

Evaluation of the use of autologous serum as a treatment of corneal ulcer in rabbits

Evaluación del uso de suero autólogo como tratamiento de ulcera corneal en conejos

Autores:

Sarmiento, Milton Gustavo

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Cuenca-Azuay-Ecuador



milton.sarmiento.42@est.ucacue.edu.ec



<https://orcid.org/0000-0001-6465-7253>

Rubio-Arias, Pablo Giovanni

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Posgrado

Cuenca-Azuay-Ecuador



prubioacorre@ucacue.edu.ec



<https://orcid.org/0000-0002-9185-4823>

Fechas de recepción: 03-ABR-2024 aceptación: 17-MAY-2024 publicación: 15-JUN-2024



<https://orcid.org/0000-0002-8695-5005>

<http://mqrinvestigar.com/>



Resumen

Las úlceras corneales son alteraciones frecuentes en oftalmología veterinaria, como resultado de diferentes etiologías que desencadenan graves secuelas derivadas al epitelio corneal pudiendo producir una pérdida importante de la visión debido a la opacificación cicatricial y astigmatismo sequerales. El objetivo de la presente investigación evaluar el efecto terapéutico del suero autólogo mediante la preparación y manejo de la terapia en la práctica oftalmológica en conejos. La metodología consistió en utilizar 10 conejos los cuales fueron valorados el grado de ulceración bilateral (superficiales o profundos), posterior se realizó la extracción de sangre y la preparación del suero aplicando dos gotas de suero en el ojo derecho con intervalos de 8 horas por 7 días consecutivos, en el ojo izquierdo se aplicó el grupo control con aplicación de suero fisiológico, posterior los animales fueron sacrificados y los ojos fueron evaluados por los efectos observados clínicamente en la superficie ocular y córnea y por análisis histopatológico. Los resultados indicaron que fue menor el porcentaje de ojos tratados con suero autólogo con signos de inflamación, fibrosis, fibroblastos, neovascularización y epitelización, fueron menores que los ojos que no recibieron ese tratamiento. Sugiriendo que podría ser efectivo emplear el suero autólogo en para tratar las úlceras corneales, sin embargo, las diferencias no fueron significativas estadísticamente. Se concluye que es necesario evaluar la efectividad del suero autólogo bajo otros protocolos de aplicación con menor tiempo entre aplicaciones o tratamientos con más días, dado que la investigación sugiere que podría ser útil para tratar esta patología.

Palabras clave: Úlcera corneal; Córnea; Suero autólogo; Enfermedades de la córnea; Oftalmología veterinaria



Abstract

Corneal ulcers are frequent alterations in veterinary ophthalmology, as a result of different etiologies that trigger serious sequelae derived from the corneal epithelium and can produce a significant loss of vision due to scar opacification and secular astigmatism. The objective of this research is to evaluate the therapeutic effect of autologous serum through the preparation and management of therapy in ophthalmological practice in rabbits. The methodology consisted of using 10 rabbits, which were assessed for the degree of bilateral ulceration (superficial or deep). Afterwards, blood was drawn and the serum was prepared by applying two drops of serum to the right eye with intervals of 8 hours by 7 hours. consecutive days, the control group was applied to the left eye with the application of physiological saline, subsequently the animals were sacrificed and the eyes were evaluated for the effects observed clinically on the ocular surface and cornea and by histopathological analysis. The results indicated that the percentage of eyes treated with autologous serum with signs of inflammation, fibrosis, fibroblasts, neovascularization and epithelialization was lower than the eyes that did not receive this treatment. Suggesting that it could be effective to use autologous serum to treat corneal ulcers, however, the differences were not statistically significant. It is concluded that it is necessary to evaluate the effectiveness of autologous serum under other application protocols with shorter time between applications or treatments with more days, given that research suggests that it could be useful to treat this pathology.

Keywords: Corneal ulcer; Cornea; Autologous serum; Corneal diseases; Veterinary ophthalmology



Introducción

La oftalmología veterinaria es relativamente corta ya que se data alrededor de un siglo y medio siendo el caballo una de las primeras especies tratadas, hasta la actualidad a tener gran importancia en los animales de compañía. (Bayón Del Río et al., 2010). Las afecciones del globo ocular son frecuentes en pequeños animales entre ellos conejos que han pasado a ser consideradas mascotas y al tener actitudes muy curiosas son propensos a tener lesiones y patologías oculares siendo la úlcera corneal una de las presentaciones más comunes. La córnea actúa como una barrera para evitar la colonización de patógenos y el paso de fluidos hacia las estructuras internas, además posee características de refracción. Es un tejido transparente formado por células basales que se encuentran en constante división y maduración, se unen creando uniones estrechas para formar la barrera (Eghrari et al., 2015). Anatómicamente se une con la membrana basal y la capa de Bowman. Referente al estroma representa la región más abundante, es la responsable del soporte y claridad, además de tener actividad inmunológica. Referente a la córnea posterior, está formada por la membrana de Descemet y endotelio (Eghrari et al., 2015)

Úlcera corneal

Es una alteración que se caracteriza por la reducción del grosor de la córnea, en los pacientes que no son tratados puede evolucionar gravemente produciendo exposición y protrusión de la membrana de Descemet. Cuando se ubican en la región posterior, debido a que es muy inervada, la patología cursa con dolor, sin embargo, las profundas son de peor pronóstico y más peligrosas. Las manifestaciones clínicas características son el blefarospasmo y lagrimeo (Cattaneo et al. 2017).

Tipos de úlceras

Clasificación según la profundidad

- Superficiales: se observa pérdida del epitelio y la membrana basal, pero, no hay una lesión agresiva del estroma.
- Estromales superficiales: en estos casos hay una afectación del estroma a nivel medio o un poco más extensa.
- Profundas: la lesión puede alcanzar las zonas profundas del estroma.
- Descemetocel: la lesión es muy extensa y puede alcanzar la membrana de Descemetocel.
- Úlceras perforantes: se forma un prolapso de iris (Badaraco Flores, 2021).

Tratamientos

La primera estrategia terapéutica es retirar el factor que está generó la lesiones, al mismo tiempo se administran fármacos para la cicatrizaciones y regeneración de los tejidos dañados. En tal sentido, Peña (2009) explica que parte del tratamiento debe estar orientado a evitar



efectos adversos, por ello, se debe administrar un antibiótico de amplio espectro y eliminar la causa de la ulceras si estas son superficiales. Si el estroma corneal tiene un aspecto macerado, lo que se conoce como queratomalacia, es probable que haya una sobreproducción de enzimas colagenasas. Por lo tanto, será necesario administrar medicamentos que puedan disminuir su impacto. El uso de antiinflamatorios en este tipo de úlceras es controvertido. Aunque reducen el infiltrado celular y la producción de colagenasas, también pueden retrasar la cicatrización. Debido a que promueven la colagenolisis, los corticoesteroides tópicos no deben usarse.

Los estudios más recientes han evaluado los efectos de la utilización del suero autólogo para el proceso de tratamiento de las ulceras corneales. Las investigaciones en humanos, se ha utilizado esta terapia para promover la cicatrización en pacientes de riesgo en los que el proceso de curación es más lento como los adultos mayores y diabéticos. Los resultados han sido satisfactorios, se ha logrado mejorar la cicatrización de la lesión lo que avala el uso del plasma, ya que las plaquetas ayudan mejorar el tejido (Peña & Leiva, 2012).

Suero autólogo

El suero autólogo actúa como un lubricante de la córnea con propiedades similares a la de las lágrimas, dado que comparten similitudes en cuanto al pH y osmolaridad. Adicionalmente se compone de sustancias que ayudan al mejoramiento de la lesión y recuperación de los tejidos como es el caso de factores de crecimiento y molecular con poder bactericida. Por lo tanto, además de lubricar también ayuda a la conservar la composición celular, activando los procesos de reparación epitelial, además inhibe la proliferación bacteriana (López et al., 2007)

Material y métodos

Se utilizaron 10 conejos diagnosticados sanos machos y hembras de un peso promedio de 2 kg, los mismos que fueron colocados en jaulas individuales con alimentación similar. Se realizó un examen oftalmológico individual para la exclusión de animales que presentasen cualquier alteración de la córnea y de la superficie ocular, se procedió a producir la ulceración bilateral mediante la aplicación de alcohol al 90%, posterior se volvieron a valorar para determinar el grado de ulceración. Los animales fueron tratados en forma tópica 3 veces por día, en intervalos de 8 horas por un 7 día, en los cuales el ojo derecho fue tratado con el suero fisiológico mientras que el ojo izquierdo fue tratado con suero autólogo como el testigo. Al final de cada período, los animales fueron anestesiados de nuevo y sacrificados para la enucleación y posterior recolección de córneas. Para el estudio histopatológico, los ojos de los conejos se fijaron en formol al 10% por más de 48 horas.



Resultados

A continuación, se exponen los resultados del análisis histopatológico realizado tanto al ojo derecho como izquierdo de 10 conejos, a los que se les indujo la ulceración bilateral para posteriormente ser tratados con solución salina (ojo derecho) y suero autólogo (ojo izquierdo). Al realizar la biopsia de la córnea se identificó como se indica en la tabla 1 el 60% de los ojos derechos presentó tejido fibroso escaso, el 30% ausente y el 10% moderado, mientras que los ojos izquierdos el 40% tuvo ausencia, el 40% escaso y el 20% moderado. Los resultados indican que los conejos tratados con suero autólogo presentaron menos tejido fibroso.

Tabla 1
Presencia de tejido fibroso

Grado	Ojo derecho		Ojo izquierdo	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Ausente	3	30%	4	40%
Escaso	6	60%	4	40%
Moderado	1	10%	2	20%
Abundante	0	0%	0	0%
Total	10	100%	10	100%

En relación a la presencia de fibroblastos, para los ojos derechos tratados con solución salina se observó que el 70% presentó escasos fibroblastos, 20% ausencia y 10% moderado, mientras que para los ojos izquierdos el 60% exhibieron escasos fibroblastos, 30% ausencia y 10% moderados, siendo menos frecuentes en este grupo.

Tabla 2
Presencia de fibroblastos

Grado	Ojo derecho		Ojo izquierdo	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Ausente	2	20%	3	30%
Escaso	7	70%	6	60%
Moderado	1	10%	1	10%
Abundante	0	0%	0	0%
Total	10	100%	10	100%



En cuanto a los signos de inflamación como la presencia de heterófilos, linfocitos, histiocitos se observó que en los ojos derechos el 60% tuvo células inflamatorias escasas, 30% moderadas y 10% ausentes. Por su parte los ojos tratados con sueros autólogos el 40% tuvo células escasas, 30% ausentes y 30% moderadas. Los hallazgos fueron similares en ambos grupos, sin embargo, los ojos izquierdos presentaron menores indicios de inflamación.

Tabla 3
Presencia de inflamación

Grado	Ojo derecho		Ojo izquierdo	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Ausente	1	10%	3	30%
Escaso	6	60%	4	40%
Moderado	3	30%	3	30%
Abundante	0	0%	0	0%
Total	10	100%	10	100%

Respecto a la neovascularización, el grupo de ojos derechos presentó un 70% de escasa neovascularización, 20% moderada y 10% ausencia, mientras que en los ojos izquierdos el 40% fue escasa, 40% moderada y 20% ausente. De acuerdo con estos resultados, este criterio fue menos frecuente en el grupo tratado con solución salina.

Tabla 4
Presencia de neovascularización

Grado	Ojo derecho		Ojo izquierdo	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Ausente	1	10%	2	20%
Escaso	7	70%	4	40%
Moderado	2	20%	4	40%
Abundante	0	0%	0	0%
Total	10	100%	10	100%

Por último, la epitelización en el grupo de ojos derechos el 90% de los casos presentó abundante epitelización y el 10% escasa, por su parte en el grupo tratado con suero autólogo fue abundante en el 60% y moderado en el 40%. Según estos hallazgos fue menos frecuente en los ojos izquierdos.



Tabla 5
Presencia de epitelización

Grado	Ojo derecho		Ojo izquierdo	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Ausente	0	0%	0	0%
Escaso	0	0%	0	0%
Moderado	1	10%	4	40%
Abundante	9	90%	6	60%
Total	10	100%	0	10%

Para identificar si las diferencias observadas en los análisis despreciativos ser calculó la prueba t student para muestras independientes, estableciendo un nivel de confianza de 95% ($p = 0,05$). Como se observa en la tabla 6 para ninguno de los criterios hubo diferencias estadísticamente significativas, por lo que se identificó que ambos tratamientos tienen una evolución similar.

Tabla 6
Resultados de la T student

Criterio	P valor *	Resultado
Tejido conectivo fibroso	0,4 ($p > 0,05$)	No hubo diferencias significativas
Fibroblastos	0,75 ($p > 0,05$)	No hubo diferencias significativas
Inflamación	0,45 ($p > 0,05$)	No hubo diferencias significativas
Neovascularización	0,34 ($p > 0,05$)	No hubo diferencias significativas
Epitelización	0,16 ($p > 0,05$)	No hubo diferencias significativas

* $p = 0,05$; $p < 0,05$ se acepta la hipótesis que las diferencias son significativas $p > 0,05$; se rechaza la hipótesis de diferencias significativas



Discusión

El suero autólogo ayuda a lubricar la superficie ocular y aporta diferentes sustancias que a recuperar el tejido lesionado entre las cuales destacan: vitamina A, el factor de crecimiento epidérmico (EGF), la fibronectina y una variedad de citocinas. Lo que lo ha convertido en una alternativa de interés para tratar lesiones oculares en veterinaria como las úlceras corneales (Hernández et al. (2021). En el presente estudio se evaluó la efectividad de este tratamiento en úlceras corneales inducidas experimentalmente, al cabo de los 7 días de administración del suero autólogo cada 8 horas las biopsias de los ojos revelaron un menor porcentaje de tejido fibroso en comparación con los ojos que no recibieron tratamiento.

De acuerdo con Trujillo et al. (2017) el efecto del suero autólogo se debe a que contiene elevadas concentraciones de inhibidores de metaloproteinasas como la α -2 macroglobulina que se encarga de inhibir la mayoría de proteasas que dañan el epitelio. Además de presenta abundantes factores de crecimiento, vitaminas, inmunoglobulinas y sustancias bacteriostáticas que ayudan a preservar la superficie ocular. Una de las diferencias con el presente estudio es que los autores emplearon el suero autólogo cada dos horas para conseguir los efectos deseados, al igual que es necesario conservarlo a una temperatura de 4°C para evitar contaminación bacteriana o fúngica.

Los resultados del estudio también identificaron que hubo una reducción de los marcadores de inflamación en los ojos tratados con suero autólogo. Hallazgos similares fueron reportados en la revisión de Arnalich et al. (2016) quienes indicaron que este tipo de tratamiento ha sido efectivo para reducir los signos y síntomas de inflamación luego de las dos semanas de su aplicación, otro de los beneficios es que el paciente logra recuperar agudeza visual y regeneración del epitelio.

En relación a la epitelización esta fue menor en el grupo tratado con el suero autólogo que en el control con 60% y 90% de casos de epitelización abundante. Es importante destacar que el tratamiento para la úlcera corneal debe favorecer la regeneración del epitelio, dado que este es destruido por la ulceración. Resultados similares obtuvieron en su estudio Piso et al. (2023) quienes indicaron que los ojos tratados solo con el suero autólogo presentaron alteraciones en el epitelio, estroma y membrana de Descemet, al igual que una mayor expresión de metaloproteasas en comparación con los tratados con combinación de suero autólogo y gentamicina. Los autores concluyeron que el plasma rico en plaquetas por sí solo no demostró ningún efecto beneficioso sobre la reepitelización, la disminución de los signos clínicos, las alteraciones tisulares y la expresión de metaloproteinasas.

Sin embargo, el suero autólogo ha sido efectivo para prevenir la formación de cicatrices en el proceso de recuperación de lesiones de córnea. Es por ello, que se observó un menor



porcentaje de tejido fibroso y fibroblastos en los ojos tratados con el suero autólogo. Coincidiendo con los hallazgos de Anitua et al. (2015) en los cuales se reporta que la combinación de suero autólogo con factores de crecimiento puede mejorar el tratamiento de la cicatrización de heridas en la superficie ocular minimizando la formación de cicatrices. Esta terapia protege e invierte el fenotipo de miofibroblastos mientras promueve la proliferación y migración celular.

A pesar de que no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre el control y los ojos tratados con suero autólogo, los menores porcentajes en los criterios de evaluación de la recuperación luego del tratamiento en estos, sugieren que el suero autólogo es una terapia que promete grandes beneficios para la oftalmología veterinaria una vez que se estandarice el protocolo de intervención. Al respecto, Borobio et al (2021) indicaron que los síntomas y el tiempo de recuperación son menores cuando se emplea suero autólogo, al igual que el proceso de remodelación cicatrizal del tejido afectado y recuperación de la agudeza visual han sido prometedores con este tipo de intervención. Esto se debe a que el suero autólogo es rico en factores de crecimiento, lo que lo hace una alternativa al tratamiento convencional para lesiones difíciles de tratar.

En tal sentido, se infiere que en el presente estudio no significancia de las diferencias pueda deberse a que el intervalo entre aplicaciones del suero autólogo fue prolongado. En otras investigaciones como la de Reda Ahmed et al. (2021) la aplicación de soluciones oftálmicas a base de suero autólogo ha logrado revolucionar el tratamiento de lesiones oculares en humanos, por lo tanto, se han logrado adaptar los procedimientos al campo de la veterinaria. En su estudio, probaron el suero autólogo aplicándolo en el grupo experimental cada cuatro horas. Esta intervención dio como resultado una reducción en el tiempo de recuperación, logrando obtener efectos positivos a los tres días de la aplicación, con una tasa de curación altamente significativa.

Conclusiones

Los resultados de la biopsia de los ojos tratados con suero autólogo revelaron que hubo menos signos de inflamación, tejido fibroso, fibroblastos y neovascularización en estos, en comparación con el grupo control. Sugiriendo que es una alternativa que puede ser empleada para el tratamiento de ulcera corneal, sin embargo, estas diferencias no fueron significativas. También se identificó que el proceso de epitelización fue menor en los ojos tratados con suero autólogo, que en los ojos con solución salina. Esto pudo estar relacionado con la necesidad de prolongar el tiempo de tratamiento, de tal modo, que este proceso se promoviera de manera adecuada y/o más rápida.



Los resultados del presente estudio sugieren una efectividad del suero autólogo para evitar cicatrices y mejorar la recuperación de los ojos con úlceras corneales, sin embargo, se debe indagar sobre la posibilidad de crear terapias combinadas de suero autólogo con otros compuestos como antimicrobianos y factores de crecimiento, al igual que ajustar el tiempo de tratamiento y los intervalos de aplicación.

A partir de la comparación de los resultados con las investigaciones realizadas previamente se sugiere realizar nuevos estudios es los que el intervalo de aplicación sea más corto. Dado que en la literatura se reportaron diferencias significativas entre los grupos control y el tratamiento con tiempos que oscilaron entre dos y cuatro horas. Por lo que sería conveniente indagar, si reajustando el protocolo, se logran mejores resultados.

También se sugiere evaluar otras constantes como el tiempo de recuperación, en otras especies de animales domésticos el tiempo de recuperación con el suero autólogo ha sido hasta de tres días, en comparación con los controles que han recuperado alrededor de seis días. Por lo tanto, sería de gran interés evaluar el tiempo de recuperación en los conejos conjuntamente con posibles efectos adversos.

Referencias bibliográficas

- Anitua, E., de la fuente, M., Muruzabal, F., Riestra, A., Merayo, J., & Orive, G. (2015). Plasma rich in growth factors (PRGF) eye drops stimulates scarless regeneration compared to autologous serum in the ocular surface stromal fibroblasts. *Experimental eye research*, 135, 118–126. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25708868/>
- Arnalich, F., Rodriguez , A., Luque, A., & Alio , J. (2016). Solid Platelet Rich Plasma in Corneal Surgery. *Ophthalmology and therapy*, 5(1), 31–45. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27179661/>
- Badaraco Flores, K. K. (2021). Revisión bibliográfica de úlceras corneales crónicas, etiología, signos clínicos, diagnóstico, pruebas de laboratorio y tratamiento en caninos (*canis lupus familiaris*).
- Bayón Del Río, A., Palao Jiménez, C., Micó Valls, C., & Vecino Cordero, E. (2010). Veterinary ophthalmology: From cataract surgery to OCT. *Archivos de La Sociedad Espanola de Oftalmologia*, 85(12), 387–389. <https://doi.org/10.1016/j.oftal.2010.12.001>
- Borobio, E., Hernández, I., Rossani, G., López, E., Talavera, J., & De La Cruz Vargas, J. (2021). Utilidad del suero autólogo en lesiones de superficie ocular de evolución incierta. *Evaluación clínica e imagenológica. Horizonte Médico (Lima)*, 21(3), 1367. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2021000300008



- Cattaneo, G., -María, U. M. v, Halabí, T., & Flores, J.-D. E. (2017). Oftalmología Veterinaria II mirada clara, limpia, transparente y cristalina.
- Eghrari, A., Riazuddin, A., & Gottsch, J. (2015). Descripción general de la córnea : estructura, función y desarrollo. ELSEVIER, 134, 7–23.
- Hernández, I., Rossan, G., Borobio, E., Talavera, E., Pilar, M., Rozas, R., . . . De la Cruz, J. (2021). Efecto reparador del suero autólogo en lesiones corneales producidas por agentes químicos. Ensayo preclínico aleatorio a doble ciego en conejos. Revista de Investigacion veterinaria Peru, 32(6), 20425. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v32n6/1609-9117-rivep-32-06-e20425.pdf>
- López, G., García, L., & Martínez, G. (2007). Aplicaciones del suero autólogo en oftalmología. Scielo, 82.
- Ortiz, J., Acevedo, S., & Restrepo, L. (2011). Comparison of autologous serum with a commercial product as an adjunct in the treatment of uncomplicated corneal ulceration in dogs. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902012000100011
- Peña, M. T., & Leiva, M. (2012). Clinical clues to the diagnosis and treatment of canine corneal ulcers.
- Piso, D., Barreto, M., Bonilla, M., Rincón, A., Páez, O., Rengifo, C., & de Andrade, A. (2023). Effects of platelet-rich plasma on corneal re-epithelization and metalloproteinase expression in the cornea of sheep with experimentally-induced infectious keratoconjunctivitis. Vet World, 16(4), 799-810.
- Reda Ahmed, E., Misk, T., Gadallah, S., & Ghaith, A. (2021). Preparation and Clinical Use of Autologous Platelet Rich Plasma Eye Drops in Dogs. Revista de investigación veterinaria actual, 3(1), 100-105. https://jcvr.journals.ekb.eg/article_160259.html
- Trujillo, D., Jordão, P., Lima, A., & Plazas, F. (2017). Manejo de úlceras corneales en animales domésticos: revisión de literatura. Revista Electrónica de Veterinaria, 18(12), 1-22. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63654640004.pdf>
- Vercesi, A., Atillo, G., Echeverria, G., & Naves, A. (2009). Evaluación del uso tópico de factores de crecimiento derivados de plaquetas en el tratamiento de úlcera de cornea en conejos. https://oftalmologos.org.ar/oce_anteriores/files/original/7170ff6e107a0992b9ea5a25814bcb8f.pdf

Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no existe conflicto de interés posible.

Financiamiento:

No existió asistencia financiera de partes externas al presente artículo.

Agradecimiento:

N/A

Nota:

El artículo no es producto de una publicación anterior.

