**

Promotor: Institut de Recerca H. de la Santa Creu i Sant Pau
Sant Antoni Maria Claret 167
08025 Barcelona (España)

Fecha de solicitud válida: 26/09/2018

Una vez evaluada la solicitud de autorización de ensayo clínico previamente indicada, se considera que cumple con los requisitos indicados en el Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos y demás legislación aplicable*.

Por todo lo anteriormente expuesto la Directora de la Agencia de Medicamentos y Productos Sanitarios en el ejercicio de sus competencias **RESUELVE:**

AUTORIZAR el ensayo clínico solicitado

Este ensayo NO puede ser considerado como BNI por los siguientes motivos:

- Al tratarse el producto en investigación de un medicamento no sujeto a producción industrial no se puede hablar de autorización del mismo en sentido estricto ni, por lo tanto, de condiciones de uso en conformidad con los términos de comercialización.

* Texto refundido de la Ley de Garantías y Uso Racional de los medicamentos y productos sanitarios, aprobado por Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio.
Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal "Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y se aprueba su Estatuto".

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios

Fecha de la firma: 08/02/2019

Puede comprobar la autenticidad del documento en la sede de la AEMPS: <https://sede.aemps.gob.es>

Localizador: X5EEZD8403



CORREO ELECTRÓNICO
smhaem@aemps.es

Página 1 de 2

C/ CAMPEZO, 1 - EDIFICIO 8
28022 MADRID
Tel.: 918225073
Fax: 918225043



- No se han aportado las pruebas y/o datos científicos publicados que avalen la seguridad y eficacia del producto en esta indicación.
- El uso del medicamento en esta indicación no se recoge en ninguna GPC o protocolo de ámbito local, nacional o internacional.

Contra esta Resolución, que pone fin a la vía administrativa, puede interponerse potestativamente Recurso de Reposición ante el/la Director/a de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en el plazo de un mes, conforme a lo dispuesto en los artículos 123 y 124 de la Ley 39/2015, de 1 de octubre, del Procedimiento Administrativo Común de las Administraciones Públicas, o interponerse Recurso Contencioso-Administrativo ante el Juzgado Central de lo Contencioso-Administrativo de Madrid, en el plazo de dos meses a contar desde el día siguiente a la recepción de la presente notificación, conforme a lo dispuesto en la Ley Reguladora de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa de 13 de julio de 1998, y sin perjuicio de cualquier otro recurso que pudiera interponerse.

DIRECTORA DE LA AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS

 **agencia española de
medicamentos y
productos sanitarios**

Fdo. M^a Jesús Lamas Díaz

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios

Fecha de la firma: 08/02/2019

Puede comprobar la autenticidad del documento en la sede de la AEMPS: <https://sede.aemps.gob.es>

Localizador: X5EEZD8403



CORREO ELECTRÓNICO
smhaem@aemps.es

Página 2 de 2

C/ CAMPEZO, 1 - EDIFICIO 8
28022 MADRID
Tel.: 918225073
Fax: 918225043

Anexo 4

Información y Consentimiento Informado del ensayo clínico

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

TÍTULO DEL ESTUDIO: Ensayo clínico aleatorizado para evaluar la eficacia del injerto de membrana de fibrina con colirio concentrado en factores de crecimiento autólogo en la cirugía de pterigio primario comparándola con el injerto de membrana amniótica en términos de recidiva durante el primer año después de la cirugía

CÓDIGO DEL ESTUDIO: IIBSP-PTE-2018-35

PROMOTOR: Institut de Recerca de l'Hospital de Santa Creu i Sant Pau- IIB Hospital de Sant Pau

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Zoraida del Campo Carrasco. Servicio Oftalmología. E-mail: zcampo@santpau.cat

CENTRO: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

INTRODUCCIÓN:

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por un Comité de Ética de la Investigación con medicamentos y por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, de acuerdo a la legislación vigente, el Real Decreto 1090/2015 de 4 de diciembre y el Reglamento Europeo 536/2014 de 16 de abril, por los que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos.

Nuestra intención es que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda decidir si acepta o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir.

Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir NO participar. Si decide participar, puede cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su atención sanitaria

OBJETIVO Y DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Este estudio tiene como objetivo comparar la eficacia, en índices de recidiva, del injerto de membrana de fibrina autólogo más colirio de concentrado en factores de crecimiento autólogo respecto a la membrana amniótica, en la cirugía de pterigio primario.

La técnica habitual es el injerto de membrana amniótica pero se trata de un tejido heterólogo, extraído de la placenta después de una cesárea electiva, mientras que la membrana de fibrina y el colirio concentrado en factores de crecimiento se obtienen de la sangre del propio paciente. Ambos tratamientos se recomiendan en la práctica habitual y se realizan de forma rutinaria en nuestro centro.

Si acepta participar, será asignado de forma aleatoria a ser operado con una técnica u otra.

En ambos casos se practicará la excisión del pterigio (retirada manual de toda la proliferación fibrovascular) y se colocará un injerto en la zona que se ha quedado descubierta. Los injertos serán o la membrana amniótica o la membrana de fibrina y se suturarán con puntos sueltos de nylon. En ambos casos se ocluirá el ojo intervenido durante 24h y se pautará tratamiento tópico con antibióticos, mientras exista defecto epitelial, y antiinflamatorios y corticosteroides, durante 3 meses.

En los casos operados con injerto de membrana de fibrina el paciente se instilará el concentrado en factores de crecimiento 3 veces al día durante 1 mes. Este tratamiento tiene el formato de 30 monodosis que deben conservarse en el congelador y cada unidosis se descongela antes de su uso que será durante 1 día.

El mismo día de la intervención, en la zona de antequirófano se llevará a cabo la extracción de sangre que en los casos del injerto de membrana amniótica servirá para las determinaciones serológicas necesarias según la normativa de trasplantes de tejidos heterólogos, y en el caso del injerto de membrana de fibrina servirá para su elaboración así como del concentrado rico en factores de crecimiento.

Las visitas postoperatorias serán al día siguiente, cada dos días mientras exista defecto epitelial, al mes, a los dos meses, a los tres meses, a los 6 meses y al año. En todos los controles se llevará a cabo la medida de la presión intraocular, la observación con la lámpara de hendidura con y sin tinciones para valorar la epitelización, la inflamación y la recidiva y grafías para documentar los hallazgos.

La duración esperada de la participación en el ensayo clínico es de unos 18 meses aproximadamente, considerando una lista de espera media de seis meses, y un año de seguimiento tras la cirugía.

En el estudio se incluirán 110 pacientes, que de forma aleatoria se dividirán 55 en cada uno de los grupos.

El paciente debe ser responsable en seguir las pautas de higiene, de tratamiento y de estilo de vida indicadas en todo momento por el personal sanitario, así como asistir a todos los controles pautados. Si se advierte alguna reacción fuera de lo normal, según las

explicaciones facilitadas, el paciente debe acudir al Servicio de urgencias donde se valorará la pauta y controles a seguir.

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Es posible que no exista ningún beneficio directo para su salud por participar, no obstante los resultados del estudio podrían ser de utilidad para determinar si la técnica de injerto de malla de fibrina autólogo, con uso coadyuvante de colirio rico en factores de crecimiento, es una técnica eficaz en la cirugía del pterigio.

Como posibles riesgos podría producirse una recidiva del pterigio lo que podría precisar de una reintervención. No obstante dicho riesgo también existe con la técnica quirúrgica que se realiza habitualmente. No se prevén otros riesgos potenciales por la participación en el estudio. Por todo ello se considera que el riesgo de participar no es mayor al del manejo clínico habitual.

TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS

La alternativa de tratamiento en caso de no participar en el estudio sería, siempre que el tamaño del pterigio lo permita, realizar un autoinjerto conjuntival de la conjuntiva superior del mismo ojo. En este caso el tejido es autólogo con bajos porcentajes de recidiva pero con el inconveniente de provocar modificaciones en la conjuntiva superior pudiendo condicionar potenciales procedimientos quirúrgicos oculares. En el caso que el tamaño de la proliferación fibrovascular sea superior al tejido conjuntival autólogo que podemos obtener, o que la conjuntiva esté alterada por cirugías previas, podría ser necesario aplicar alguno de los tratamientos del ensayo clínico: un injerto de membrana amniótica o la membrana rica en factores de crecimiento.

Si lo desea el médico del estudio les dará toda la información necesaria al respecto.

SEGURO

De acuerdo con el Real Decreto 1090/2015 por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, “los daños y perjuicios sobre el sujeto de estudio que pudieran resultar como consecuencia de un ensayo clínico de bajo nivel de intervención no precisarán estar cubiertos por un contrato de seguro o garantía financiera si los mismos estuvieran cubiertos por el seguro de responsabilidad civil profesional individual o colectivo o garantía financiera equivalente del centro sanitario donde se lleve a cabo el ensayo clínico”.

Por tanto, dado que en este ensayo se utilizarán tratamientos autorizados, en las indicaciones autorizadas, y que no existen procedimientos adicionales a los de la práctica habitual que

puedan suponer un riesgo para los participantes, es decir se cumplen los criterios de ensayo clínico de bajo nivel de intervención, la póliza del estudio será la póliza asistencial del centro dónde se realiza la investigación.

PROTECCIÓN DE DATOS PERSONALES

En cuanto a la confidencialidad de sus datos personales, debe saber que el tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en el Reglamento (UE) n° 2016/679 y a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal vigente, con el Real Decreto por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica y la demás normativa vigente.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo su médico del estudio/colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores, autoridades sanitarias, al Comité de Ética de la Investigación y personal autorizado por el promotor (monitores del estudio, auditores), cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

De acuerdo a lo que establece la legislación de protección de datos, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos. Además puede limitar el tratamiento de datos que sean incorrectos, solicitar una copia o que se trasladen a un tercero (portabilidad) los datos que usted ha facilitado para el estudio. Para ejercitar sus derechos puede dirigirse al investigador principal del estudio. Así mismo tiene derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no quedara satisfecho/a.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos. Sin embargo, debe tener en cuenta que los datos no se pueden eliminar aunque deje de participar en el estudio, para garantizar la validez de la investigación y cumplir con los deberes legales.

El investigador y el promotor están obligados a conservar los datos recogidos para el estudio al menos hasta 25 años tras su finalización. Posteriormente, su información personal sólo se conservará por el centro para el cuidado de su salud y por el promotor para otros fines de investigación científica si usted hubiera otorgado su consentimiento para ello, o si así lo permite la ley y los requisitos éticos aplicables.

Si realizáramos transferencia de sus datos codificados fuera de la UE a las entidades de nuestro grupo, a prestadores de servicios o a investigadores científicos que colaboren con nosotros, los datos del participante quedarán protegidos con salvaguardas tales como contratos u otros mecanismos por las autoridades de protección de datos. Si el participante quiere saber más al respecto, puede contactar con el Investigador Principal del estudio.

GASTOS Y COMPENSACIÓN ECONÓMICA

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto, ni compensación económica. Usted no tendrá que pagar por los procedimientos del estudio.

TRATAMIENTO A RECIBIR TRAS FINALIZAR EL ESTUDIO

Cuando acabe su participación recibirá el mejor tratamiento disponible y que su médico considere el más adecuado para su patología.

OBTENCIÓN Y UTILIZACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

La obtención, manejo, identificación y almacenamiento de muestras biológicas se realizará en cumplimiento de la Ley de Investigación Biomédica 14/2007 y el Real Decreto 1716/2011. De acuerdo a la legislación mencionada, la obtención de muestras biológicas con fines de investigación biomédica podrá realizarse únicamente cuando se haya obtenido previamente el consentimiento escrito del paciente y puede ser revocado.

Una vez terminado el estudio las muestras que se hayan recogido de forma específica para este estudio se desecharán, y no se recogerán más datos ni muestras.

OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE

Una descripción de este ensayo clínico estará disponible en <http://reec.aemps.es>, según exige la legislación española.

Cualquier nueva información referente a los tratamientos utilizados en el estudio y que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, que se descubra durante su participación, le será comunicada por su médico lo antes posible.

Debe saber que puede ser excluido del estudio si el promotor o los investigadores del estudio lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por el tratamiento en estudio o porque consideren que no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio.

Debe usted saber que es posible que su médico de Atención Primaria tenga conocimiento de su participación en este estudio.

CONTACTO EN CASO DE DUDAS

Si durante su participación tiene alguna duda o necesita obtener más información, póngase en contacto con la Investigadora Principal del estudio.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL ESTUDIO: Ensayo clínico aleatorizado para evaluar la eficacia del injerto de membrana de fibrina con colirio concentrado en factores de crecimiento autólogo en la cirugía de pterigio primario comparándola con el injerto de membrana amniótica en términos de recidiva durante el primer año después de la cirugía

Yo,(nombre y apellidos del participante)

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

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con (nombre y apellidos del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera.
- Sin tener que dar explicaciones.
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

Recibiré una copia firmada y fechada de este documento de consentimiento informado

.....

Firma del participante

Fecha:

.....

Firma del investigador

Fecha:

Cuando se obtenga el CI en personas con capacidad modificada para dar su CI

.....
**Firma del representante legal, familiar
o persona vinculada de hecho**
Fecha:

.....
Firma del investigador
Fecha:

CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL ESTUDIO: Ensayo clínico aleatorizado para evaluar la eficacia del injerto de membrana de fibrina con colirio concentrado en factores de crecimiento autólogo en la cirugía de pterigio primario comparándola con el injerto de membrana amniótica en términos de recidiva durante el primer año después de la cirugía

El participante del estudio ha indicado que no puede leer /escribir. Un miembro del personal del estudio le ha leído el documento de consentimiento, lo ha revisado y comentado con el participante y se le ha concedido la oportunidad de hacer preguntas o consultarlo con otras personas. El testigo ha de ser una persona imparcial, ajena al estudio.

Yo, (nombre y apellidos del testigo),
como testigo, afirmo que en mi presencia se ha informado a
.....(nombre y apellidos del participante) y se ha leído (o se le ha leído) la
hoja de información que se le ha entregado sobre el estudio, de modo que:

Ha podido hacer preguntas sobre el estudio.

Ha recibido suficiente información sobre el estudio.

Ha hablado con (nombre y apellidos del investigador)

Comprende que su participación es voluntaria.

Comprende que puede retirarse del estudio:

- Cuando quiera.
- Sin tener que dar explicaciones.
- Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

Ha expresado libremente su conformidad para participar en este estudio y da su consentimiento para el acceso y utilización de sus datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

El participante recibirá una copia firmada y fechada de este documento de consentimiento informado.

.....

Firma del testigo

Fecha:

.....

Firma del investigador

Fecha:

