

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

Facultad de Ciencias de La Salud

Programa Optometría



**EXPRESIÓN DE HLA-DR MEDIANTE INMUNOHISTOQUÍMICA EN
CITOLOGIA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL EN PACIENTES DE LA
CLINICA DE OPTOMETRIA DE LA UNIVERSIDAD DE LA SALLE CON
PATOLOGÍA OCULAR INFLAMATORIA DE SEGMENTO ANTERIOR**

Leidy Viviana Sánchez Calderón – Luis Miguel González Díaz.

Bogotá D.C, Colombia

2010

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

Facultad De Ciencias De La Salud

Programa Optometría



**EXPRESIÓN DE HLA-DR MEDIANTE INMUNOHISTOQUÍMICA EN
CITOLOGIA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL EN PACIENTES DE LA
CLINICA DE OPTOMETRIA DE LA UNIVERSIDAD DE LA SALLE CON
PATOLOGÍA OCULAR INFLAMATORIA DE SEGMENTO ANTERIOR**

Leidy Viviana Sánchez Calderón – Luis Miguel González Díaz.

DIRECTOR

*Martha Fabiola Rodríguez
Magister en Inmunología.*

Bogotá D.C, Colombia

Febrero 2010

Nota de Aceptación:

Fecha:

Jurado 1

Nota de Aceptación:

Fecha:

Jurado 2

DEDICATORIA

Gracias a Dios, a mi familia, a mis
Amigos y a los grandes docentes y en especial

A la directora de este proyecto,
Por su apoyo incondicional, por todos los
Buenos momentos que han ayudado
A realizarme como una persona integral
En búsqueda de Felicidad y de la verdad,

Mil y mil gracias.

LUIS MIGUEL GONZALEZ DIAZ

DEDICATORIA

A todos los que han aportado una semilla desde
Los inicios de mi preparación profesional hasta estos días y
Quienes brindaron su apoyo incondicional para que éste
Proyecto se llevara a cabo.

Los frutos de éste trabajo se ven hoy reflejados.

Gracias a Dios, a mi familia, a mi compañero
de trabajo, a mis compañeros, docentes y directivas...

Mil y Mil Gracias.

LEIDY VIVIANA SÁNCHEZ CALDERON

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad de la Salle y en especial al programa de Optometría por su colaboración en el proyecto y por ofrecernos las bases y herramientas académicas y financieras que fueron fundamentales para la ejecución.

A Alexander Yugo y Karem Beltrán por su colaboración en la estandarización de la técnica y lectura de los resultados de laboratorio y Al departamento de patología del Hospital San Ignacio por facilitar sus instalaciones para la estandarización de la técnica de citología de impresión.

En especial a la directora, docente y amiga Martha Fabiola Rodríguez quien estuvo presente en todo nuestro proceso y aportó su dedicación y esfuerzo para culminarlo.

A la Clínica de Optometría de la Universidad de La Salle, su director y docentes, por facilitar la atención de los pacientes y a los compañeros que nos colaboraron en la consecución de los mismos.

TABLA DE CONTENIDO

	Páginas
Titulo	1
Resumen	1
Introducción	3
Marco Teórico	5
Conjuntiva:	5
Anatomía	5
Características generales	5
Características celulares	6
Fisiología	10
Inmunología conjuntival	10
Expresión de HLA-DR a nivel conjuntival.	12
Película lagrimal	14
Anatomía y Fisiología	14
Inflamación	18
Inflamación de La Conjuntiva	19
Degeneraciones de la conjuntiva	21
Ojo seco	23
Definición	23
Prevalencia	23
Etiología.	23
Clasificación	24
Diagnóstico	28

Tratamiento	29
Conjuntivitis Alérgica	31
Definición	31
Epidemiología	31
Etiología y fisiopatogenesis	31
Características clínicas	32
Clasificación	34
Diagnóstico	35
Tratamiento	35
Conjuntivitis Bacteriana	36
Definición.	36
Etiología.	37
Epidemiología	37
Clasificación	39
Diagnóstico	40
Tratamiento	41
Materiales y métodos	42
Diseño del estudio	42
Población - muestra	42
Criterios de inclusión y exclusión	43
Examen Optométrico	43
Pruebas Clínicas	44

Schirmer	44
T.B.U.T.	45
Tinción con Fluoresceína	46
Rosa de Bengala	48
Pruebas de Laboratorio	50
Citología de Impresión Conjuntival	50
Tinción Pas-Hematoxilina.	51
Grados de Metaplasia Escamosa	53
Inmunohistoquímica en Citología de Impresión	55
Metodología Estadística	57
Resultados	58
Pacientes y controles	58
Inmunohistoquímica	58
Diagnostico Clínico:	59
Ojo seco	59
Conjuntivitis Alérgica	59
Conjuntivitis Bacteriana.	60
Prueba de Schirmer 2	61
Ojo seco	61

Conjuntivitis Alérgica	61
Conjuntivitis Bacteriana	61
Controles	61
T.B.U.T	64
Ojo seco	64
Conjuntivitis Alérgica	64
Conjuntivitis Bacteriana	64
Controles	64
Fluoresceína	67
Ojo seco	67
Conjuntivitis Alérgica	67
Conjuntivitis Bacteriana	67
Controles	67
Rosa de Bengala	68
Ojo seco	68
Conjuntivitis Alérgica	68
Conjuntivitis Bacteriana.	69
Controles	69
Metaplasia escamosa en citología de Impresión Conjuntival	70

Ojo seco	70
Conjuntivitis Alérgica	71
Conjuntivitis Bacteriana.	71
Controles	71
Discusión	73
Conclusiones y Recomendaciones	83
Bibliografía	84
Anexos	88

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Células Inmunológicas e inflamatorias en la Conjuntiva.	11
Tabla 2. Tratamiento del Ojo Seco según la severidad.	30
Tabla 3. Clasificación de la Conjuntivitis Alérgica.	34
Tabla 4. Formas de Transmisión de la Conjuntivitis Bacteriana	37
Tabla 5. Clasificación Clínica de la Conjuntivitis Bacteriana	39
Tabla 6. Rangos de resultados obtenidos para Schirmer 2.	63
Tabla 7. Rangos de resultados obtenidos para T.B.U.T.	66
Tabla 8. Grados de tinción con Rosa de Bengala para los casos positivos cada grupo.	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía de la Conjuntiva.	6
Figura 2. Células Caliciformes: Tiñen de color rosado brillante.	9
Figura 3. Corte Histológico de la Conjuntiva Normal.	10
Figura 4. Marcador HLA-DR en células epiteliales conjuntivales.	13
Figura 5. Inflamación Aguda de la Conjuntiva.	19
Figura 6. Membranas Inflamatorias.	20
Figura 7. Conjuntivitis Crónica.	21
Figura 8. Pingüecula.	22
Figura 9. Pterigion.	22
Figura 10. Alteraciones anatómicas del Ojo Seco.	25
Figura 11. Filamentos Mucosos en el Ojo Seco.	28
Figura 12. Reacción Papilar Leve en Conjuntivitis Alérgica.	33
Figura 13. Reacción Papilar Severa en Conjuntivitis Alérgica.	33
Figura 14. Nódulos de Tantra en Conjuntivitis Alérgica.	34
Figura 15. Inflamación Conjuntival producida por agente bacteriano.	36
Figura 16. Secreción purulenta típica de la Conjuntivitis Bacteriana.	40
Figura 17. Clasificación de los pacientes en grupos	42

Figura 18. Aplicación de Anestésico tópico previo a la medida de Schirmer 2.	44
Figura 19. Ubicación de la tira de papel en la Prueba de Schirmer.	44
Figura 20. Evaluación del T.B.U.T.	45
Figura 21. Ruptura de la película lagrimal en T.B.U.T.	46
Figura 22. Aplicación de la Fluoresceína.	47
Figura 23. Tinción puntiforme en córnea y conjuntiva.	47
Figura 24. Tinción con Rosa de Bengala en Conjuntiva Bulbar.	48
Figura 25. Diagrama de tinción Tipo 1 ó A.	49
Figura 26. Diagrama de tinción Tipo 3 ó C.	49
Figura 27. Tinción en córnea con Rosa de Bengala.	50
Figura 28. Toma de Citología de Impresión Conjuntival.	50
Figura 29. Proceso de Tinción de Pas-Hematoxilina.	52
Figura 30. Grado 0 de Metaplasia Escamosa de la Conjuntiva.	53
Figura 31. Grado 1 de Metaplasia Escamosa de la Conjuntiva.	53
Figura 32. Grado 2 de Metaplasia Escamosa de la Conjuntiva.	54
Figura 33. Grado 3 de Metaplasia Escamosa de la Conjuntiva.	54
Figura 34. Grado 4 de Metaplasia Escamosa de la Conjuntiva.	55
Figura 35. Resultado positivo para HLA-DR mediante Inmunohistoquímica	56

- Figura 36. Comparación de metaplasia escamosa grado 2 entre un estudio en pacientes con Ojo Seco y un caso de Ojo Seco en éste proyecto. 76
- Figura 37. Comparación de metaplasia grado 3 entre un estudio en pacientes con Ojo Seco y un caso de Conjuntivitis alérgica en éste proyecto. 78
- Figura 38. Comparación de metaplasia grado 3 entre un estudio en pacientes con Ojo Seco y un caso de Conjuntivitis bacteriana en éste proyecto 81

LISTA DE GRAFICAS

Grafica N°1. Clasificación de severidad en pacientes con ojo seco.	59
Grafica N°2. Clasificación de severidad en pacientes con conjuntivitis alérgica	60
Grafica N°3. Clasificación de severidad en pacientes con conjuntivitis bacteriana	60
Grafica N°4. Resultados de Schirmer 2 para cada grupo	62
Grafica N°5. Resultados de T.B.U.T para cada grupo	65
Grafica N°6. Tinción con Fluoresceína	68
Grafica N°7. Tinción con Rosa de Bengala	69
Grafico N°8. Resultados de Metaplasia Escamosa para cada Grupo	72
Grafico N°9. Grados de Metaplasia Escamosa para cada grupo	72

LISTA DE ANEXOS

Anexo N°1. Formato Historia Clínica.	88
Anexo N°2. Descripción detallada de la población de estudio del grupo 1.	90
Anexo N°3. Descripción detallada de las pruebas clínicas del grupo 1.	91
Anexo N°4. Descripción detallada de la población de estudio del grupo 2.	92
Anexo N°5. Descripción detallada de las pruebas clínicas del grupo 2.	93
Anexo N°6. Descripción detallada de la población de estudio del grupo 3.	94
Anexo N°7. Descripción detallada de las pruebas clínicas del grupo 3.	95
Anexo N°8. Descripción detallada de la población de estudio del grupo control.	96
Anexo N°9. Descripción detallada de las pruebas clínicas del grupo control.	97

TITULO

EXPRESIÓN DE HLA-DR MEDIANTE INMUNOHISTOQUÍMICA EN CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL EN PACIENTES DE LA CLÍNICA DE OPTOMETRÍA DE LA UNIVERSIDAD DE LA SALLE CON PATOLOGÍA OCULAR INFLAMATORIA DE SEGMENTO ANTERIOR

RESUMEN

La conjuntivitis alérgica, bacteriana y el ojo seco son patologías inflamatorias que involucran una serie de factores inmunológicos responsables de respuestas y cambios tisulares. Si la inducción de estas moléculas inflamatorias ocurre frente a cualquier agresión y si estas células pueden regular el proceso inflamatorio, falta por esclarecerse. *Objetivo:* Determinar la expresión de HLA-DR mediante inmunohistoquímica en citología de impresión en pacientes con diagnóstico de conjuntivitis alérgica, bacteriana y ojo seco y relacionar las pruebas clínicas con el grado de metaplasia escamosa que puedan tener. *Métodos:* 60 ojos de pacientes con ojo seco, conjuntivitis alérgica y conjuntivitis bacteriana (20 ojos x grupo) y 20 ojos como control de pacientes que acudieron a la Clínica de Optometría. El diagnóstico clínico se hizo a partir del test de Schirmer 2, TBUT, biomicroscopía con tinción de fluoresceína y Rosa de Bengala. y citología de impresión conjuntival con tinción de Pas-hematoxilina e inmunohistoquímica para determinar HLA-DR. La clasificación de severidad de cada patología se realizó en base a la correlación entre signos, síntomas y 2 pruebas clínicas positivas de 3 para el ojo seco. *Resultados:* No se encontró expresión de HLA-DR en los grupos patológicos estudiados. En cuanto a las pruebas clínicas, de los 20 ojos estudiados para el ojo seco 6 se clasificaron como leve (30%), 12 como moderado (60%) y 2 en grado severo (10%). Del total de éste grupo, el 70% presentó un test de *Schirmer 2* alterado, el T.B.U.T fue anormal en el 100%, tinción positiva con fluoresceína en un 20% de los casos, tinción positiva con Rosa de bengala en el 85% de los casos, y metaplasia escamosa en el 60% de los casos. De los 20 ojos estudiados para la conjuntivitis alérgica 9 se clasificaron como leve (45%), 11 como moderado (55%) y ninguno en grado severo (0%) Del total de éste grupo el 20% presentó un test de *Schirmer 2* alterado, T.B.U.T anormal en el 70% de los casos, tinción positiva con fluoresceína en el 5% de los casos,

tinción positiva con Rosa de bengala en el 85% de los casos, y metaplasia escamosa en el 50% de los casos. De los 20 ojos estudiados para la conjuntivitis bacteriana ninguno como leve (0%), 18 como moderado (90%) y 2 en grado severo (10%). Del total de éste grupo el 15% presentó un test de *Schirmer 2* alterado, el T.B.U.T estuvo anormal en el 85% de los casos, la tinción positiva con Rosa de bengala en el 50%, tinción positiva con fluoresceína en un 20% de los casos y metaplasia escamosa en el 50% de los casos. *Conclusiones:* Con la técnica usada la expresión de HLA-DR tuvo resultado negativo. La tinción con Rosa de Bengala y el T.B.U.T fueron muy útiles para detectar alteraciones en la película lagrimal y la superficie ocular a diferencia de la prueba de *Schirmer 2*. Se recomienda realizar asociaciones entre la evolución de la patología como aguda o crónica con la citología de impresión conjuntival para verificar si las cronicidad probablemente tienen mayores cambios tisulares por el tiempo de evolución.

Palabras Claves: HLA-DR, conjuntiva, citología de impresión, Conjuntivitis alérgica, Conjuntivitis bacteriana, ojo seco, Inmunohistoquímica.

INTRODUCCION

La expresión de HLA-DR en células epiteliales conjuntivales, ha sido reportada en muchas patologías oculares, tales como alergia, ojo seco y Pterigion. El HLA-DR es un antígeno del complejo mayor de histocompatibilidad clase II que se expresa constitutivamente solo en las células presentadoras del antígeno, macrófagos, Linfocitos B (LB) y células dendríticas. Bajo el estímulo de ciertas citoquinas se puede inducir la expresión de estas moléculas sobre otro tipo de células, posiblemente para que se aumente la presentación antigénica a los Linfocitos T (LT) ayudadores y amplificar la respuesta inmunológica frente a la agresión. Debido a que durante el proceso inflamatorio ocurre un incremento del HLA-DR, se le ha considerado un marcador de inflamación. Las células epiteliales de la conjuntiva, solo expresan moléculas de histocompatibilidad clase I; sin embargo, bajo diferentes estímulos, estas células pueden expresar diversos marcadores inflamatorios y liberar citoquinas que incrementan la respuesta inflamatoria, hay quienes se atreven a asegurar que las células epiteliales conjuntivales son la clave de la respuesta del segmento anterior frente a la injuria, siendo ellas las que amplifican el proceso conllevando en muchos casos a respuestas autoinmunes.

Si la inducción de estas moléculas ocurre frente a cualquier agresión y estas células pueden regular el proceso inflamatorio, falta por esclarecerse. Para ello es necesario establecer si la expresión de HLA DR es común a cualquier proceso inflamatorio independientemente del estímulo inicial, sea infeccioso, alérgico, traumático o proliferativo. Además, el incremento en la expresión de este marcador debería correlacionarse con el grado de severidad y respuesta inflamatoria observada clínicamente y con el daño del tejido. Si se conocen las causas, se podrá clarificar la fisiopatología de dichas alteraciones de la superficie ocular y generar expectativas

para que posteriormente se elaboren tratamientos más efectivos y que reduzcan las complicaciones posteriores.

Ésta investigación tuvo como objetivo determinar si hay expresión del HLA-DR en las células del epitelio conjuntival de pacientes con ojo seco, conjuntivitis alérgica y bacteriana comparando la expresión de éste marcador en las tres patologías estudiadas y los controles para establecer si hay diferencias significativas entre los casos y controles. Adicionalmente relacionar el grado de metaplasia escamosa por citología de impresión en conjuntiva y los test clínicos en los pacientes estudiados y correlacionar entre la expresión de HLA DR y el grado de severidad de la patología establecida clínicamente.

MARCO TEORICO

Conjuntiva

Anatomía.

Características generales

La conjuntiva es una membrana mucosa delgada cuya superficie consiste en dos capas: el epitelio y la sustancia propia.

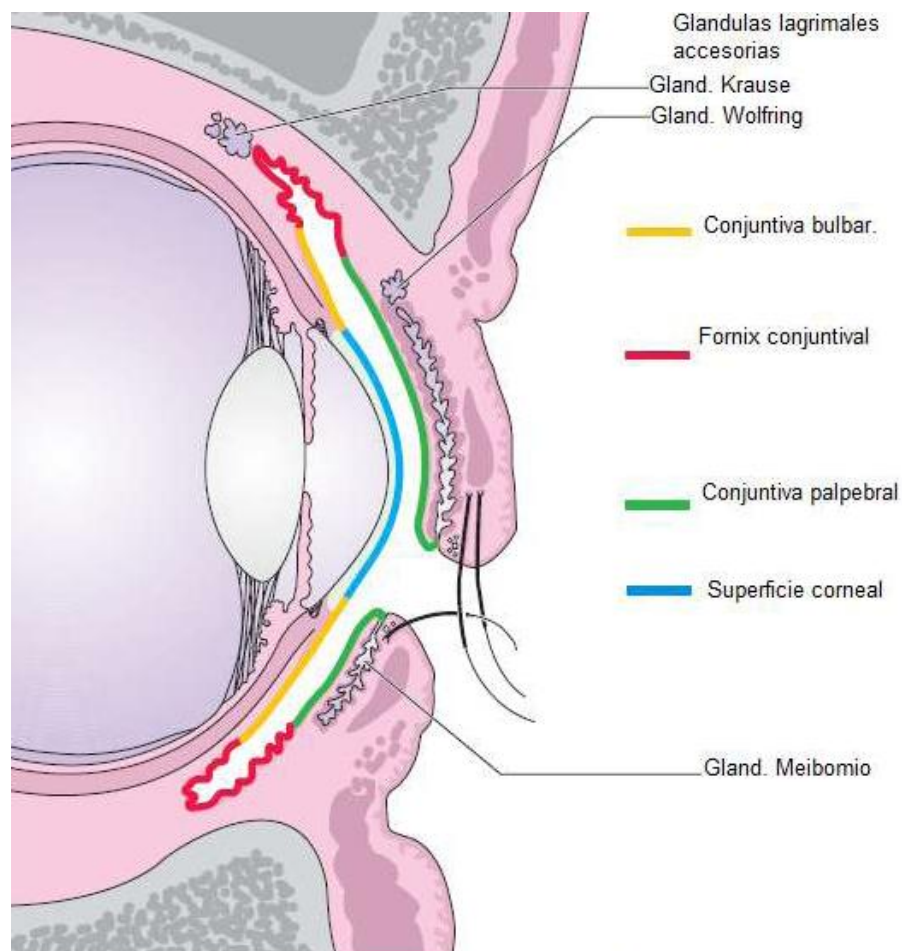
Aunque la conjuntiva es una membrana continua se divide en tres regiones: palpebral, Fórnix y bulbar. La conjuntiva palpebral cubre la parte interna de los párpados superior e inferior, nace en el borde libre por detrás de la línea media que forman los orificios de las glándulas de Meibomio. En ella el epitelio es estratificado sin queratinización. Ésta porción se extiende desde el borde libre, hasta una zona situada a unos 2 mm de la conjuntiva tarsal. La conjuntiva marginal es una zona de transición entre la piel y la conjuntiva y continua a ésta se encuentra la conjuntiva tarsal que se adhiere completamente al tarso y en el borde periférico la parte orbitaria de la conjuntiva tarsal se extiende hasta el fondo de saco.

La conjuntiva bulbar es delgada y transparente, y está en relación con el globo ocular. Se divide en dos partes: escleral y pericorneal. La porción escleral se extiende desde el fórnix a unos 3 mm de la córnea. Está separada de la cápsula de Tenon subyacente por el tejido subconjuntival. Por este espacio circulan las arterias y las venas conjuntivales posteriores. A este nivel la conjuntiva es muy móvil sobre los planos profundos. La porción pericorneal forma un anillo de 3mm de ancho que

Circunscribe la córnea. La conjuntiva está aquí estrechamente adherida a la cápsula de Tenon. (Saraux, 1985)

El saco conjuntival contiene normalmente 7 μ l de lágrima pero puede alojar hasta 30 μ l.

Figura 1. Anatomía de la Conjuntiva.



Fuente: G.Lang. Ophtahlmology. A Pocket Textbook Atlas. 2da. Ed. 2006.

Características celulares

El epitelio está conformado por 5 a 8 capas de las cuales la más superficial contiene células escamosas no queratinizadas mezcladas con células caliciformes,

células de Langerhans y ocasionalmente de melanocitos dendríticos. (Yanoff, 2002), (Abelson, 2001), (American Academy of Ophthalmology, 1992) Las células superficiales de la conjuntiva tienen forma hexagonal de un diámetro medio de 8 mm, con numerosas microvellosidades y criptas superficiales que han sido notadas en la superficie tarsal. La capa media del epitelio contiene células poliédricas y la capa basal contiene células cuboidales y columnales. La capa más profunda es de células cilíndricas como en la epidermis, con capas intermedias de células polihedrales. Las células escamosas son gradualmente remplazadas por células cuboidales y columnares en dirección del saco conjuntival. El número de capas es también reducido pero se mantiene las células cilíndricas a nivel profundo. (Bron, 2002)

Gran parte del margen palpebral está cubierto por epitelio estratificado queratinizado. El cruce mucocutáneo es posterior a la apertura de las glándulas tarsales y es la fase entre las regiones “secas” y húmedas” donde finaliza el flujo lagrimal. Aquí la superficie cambia a células escamosas no queratinizadas, más o menos en cinco estratos, todos nucleados. Las células *Caliciformes* ausentes en el cruce mucocutáneo empiezan a aparecer y son muy numerosas más allá del pliegue subtarsal. (Bron, 2002)

La sustancia propia está localizada debajo de la membrana basal de epitelio y se divide en una capa superficial y una capa fibrosa profunda. La capa superficial compuesta de tejido adenoide contiene muchas células inflamatorias. La capa fibrosa es una densa malla de colágeno y fibras elásticas, la cual está presente en la conjuntiva bulbar y en el Fórnix. Contiene gran cantidad de vasos y nervios que suplen a la conjuntiva.² En su espesor hay linfocitos, histiocitos y plasmocitos. Allansmith et al 1976 consideran que en toda la conjuntiva hay un total de 2.100.000 plasmocitos, frente a los 3.380.000 que hay en las dacrioglándulas acuosas. (Murube, 2002)

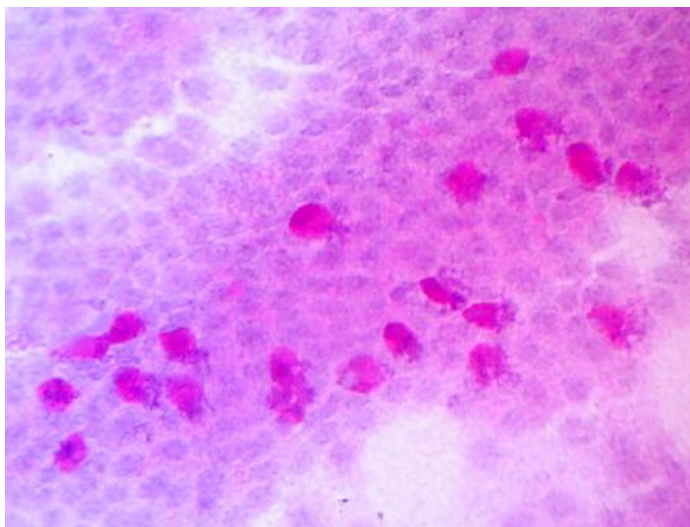
Células caliciformes y Mucina.

Son células mucosecretoras columnares modificadas por acumulación de mucina que ha desplazado el núcleo a la base. Su forma es redonda u oval, y tienen una superficie de 10 – 20 μm , pero llegan a ser más largas y ovaladas cuando se aproximan a la superficie. Son formadas en las capas más profundas del epitelio, desplazándose a la superficie al incrementar de tamaño. Contienen abundantes gránulos secretorios de 0,4 -10 nm de diámetro; encontrándose los más grandes cerca de la membrana cuyo contenido es más homogéneo y menos denso que los gránulos más profundos. Éste tipo de células están presentes en toda la conjuntiva, pero son más numerosas en la carúncula, la plica semilunar y alrededor de las glándulas de Krause en el fórnix superior. (Bron, 2002; Abelson, 2001).

Las *células caliciformes* son en realidad glándulas mucosas unicelulares que humedecen y protegen la conjuntiva y la córnea. (Figura 2) Una vez que las células están en la superficie, la membrana plasmática apical se rompe y los gránulos son liberados a la superficie descargan su contenido de mucina. Las células abiertas son de 1-3 μm en el tarso y de 2- 5 μm en otros sitios. Una vez que las células están en la superficie descargan su contenido de mucina y se degeneran. Se cree que los cuerpos hialinos encontrados en la conjuntiva bulbar normal en el 25% de las personas mayores representa la degeneración de las células caliciformes. (Bron, 2002; Abelson, 2001).

La mucina es esencial para la apropiada distribución y continuidad de la película lagrimal sobre la superficie ocular. Por lo tanto la Xerosis de la conjuntiva resulta en desecación de las células caliciformes y sequedad de la superficie ocular incluso en presencia de producción acuosa por la glándula lagrimal. (Abelson, 2001).

Figura 2. Células Caliciformes: Tiñen de color rosado brillante.



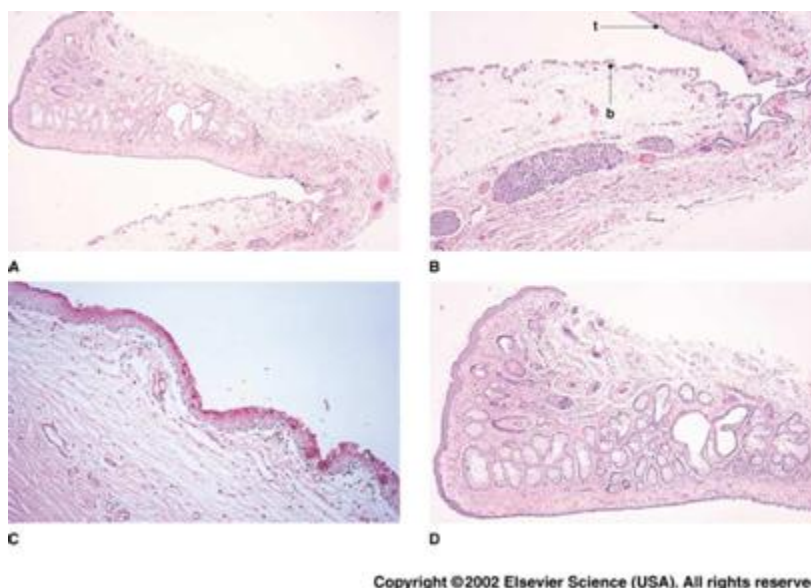
Fuente: Archivo fotografico del proyecto

Células de Langerhans

Fueron descritas en humanos como células dendríticas en el epitelio basal de la cornea (Engelman, 1867) y luego descritas por Sugiura, Waku y Kondo (1962) como parte del sistema de células poligonales. La mayor densidad de células dendríticas fue encontrada en la conjuntiva tarsal por Steul *et al.* (1995) con 4.7 células/mm², seguida por la conjuntiva de fórnix (3,1 células/mm²) y la conjuntiva bulbar (1.0 células /mm²). El número disminuye con la edad con un promedio de 4.4 células/mm² a los 20 años de edad a 1,2 células/mm² a los 60 años. (Bron, 2002)

Las células de Langerhans tienen en su superficie receptores para la IgG, el tercer complemento y antígeno HLA-DR. Estas células no son fagocíticas pero función es la presentación de antígeno, producción de Linfoquinas y prostaglandinas y estimulación de los linfocitos T. También están involucradas en el rechazo al trasplante de córnea y la hipersensibilidad por contacto. Estas células tienen una única ultra estructura con gránulos Birbeck, los cuales se tiñen positivamente con ATPasa, y expresan T-6, S-100 y antígenos HLA-DR en su superficie (los cuales pueden ser detectados por Inmunohistoquímica. (Abelson, 2001).

Figura 3. Corte Histológico de la Conjuntiva Normal.



- A. Epitelio escamoso no queratinizado con células caliciformes localizada en la sustancia propia.
- B. Adherencia de la sustancia propia de la conjuntiva tarsal (t) y bulbar (b) al tejido conectivo tarsal subyacente.
- C. Células Caliciformes de la Conjuntiva.
- D. Conjuntiva tarsal queratinizada.

Fisiología

La conjuntiva tiene funciones de protección y defensa a partir de proceso *mecánicos* (epitelio y secreciones); *inflamatorios e inmunológicos* (sustancias antibacterianas y flora normal). (Wu, 1997)

Inmunología conjuntival

El tejido conjuntival, incluyendo vasos sanguíneos y linfáticos es similar a la epidermis de la piel. En la sustancia propia del limbo esclerocorneal se encuentra gran concentración de mastocitos.

La exposición constante de la superficie ocular a materiales potencialmente antigénicos como microorganismos y sustancias del ambiente, puede generar

frecuentes eventos inmunopatofisiológicos que pueden inducir a que sea, este un lugar potencial para la presentación del antígeno y de la iniciación de respuestas inmunes sistémicas. Los componentes inmunológicos de la superficie ocular pueden llegar a ser involucrados en respuestas inmunológicas sistémicas, con posibles secuelas para la conjuntiva o cornea. (Pepose, 1995)

Los vasos de la conjuntiva son fenestrados y contienen en el tejido estromal IgG e IgA. Las células endoteliales de los microvasos del limbo parecen mostrar características similares a las células de la epidermis tales como: a) Facto VIII – relacionado al antígeno (Factor Von Willerbrand, b) Expresión de antígenos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) Clase I, c) Inducir a la expresión de CMH clase II por interferon gamma (IFN) y d) producción de interleukina-1 alfa. (Pepose, 1995)

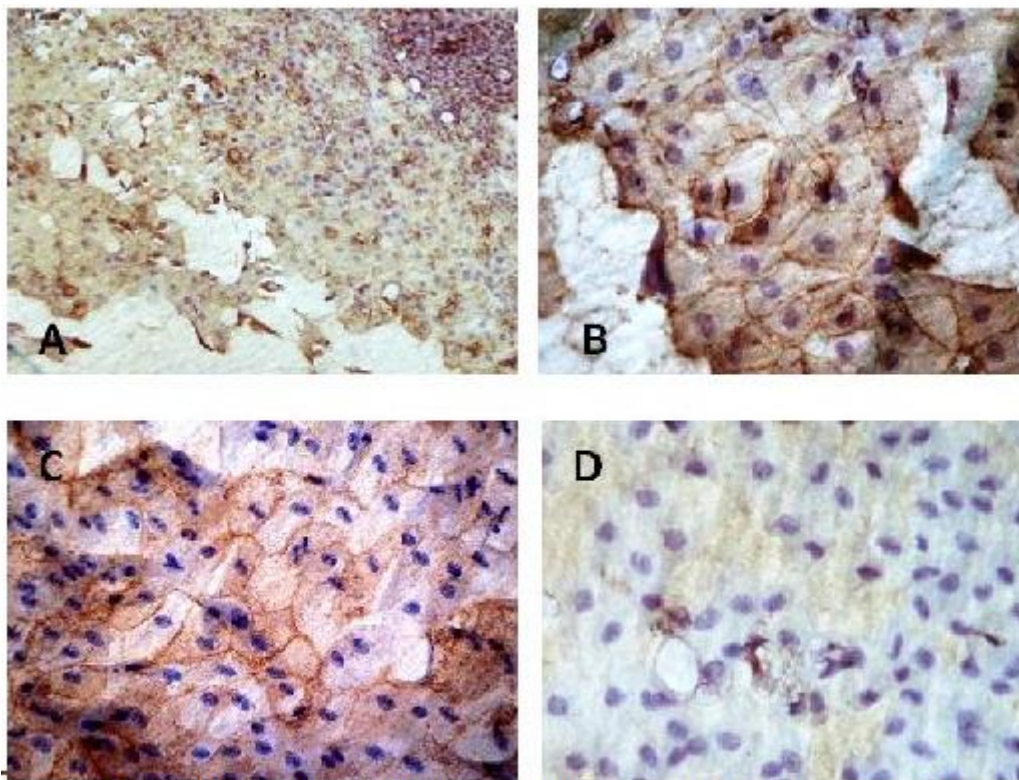
<i>Tabla 1. Células Inmunológicas e inflamatorias en la Conjuntiva (Pepose, 1995)</i>		
TIPO DE CÉLULA	CONJUNTIVA	
	EPITELIO	SUSTANCIA PROPIA
Dendríticas	+	+
Linfocitos T	+	+
Linfocitos T ayudadores	+	+
Linfocitos T supresores	+	+
Linfocitos B	-	+
Plasmáticas	-	+
Leucocitos PMMA	+	+
Mastocitos	-	+
Basófilos	-	-
Eosinófilos	-	-

Expresión de HLA-DR a nivel conjuntival.

La respuesta inmunitaria conjuntival puede ser celular y humoral con síntesis de anticuerpos, principalmente IgA A. (Oftalmología en atención primaria) En la superficie ocular las células epiteliales pueden producir IL- 1 y otras citoquinas bajo condiciones específicas y juegan un papel en la iniciación de la respuesta ocular. Las moléculas de adhesión y las citoquinas que son proteínas de bajo peso molecular son los mecanismos más probables para el flujo de las células inflamatorias a lo largo de la superficie ocular y pueden controlar respuestas biológicas incluyendo el crecimiento celular, diferenciación, respuesta inmune e inflamatoria, expresión de moléculas de adhesión, entre otras funciones. Estos mecanismos pueden justificar presentaciones clínicas como la respuesta papilar y folicular, la migración de células inflamatorias o vasos sanguíneos a la cornea, o la disolución del tejido corneal. También se relación con el rechazo a trasplantes de córnea, expresión de variedad de moléculas de adhesión que son presentes en condiciones normales al igual que la expresión de marcadores inmunológicos como el HLA-DR y moléculas como ICAM - 1, VCAM-1, E-selección, LFA, PECAM-1. (Pepose, 1995)

El HLA-DR es una molécula que hace parte del complejo mayor de histocompatibilidad, este conjunto de proteínas transmembranales responsables de la compatibilidad o rechazo de los tejidos trasplantados. En el caso específico del HLA-DR su principal función es presentar el antígeno a los linfocitos T ayudadores para liberar citoquinas y así activar y amplificar la respuesta inmunológica frente a cualquier tipo de agresión, ya sea infecciosa, alérgica, traumática o proliferativa. (Rodríguez, 2007).

Figura 4. Marcador HLA-DR en células epiteliales conjuntivales.



Fuente: Rodríguez. M. Asociaciones en los síntomas y signos en pacientes con ojo seco. Ciencia y Tecnología N° 11., 2008. 44-47.

A nivel práctico, el HLA-DR sirve como marcador inmunológico (Figura 4) ya que indica que hay un proceso inflamatorio activo. El HLA-DR se expresa constitutivamente, solo en células presentadoras del antígeno, del sistema inmune que son: los macrófagos, Linfocitos B y células de Langerhans en la piel y en la cornea, por lo tanto las células epiteliales de la conjuntiva no deben expresarlo. Hay investigaciones que confirman la expresión de éste marcador a nivel ocular y varios autores refieren que las células epiteliales conjuntivales son la clave de la respuesta del segmento anterior frente a la injuria, siendo ellas las que amplifican el proceso, llevando posiblemente a la pérdida de la tolerancia y el inmunoprivilegio en el ojo, desencadenándose, en mucho casos, procesos autoinmunes. (Rodríguez, 2007).

Las patologías donde se ha comprobado la expresión del HLA-DR en las células epiteliales de la conjuntiva están:

1. En el tracoma, la expresión de esta molécula está relacionada con el pannus y la cicatrización que se produce, especialmente en los casos de mayor hipertrofia papilar. (Mabey, et al, 1991).
2. En el ojo seco asociado o no al Síndrome de Sjogren, son muchos los investigadores que han encontrado expresión de HLA-DR, en las células epiteliales, entre otros factores, como la infiltración de LinfocitosT, y aumento en la producción de varias citoquinas proinflamatorias. (Rojas, 2004).
3. En cuanto a la Conjuntivitis alérgica, la patogénesis involucra la liberación de múltiples mediadores inflamatorios que finalmente son responsables del daño tisular y de los cambios que ocurren en las células epiteliales que expresan moléculas de adhesión, HLA-DR y citoquinas que amplifican la respuesta alérgica. (Irkec, 2003)
4. También se ha encontrado la expresión de esta molécula en enfermedades como la de Graves, Pterigion, glaucoma, incluso en usuarios de lentes de contacto.

Película Lagrimal

Anatomía y Fisiología

La película lagrimal tiene un espesor de 5 a 30 micras y está constituida por los componentes acuoso-proteicos y mucinosos combinados para formar un gel hidratado. Este gel está recubierto por una película lipídica que impide la evaporación lagrimal y mejora la estabilidad de la misma. Para facilitar su estudio se han considerado tres capas que conforman la película lagrimal: La capa Lipídica es una delgadísima película compuesta fundamentalmente por triglicéridos, colesterol, ácidos grasos, ésteres, y fosfolípidos. Su espesor, de 0.1 a 0.2 micrones, varía constantemente por la compresión ejercida por los párpados en el momento del cierre palpebral. Sus funciones son la protección mecánica contra las agresiones del medio ambiente (radiaciones solares, viento, cambios de temperatura, climatización,

etc.) estabilizando la película lagrimal al limitar la evaporación de la capa acuosa que se encuentra inmediatamente por debajo. Este mecanismo es de vital importancia en la fisiopatología del ojo seco. Su secreción depende de las glándulas de Meibomio y en menor medida de las glándulas de Zeis y de Moll (Murube, 2007).

Las glándulas de Meibomio son de tipo sebáceas, intratarsales y se distribuyen uniformemente por el párpado superior en un número de 30 a 40 y en el inferior entre 20 y 30 aproximadamente. De estas glándulas depende casi la totalidad de la secreción lipídica del film. Cada glándula está formada por glóbulos de células secretoras que vierten su contenido en un conducto que sale a nivel del borde palpebral a través de un orificio ubicado entre la línea gris y la unión mucocutánea. Los lípidos sintetizados por el retículo endoplasmático de las células glandulares, son excretados a través del conducto por la acción del músculo orbicular durante el parpadeo. Los componentes polares de estos lípidos, se esparcen más rápidamente que los componentes no polares, y se orientan hacia la capa acuosa. Las porciones no polares se esparcen lentamente y se ubican sobre las fracciones polares para proporcionar espesor a la capa lipídica. Las glándulas de Zeis son de tipo sebáceas, pero pequeñas y rudimentarias. Su estructura es semejante a la de las glándulas de Meibomio y se las considera anexos de las pestañas. Las glándulas de Moll son de tipo sudoríparas, de aspecto glomerular y se distribuyen por los rebordes palpebrales. Tanto las glándulas de Zeis como las de Moll, contribuyen secundariamente a la secreción lipídica de la película lagrimal (Pepouse, 1996).

La capa acuosa es la más importante y voluminosa, ocupa el 90% del volumen total de la película lagrimal. Su espesor es de 6-7 micrones. Su contenido rico en proteínas, electrolitos, minerales y enzimas determinan las funciones fundamentales de esta capa: nutrición del epitelio corneano, protección inmunológica y función refractiva.

En la capa acuosa se encuentran la mayoría de los componentes orgánicos presentes en el plasma: glucosa, vitaminas y precursores vitamínicos (ácido ascórbico, cianocobalamina, lactoflavina, retinol), aminoácidos y fundamentalmente proteínas. La producción por parte de las glándulas lagrimales de Vitamina A, así como también de factores de crecimiento epitelial resulta esencial para mantener la proliferación normal y diferenciación celular de la superficie del epitelio ocular. La concentración total de proteínas de la película lagrimal esta en el orden de los 670mg / 100ml; diez a quince veces menos que en el plasma. Se describen básicamente 3 grupos de proteínas lagrimales provenientes del plasma, la conjuntiva y la glándula lagrimal (Krachmer et al, 2005).

Las proteínas plasmáticas son vertidas a la capa acuosa del film a través de la barrera hemato-lagrimal dependiendo de la concentración existente en el plasma y de factores hidrodinámicos propios de las mismas proteínas, las más importantes son: albúmina, Inmunoglobulinas IgG, IgM, IgA e IgE, complemento, etc. Las proteínas provenientes de la conjuntiva no aparecen en la película en condiciones normales, pero ante procesos inflamatorios, ojo seco, y otros estados patológicos, se puede comprobar la presencia de ciertas macromoléculas. Las proteínas provenientes de la glándula lagrimal, constituyen el 99% del total de las proteínas del film, y son sintetizadas por la glándula lagrimal principal y por las glándulas accesorias de Krause y de Wolfring. El principal papel de las proteínas en las lágrimas es la de protección frente a cualquier tipo de agresión (Pepouse, 1996).

La Inmunoglobulina A secretora (IgA) es la principal inmunoglobulina presente en las lágrimas. Su estructura está formada por un dímero constituido por cadenas pesadas unidas por una cadena J y una pieza secretora que es la principal diferencia entre esta inmunoglobulina y la IgA sérica, además es responsable de la resistencia de la IgA secretora a la acción de las enzimas proteolíticas, se sintetiza a partir de los plasmocitos de la periferia de los acinos glandulares y las células epiteliales le anexan el componente secretor por cada dos moléculas de inmunoglobulina A. Su

concentración es de aproximadamente 100mg/l en las lágrimas, mucho más alta que en suero. Estas inmunoglobulinas se unen formando una cadena continua de anticuerpos lo que le confiere un papel esencial para la defensa contra infecciones bacterianas y virales. La IgA no tiene capacidad para fijar al complemento, pero previene la adherencia de las bacterias o virus a la superficie de la mucosa aglutinándolos o neutralizándolos. Las IgM, IgG e IgE, tienen una pobre concentración dentro de la capa acuosa y proviene del sector vascular (Pepouse, 2005).

El complemento está formado por una serie de proteínas. Sus funciones pueden resumirse en: inmunoaderencia, opsonización, aumento de la permeabilidad capilar, quimiotaxis y lisis celular. En la capa acuosa del film lagrimal se encuentran fundamentalmente las fracciones C3 y C4. Las enzimas como la lisozima y lactoferrina tienen actividad antibacteriana, la lactoferrina constituye aproximadamente el 30% del contenido proteico de las lágrimas. La concentración de estas proteínas decae significativamente en pacientes con ojo seco (Dumortier y Chaumeil, 2004).

La capa Mucosa es una película de apenas 0.02-0.04 micrones de espesor, en íntimo contacto con el epitelio corneo conjuntival, cuyo componente mucoso presenta una estructura bilaminar. El origen de esta capa mucosa, depende íntimamente de la secreción de las células mucosecretantes conjuntivales, denominadas también células caliciformes o globet cells, y en menor medida de las células epiteliales. Las células mucosecretantes se distribuyen por toda la conjuntiva, pero su mayor densidad se encuentra en el sector nasal inferior y especialmente a nivel de la conjuntiva tarsal. Son células de aspecto globuloso, cilíndricas, de 2-4micras de diámetro, cuyo citoplasma se encuentra ocupado por gran cantidad de gránulos de mucus y por un voluminoso núcleo (Ohashi et al 2006).

La película lagrimal sirve como protección y nutrición del epitelio corneal y conjuntival. El epitelio de la superficie ocular es no queratinizado, estratificado con variaciones morfológicas en cada tejido, cornea, limbo y conjuntiva (Tseng, 1999).

Inflamación.

La inflamación es la respuesta del tejido a una noxa o estímulo extraño que actúa sobre el organismo y no es reconocido como propio. El tejido afectado puede ser totalmente celular, compuesto esencialmente por materiales extracelulares o mixtos. La respuesta puede ser localizada o generalizada, y la noxa puede ser de tipo infeccioso o no infeccioso. La respuesta puede involucrar reacciones específicas (inmunológicas) o no específicas. Las reacciones inmunes inician con una respuesta específica a antígenos, pero puede involucrar componentes tanto específicos (anticuerpos y Linfocitos T,) como inespecíficos (Células Natural Killer (NK)). (Harry y Misson, G, 2001).

Las causas no infecciosas pueden ser exógenas o endógenas. Las *exógenas* se originan en la superficie del ojo y del cuerpo, incluyendo lesiones oculares penetrantes, perforantes, radiación, etc.; lesiones químicas (álcalis) y reacciones alérgicas a antígenos externos como la conjuntivitis vernal. Las causas *endógenas* son originadas en el ojo e incluyen inflamación secundaria a células inmunes (por ejemplo endoftalmitis), propagación de estructuras continuas como en el caso de la sinusitis; y condiciones desconocidas. Las causas de tipo infeccioso incluyen agentes virales, bacterianos, fúngicos y parasitarios

La inflamación se puede dar en tres fases: aguda, subaguda y crónica. La fase *aguda* o *inmediata* posee cinco signos esenciales: rubor, calor, edema, dolor y pérdida de la función. Está relacionada con la liberación de histamina que se encuentra en gránulos de los mastocitos, en los basófilos y las plaquetas; y factores provenientes del plasma como los sistemas de complemento y coagulación. La fase *subaguda* o intermedia es variable y se relaciona con la restauración de la homeostasis normal o el agotamiento de las defensas locales resultando en necrosis,

recurrencia o cronicidad. La fase *crónica* es la respuesta a una lesión que ha pasado por las dos fases anteriores y no ha podido ser resuelta, o podría iniciar como una inflamación crónica como en el caso de la tuberculosis o la sarcoidosis (Harry, J, Misson, G, 2001).

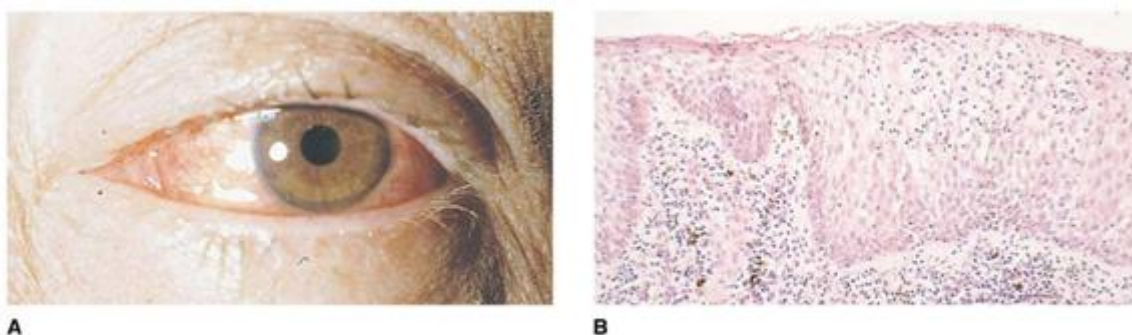
Inflamación de la conjuntiva

Los cambios histológicos que ocurren en la conjuntiva durante un proceso inflamatorio varían según la fase en la que se encuentre. (Figura 5)

Fase aguda

1. Edema (quemosis), hiperemia y exudados celulares.

Figura 5. Inflamación Aguda de la Conjuntiva.



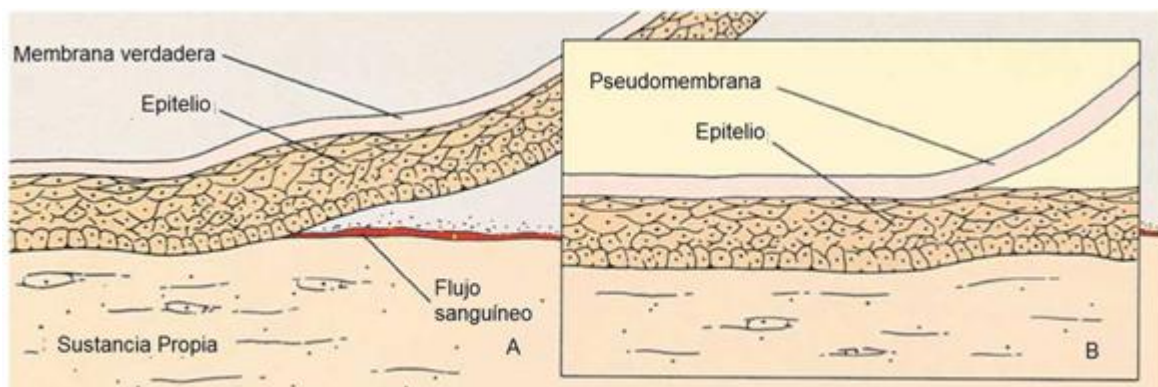
Copyright ©2002 Elsevier Science (USA). All rights reserved.

- A. Conjuntivitis Aguda.
 B. Leucocitos Polimorfonucleados (PMMA) infiltrados en el epitelio edematizado y sustancia propia.

2. Se producen también membranas inflamatorias que pueden ser *verdaderas* (Figura 6-A), las cuales consisten en un exudado de desechos fibrinosos y celulares firmemente adheridos a la superficie del epitelio, característicamente cuando la membrana es removida, el epitelio también dejando a la vista la superficie sangrando. Ésta condición puede ser vista en Queratoconjuntivitis, Síndrome de Stevens-Johnson e infecciones

causadas por *Pneumococos*, *Estafilococo aureus* y *Corinobacterium Diphtheriae*. Por otro lado pueden presentarse *Pseudomembranas* que son también exudados de desechos fibrinosos y celulares, pero no están adheridos al epitelio y por lo tanto pueden ser retirados fácilmente. Las *Pseudomembranas* (Figura 6-B) se pueden encontrar en Queratoconjuntivitis y Síndrome de Stevens-Johnson al igual que las membranas verdaderas, al igual que en la Faringoconjuntivitis de Fever, conjuntivitis vernal, quemaduras por álcalis e infecciones causadas por *Streptococo piogenes* y *Corinobacterium Diphtheriae*.

Figura 6. Membranas Inflamatorias.



Copyright ©2002 Elsevier Science (USA). All rights reserved.

- A. Membranas Verdaderas.
B. Pseudomembranas.

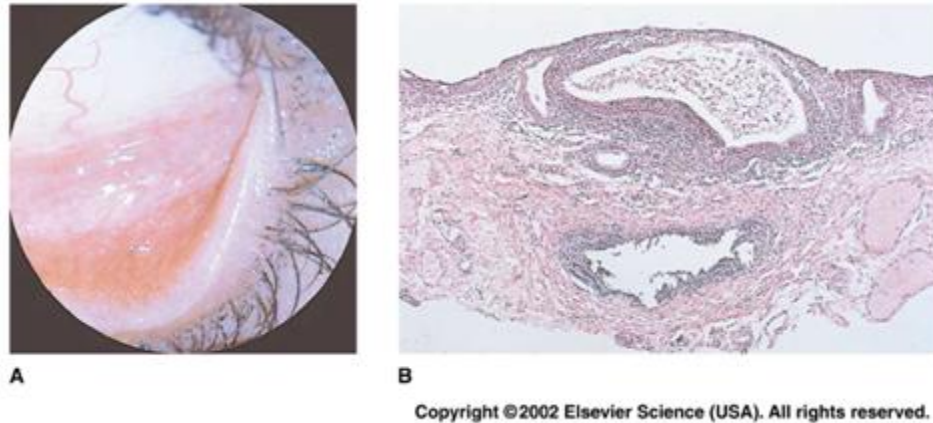
3. *Ulceraciones* o pérdida del epitelio con o sin pérdida del tejido subepitelial asociado con un infiltrado celular inflamatorio.
4. *Flictenula*, que inicia como una reacción inflamatoria localizada, seguida por necrosis central e infiltración de linfocitos y células del plasma.

Fase crónica

1. El epitelio y las células caliciformes incrementan en número generando hiperplasia.

2. Hipertrofia papilar.
3. Hipertrofia folicular.
4. Deficiencia de vitamina A o sequedad que podría causa queratinización.
5. Formación de tejido granulomatoso.

Figura 7. Conjuntivitis Crónica.

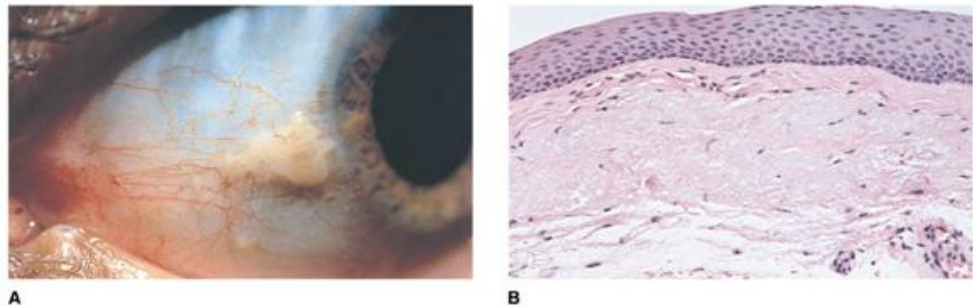


- A. Conjuntiva más densa con microquistes amarillos.
- B. Corte histológico muestra quistes y acumulación de linfocitos alrededor.

Degeneraciones de la conjuntiva

La conjuntiva puede presentar múltiples degeneraciones, entre las cuales se encuentran la *Pinguecula* y el *Pterigion*. La *Pinguecula* (Figura 8) es un área localizada y elevada ubicada cerca al limbo con apariencia blanco amarillenta. Usualmente se encuentra nasalmente y bilateral en adultos jóvenes y mayores.

Figura 8. Pinguecula.



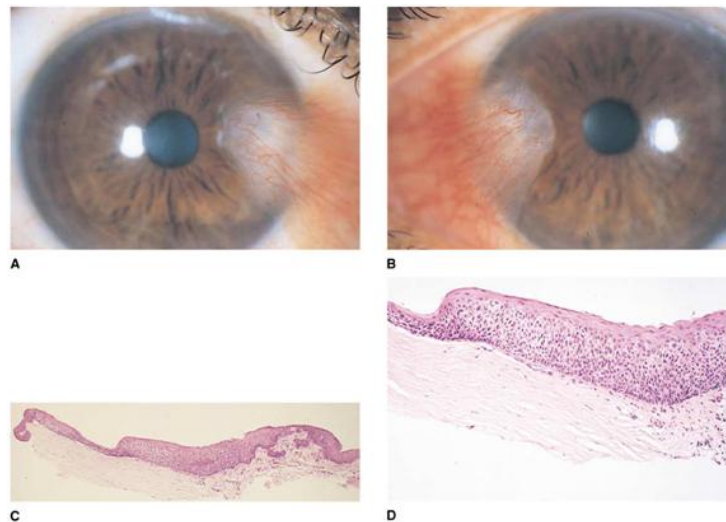
Copyright ©2002 Elsevier Science (USA). All rights reserved.

A. Pinguecula cerca al limbo esclero-corneal.

B. Degeneración basofílica de la sustancia propia.

El Pterigion (Figura 9) tiene componentes histológicos idénticos a la Pinguecula. Se desarrolla generalmente nasal y muchas veces bilateral. Histológicamente tanto la Pinguecula como el Pterigion presentan una degeneración basofílica manifestada en elasticidad senil del tejido subepitelial (sustancia propia) e irregularidad con concreciones subepiteliales densas. Estas degeneraciones contienen elastina, proteínas microfibrilares, amiloide P que son componentes que no se localizan normalmente.

Figura 9. Pterigion.



Copyright ©2002 Elsevier Science (USA). All rights reserved.

A. Apariencia típica de pterigion nasal en ojo derecho (A) e izquierdo (B).

Ojo seco

Definición

El Síndrome de ojo seco es una de las enfermedades oculares más frecuentes todo el mundo (Albeitz, 2000); se le considera una condición multifactorial caracterizada por la deficiencia en la cantidad o calidad de la película lagrimal y el daño en la superficie ocular por lo cual también se le conoce como Queratoconjuntivitis sicca (KCS) (Albeitz, 2001). La deficiencia en cualquier componente de la película lagrimal es el factor que desencadena el daño en la superficie ocular.

El ojo seco es un proceso patológico de la superficie ocular producido por un déficit en la cantidad y/o en la calidad del film lagrimal, que de esta manera se hace incapaz de mantener la salud de los epitelios de la córnea y de la conjuntiva. Esto produce Metaplasia epitelial de tipo escamosa y daño celular (Jhonson y Murphy 2004).

Prevalencia

El ojo seco aumenta con la edad, afecta aproximadamente al 5% de la población adulta en la cuarta década de la vida y aumentando hasta el 10%-15% en los adultos mayores de 65 años. Varios estudios epidemiológicos han demostrado mayor prevalencia entre las mujeres. Hasta la fecha parece que éste síndrome afecta por igual a todos los grupos raciales y étnicos. (García, 2009)

Etiología.

Puede ser:

1. Idiopático
2. Producido comúnmente por cambios hormonales como en el caso de mujeres pre y post menopáusicas.

3. En enfermedades de tejido conectivo como la Artritis Reumatoide, Síndrome de Sjogren, Granulomatosis de Wegener y Lupus Eritematoso.
4. Producido luego de cicatrización conjuntival como en el caso del síndrome de Stevens-Johnson, Tracoma, quemadura por químicos etc.
5. A causa de ciertos fármacos tales como anticonceptivos orales, antihistamínicos, β – bloqueadores, atropina y fenotiazinas.
6. Debido a infiltración de la glándula lagrimal en caso de Sarcoidosis o tumor.
7. Por deficiencia de Vitamina A, en casos de malnutrición o defectos de absorción del intestino.
8. Pos- cirugía refractiva (Lasik)
9. Varios autores hablan de interrupción de los nervios corneales y una interferencia en la producción de la lágrima refleja.

Clasificación

El daño de la superficie ocular parece empezar como consecuencia de la hiperosmolaridad de la película lagrimal, como consecuencia de la evaporación de la superficie a una velocidad normal en relación con la disminución de la producción de la lágrima acuosa, o por la evaporación excesiva asociada a una producción acuosa normal. En consecuencia, el tipo de deficiencia clasifica el ojo seco en: (Sutphin, 2007).

Ojo seco acuodeficiente (deficiencia lagrimal acuosa)

Se presenta por disfunción de las estructuras anatómicas encargadas de la producción de los componentes acuosos de la película lagrimal. Los signos incluyen descenso de la producción del componente acuoso de la lágrima (en prueba de Schirmer), tinción conjuntival o corneal con verde lisamina o rosa de Bengala como patrón característico de la exposición, tinción con fluoresceína y queratopatía filamentosa. (Sutphin, 2007).

Presentación Clínica.

La presentación clínica varía desde una irritación leve con alteraciones mínimas de la superficie ocular, a una irritación intensa y discapacitante, en ocasiones asociada a complicaciones corneales que ponen en peligro la visión. La fase avanzada puede incluir el desarrollo de calcificación corneal, en particular asociada al empleo de medicamentos tópicos como los antiglaucomatosos, queratopatía en banda y queratinización de la córnea y la conjuntiva.

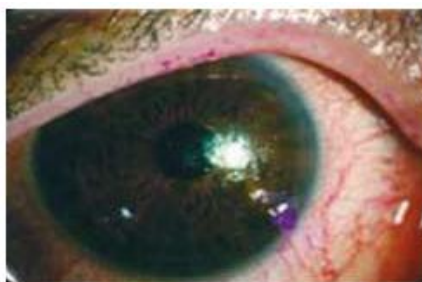
Síntomas.

Empeoran al final del día, con el trabajo visual excesivo o con la exposición a condiciones ambientales externas. La sensación de cuerpo extraño es un síntoma asociado con frecuencia a la queratopatía epitelial puntiforme. Las molestias asociadas son sensación de quemazón, de sequedad, fotofobia y visión borrosa.

Signos

Incluyen hiperemia conjuntival bulbar, pliegues conjuntivales, descenso del menisco lagrimal, irregularidades de la superficie corneal y aumento de desechos en la película lagrimal, queratopatía epitelial que puede ser fina o granular, extensa o confluyente. (Figura 10)

Figura 10. Alteraciones anatómicas del Ojo Seco.



Fuente: García. P. Modulo 5:
Diagnóstico Ojo Seco. Diplomado
Ojo Seco. Ophtha- Fedopto. 2009

Los pacientes que muestran signos y síntomas de este tipo, se dividen en dos subgrupos de casos: Con Síndrome de Sjögren y Alteraciones acuosas y sin Síndrome de Sjögren. (Sutphin, 2007).

1. Con Síndrome de Sjögren (S.S): Es clásicamente definido por la presencia de por lo menos dos componentes de una triada clínica que consiste en: ojo seco (xeroftalmia), boca seca (xerostomía) y enfermedad autoinmune (usualmente Artritis reumatoidea) que es la principal causa de la disfunción glandular. Éste se puede dividir en primario y secundario.
2. Sin Síndrome de Sjögren: Se subdivide en enfermedad lagrimal (primario o secundaria), obstrucción lagrimal e hiposecreción refleja. (Sutphin, 2007).

Ojo Seco Evaporativo

Está determinado por un grupo de enfermedades que alteran la constitución normal de la capa lipídica de la película lagrimal. Se divide en cuatro subgrupos: Deficiencia lipídica primaria y secundaria, relacionado con los párpados, lentes de contacto y cambios en la superficie ocular (Aguilar, 1999).

Existen otros parámetros para la clasificación del ojo seco y se trata de la Triple clasificación de Madrid, donde se toman tres parámetros:

Según etiología

Existen más de 100 etiologías diferentes que se agrupan en 10 familias, las cuales a su vez caben dentro de dos tipos de deficiencia:

1. Afección de muchos sistemas exocrinos (lagrimal, salival, traqueo bronquial etc.): Relacionada a la edad, hormonal, farmacológico, inmunológico e hipo nutricional.
2. Afección de un solo tipo de secreción glandular en el ojo (acuosa, lipídica, mucinosa): Disgenético, inflamatorio, traumático, neurológico y tantálico.

Histopatología

Esta clasificación complementa la clasificación etiológica, ya que orienta acerca de cuál es el tipo de deficiencia secretora en el paciente:

1. Acuodeficiente (Glándula lagrimal principal y accesoria)
2. Lipodeficiente (Glándulas del Meibomio, Zeis y Moll)
3. Mucodeficiente (Células caliciformes y epiteliales)
4. Epiteliopática
5. Sin deficiencia exocrina ocular

Severidad clínica

La severidad clínica puede ser expresada en tres grados, leve, moderado y severo. (Murube et al, 2005).

1. Grado 1. Leve: Presencia de síntomas de ojo seco, al que el paciente interpreta como una molestia superflua que se ponen de manifiesto cuando se expone a situaciones de mayor necesidad de lágrima como cambios ambientales, ventiladores, aire acondicionado, sol, viento uso lentes de contacto, computadores, televisores, etc., o personales, nerviosismo, psicotensión, toma de fármacos de acción secundaria hiposecretora. Lesiones de superficie reversibles, no diagnosticables por fentobiomicroscopia en la mayoría de los casos. Test clínicos negativos.
2. Gado 2: Moderado: sintomatología muy clara lo cual afecta al paciente casi a diario, presencia de otros síntomas subjetivos de sequedad ocular: dificultad de abrir los ojos al despertar por la mañana o después de la siesta, sensación de arenilla en los ojos, quemazón, hormigueo, fotofobia, crisis de visión borrosa, etc. Los signos biomicroscópicos son bien evidentes. Test clínicos positivos.
3. Grado 3: Severo: Presencia de sintomatología diariamente, sumamente molesta para el paciente incluso incapacitante. No hay tolerancia a los mínimos cambios ambientales. Los signos son muy marcados, en la

biomicroscopía se observan lesiones como queratitis punteadas, micro erosiones, filamentos, ulceraciones, o secuelas de la superficie irreversibles, como leucoma cicatriciales, opacidades corneales, neovascularización corneal, de pliegues lacunares, simbléfaron. Test clínicos positivos (Murube et al, 2005).

Figura 11. Filamentos Mucosos en el Ojo Seco.



Fuente: kanski. J. Oftalmología clinica. editorial elsevier.5 ed., 2006

Diagnóstico

El diagnóstico de ojo seco, en muchas ocasiones, es difícil dada su etiología multifactorial. No obstante, existen una serie de herramientas para llegar a su diagnóstico, como la clínica del paciente, diversos cuestionarios que reflejan la sintomatología característica de esta patología, la exploración biomicroscópica con sustancias como la fluoresceína, el rosa de bengala o el verde de lisamina y los test clínicos (Albeitz, 2001).

Entre los test clínicos, el test de Schirmer es considerado por muchos la prueba oro por excelencia para el diagnóstico del ojo seco. Mide de forma directa la secreción lagrimal y de forma indirecta su drenaje aunque es poco sensible, poco específico y poco reproducible. Por lo tanto, tiene un amplio margen de falsos positivos y de falsos negativos a la hora de diferenciar pacientes con ojo seco de los controles (Serin et al 2007).

El BUT (Break up Time) es el intervalo de tiempo transcurrido entre un parpadeo y la primera aparición de un islote de desecación corneal.

Las pruebas de laboratorio son más específicas, pero muchas de ellas no se realizan de rutina para diagnóstico, debido a la complejidad de la técnica y en muchas ocasiones por el costo de los reactivos y equipos utilizados. El estudio de la osmolaridad lagrimal, el análisis de las proteínas integrantes de la lágrima, las pruebas de cristalización o la toma de biopsias conjuntivales para su estudio histológico, son pruebas más objetivas (Dumortier y Chaumeil 2004).

La citología de impresión es más sensible para confirmar el diagnóstico en casos moderados y severos de ojo seco (Jackson 1999, Murube y Rivas 2002). Esto refleja la consecuencia del daño celular, debido en gran parte a la respuesta inflamatoria. La citología de impresión ha permitido descubrir las alteraciones celulares del epitelio ocular en múltiples enfermedades de la superficie ocular, principalmente en el diagnóstico del ojo seco.

Tratamiento

El tratamiento correcto del síndrome del ojo seco depende de los síntomas del paciente, la etiología, los hallazgos clínicos, la evolución natural de la enfermedad y su asociación con otras patologías simultáneas.

Los objetivos del tratamiento son:

1. Aliviar el dolor, ardor, sensación de cuerpo extraño y demás síntomas.
2. Mantener una superficie óptica uniforme.
3. Prevenir lesiones corneales
4. Evitar irritaciones oculares de cualquier tipo, a las que el ojo seco tiene menor resistencia.
5. Prevenir y tratar las causas predisponentes, en la medida en que sea posible.

Aquí se formula una propuesta de tratamiento que depende de la severidad y de los signos del paciente (García, 2009):

Tabla 2. Tratamiento del Ojo Seco según la severidad. (García, 2009)	
SEVERIDAD	TRATAMIENTO
LEVE	<ul style="list-style-type: none"> •Educación y modificaciones ambientales y alimenticias. •Eliminación de los medicamentos sistémicos causantes. •Sustitutos lagrimales artificiales, geles o ungüentos. •Terapia palpebral: compresas calientes e higiene palpebral. •Tratamiento de los factores oculares: blefaritis, meibomitis, conjuntivitis.
MODERADO	<ul style="list-style-type: none"> •Educación y modificaciones ambientales y alimenticias. •Eliminación de los medicamentos sistémicos causantes. •Sustitutos lagrimales artificiales, geles o ungüentos. •Terapia palpebral: compresas calientes e higiene palpebral. •Tratamiento de los factores oculares: blefaritis, meibomitis, conjuntivitis. •Agentes anti-inflamatorios: Corticoides tópicos, ciclosporina A tópica, Ácidos omega-3 sistémicos. •Tetraciclinas (para meibomitis, rosácea) •Tapones lagrimales. •Anteojos con protectores laterales o de cámara húmeda.
SEVERIDAD	<ul style="list-style-type: none"> •Educación y modificaciones ambientales y alimenticias. •Eliminación de los medicamentos sistémicos causantes. •Sustitutos lagrimales artificiales, geles o ungüentos. •Terapia palpebral: compresas calientes e higiene palpebral. •Tratamiento de los factores oculares: blefaritis, meibomitis, conjuntivitis. •Agentes anti-inflamatorios: Corticoides tópicos, ciclosporina A tópica, Ácidos omega-3 sistémicos. •Tetraciclinas (para meibomitis, rosácea) •Tapones lagrimales. •Anteojos con protectores laterales o de cámara húmeda. •Agentes antiinflamatorios. •Agentes mucolíticos. •Suero autólogo, suero del cordón umbilical •Lentes de contacto •Oclusión permanente de los puntos lagrimales. •Cirugía: párpados, tarsorrafia, injerto de membrana mucosa, transposición del ducto de las glándulas salivares. •Trasplante de la membrana amniótica.

Conjuntivitis Alérgica

Definición

La conjuntivitis alérgica se produce como una reacción de hipersensibilidad tipo I a nivel ocular y esta mediada por los mastocitos y la IgE que se encuentra en su superficie. Es una reacción local manifestada en edema palpebral y conjuntival, lagrimeo y puede ocasionar imposibilidad para abrir normalmente los párpados. Puede haber secreción mucosa o purulenta si hay una infección secundaria. En su forma más leve, la conjuntiva se inflama en respuesta a un alérgeno transitorio o persistente, y produce síntomas molestos (Tomás & Arrondo, 2003).

Epidemiología

Es la alergia más prevalente en el ojo. Se estima que ocurre aproximadamente en el 20% de la población. La alergia puede iniciar desde la infancia hasta la pubertad aunque puede recurrir más tarde.

Los factores pre disponentes son la herencia donde los pacientes que desarrollan conjuntivitis alérgica aguda en la vida adulta generalmente tienen historia familiar relacionada con alergias; frecuentemente se asocia a condiciones sistémicas como rinitis, dermatitis y asma. La zona geográfica puede generar complicaciones en especial en los tipos estacional y perenne. (Tomás & Arrondo, 2003).

Etiología y fisiopatogénesis.

Es multifactorial. La patogénesis involucra una fase de sensibilización y una efectora, en las que se liberan múltiples mediadores inflamatorios que finalmente son responsables del daño tisular y de los cambios que ocurren en las células epiteliales, que al ser estimuladas por la liberación de histamina, expresan moléculas de adhesión, HLA-DR y citoquinas pro inflamatorias que amplifican la respuesta alérgica.(Irkec, 2003)

El factor inicial del proceso inflamatorio es la degranulación del mastocito seguida de la respuesta en cascada de los mediadores. Las proteínas del alérgeno se disuelven en la lágrima y se unen a los anticuerpos de la IgE que están adheridas a la membrana celular de los mastocitos o basófilos y causan la degranulación de las células. La IgE es la principal inmunoglobulina citotrópica en humanos.

Después de la sensibilización del individuo, el complejo antígeno-anticuerpo de la IgE unido a los receptores Fc de los mastocitos causa la agregación de los receptores. Éstos eventos llevan a la degranulación del mastocito y la liberación de los mediadores químicos desde los gránulos secretores que estimulan a los mastocitos para sintetizar y secretar los mediadores que derivan del ácido Araquidónico y producen los signos y síntomas de éste tipo de conjuntivitis. La resolución de la inflamación usualmente es rápida al remover el antígeno, pero inmediatamente la reacción de hipersensibilidad no siempre tiene un periodo corto de vida (Abelson, 2001)

Características Clínicas

El desarrollo de la inflamación depende de tres factores: a) el tipo de alérgeno, b) tiempo y cantidad de exposición al alérgeno y c) características individuales del sujeto.

Síntomas

El síntoma más significativo es el prurito. Los pacientes también pueden tener lagrimeo, sensación de quemazón, y presión detrás de los ojos y las orejas. En algunos pacientes los síntomas pueden cursar con periodos de resolución y exacerbación durante la exposición. Adicionalmente, en clima seco tienden a empeorar, mientras que en clima frío por la humedad pueden mejorar (Pepose, 1995)

Signos

El paciente presenta hiperemia conjuntival, quemosis, hinchazón del párpado (periorbital). La conjuntiva puede parecer de color rosado pálido y lechoso como resultado del edema y la dilatación de los vasos conjuntivales. En las fases agudas, los pacientes pueden tener descarga acuosa clara, mientras que en fases crónicas puede haber un exudado mucopurulento, y denso. Frecuentemente se puede encontrar la línea de Dennie (bolsa prominente bajo el párpado).

Figura 12. Reacción Papilar Leve en Conjuntivitis Alérgica.



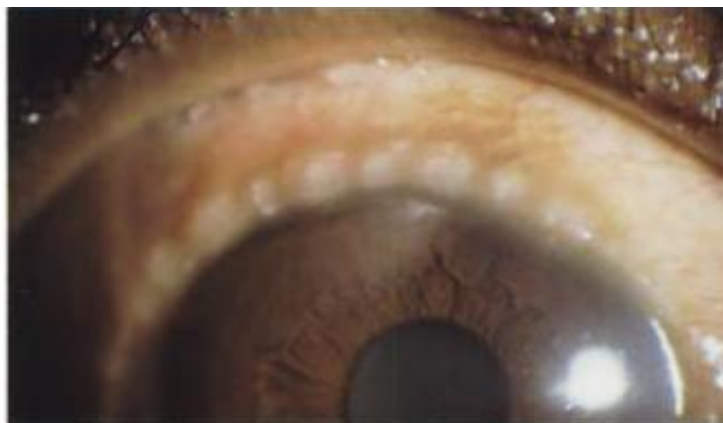
Fuente: kanski. J. Oftalmología clinica.
editorial elsevier.5 ed., 2006

Figura 13. Reacción Papilar Severa en Conjuntivitis Alérgica.



Fuente: kanski. J. Oftalmología clinica.
editorial elsevier.5 ed., 2006

Figura 14. Nódulos de Tantra en Conjuntivitis Alérgica.



Fuente: kanski. J. Oftalmología clínica.
editorial elsevier.5 ed., 2006

Clasificación

La conjuntivitis alérgica se puede clasificar según el tiempo de evolución en:
Aguda o crónica. Y dependiendo el tipo de alérgeno puede ser:

Tabla 3. Clasificación de la Conjuntivitis Alérgica. (Fontenla, JR. Et al, 2009)
<i>Conjuntivitis alérgica</i>
1. Rinoconjuntivitis alérgica o fiebre del heno
2. Estacional
3. Crónica
4. Anafilaxis aguda
<i>Conjuntivitis papilar gigante</i>
1. Inducida por lentes de contacto
2. Queratoconjuntivitis vernal
3. Queratoconjuntivitis atópica
<i>Enfermedad microbioalérgica</i>
1. Infiltrados y úlceras catarrales
2. Queratoconjuntivitis flictenular
<i>Dermatoconjuntivitis de contacto</i>

Diagnóstico

El diagnóstico se basa en la correlación entre los síntomas y los hallazgos clínicos mediante una exploración por biomicroscopía que permite clasificarla por grados de severidad: leve, moderada, severa; según la presencia de uno o más signos conjuntos y el compromiso ocular.

Hay test de laboratorio que mediante frotis conjuntival buscan la presencia de eosinófilos que están presentes en el 20% a 80% de casos de conjuntivitis alérgica aguda. También los niveles en lágrima de Histamina e IgE niveles cuyos son elevados en muchos pacientes (mayor de 4IU/mL) y se puede estimar la actividad de mastocitos con técnicas inmunológicas para Tryptasa, que es una enzima exclusiva de éstas células, pero es detectable solo en fases tempranas. (Abelson, 2001)

Tratamiento

Se debe evitar el contacto con el alérgeno y tomar medidas en el ambiente del paciente como cambiar alfombras y cubrir cojines con materiales impermeables. Mejorar los hábitos alimenticios disminuyendo el consumo de alimentos que contengan conservantes, lácteos y carnes embutidas y de cerdo.

Para aliviar la sintomatología se pueden usar como compresas frías, lágrimas artificiales y uso de filtros de aire.

El tratamiento farmacológico comprende el uso de antialérgicos preferiblemente moléculas de última generación que proporcionen una acción rápida y sostenida como el Ketotifeno, la Olopatadina, Azelastina y Epinastina entre otros. Uso de asociaciones de vasoconstrictores y antihistamínicos tópicos que controlan el prurito y la hiperemia, éstos pueden emplearse por periodos controlados. Los Antihistamínicos tópicos como la levocabastina, muy potente y rápida en el control de los síntomas. Los estabilizadores de membrana actúan estabilizando la membrana

de los mastocitos y por lo tanto impidiendo su degranulación en este grupo se encuentra a nivel ocular el cromoglicato sódico tópico, que tarda unas dos semanas en actuar (no actúa sobre la histamina ya liberada), por lo que durante ese tiempo se deben usar otros fármacos conjuntos.

Los corticoides tópicos pueden usarse para controlar los signos y síntomas de manera rápida y efectiva, pero debe indicarse al paciente su forma de uso y duración del tratamiento, debido a los graves efectos secundarios pueden provocar. Si la conjuntivitis es moderada son útiles los antiinflamatorios no esteroideos para el control de los síntomas oculares los más utilizados son el diclofenaco y el ketorolaco. (Fontenla, Et al.)

Conjuntivitis Bacteriana

Definición.

La conjuntivitis bacteriana se caracteriza por una infección aguda (duración de 3 semanas) y autolimitada de la superficie conjuntival que evoca una respuesta inflamatoria aguda con secreción purulenta. Los casos pueden aparecer de forma espontánea o epidémica. (Pepose, 1995)

Figura 15. Inflamación Conjuntival producida por agente bacteriano.



Fuente: kanski. J. Oftalmología clinica.
editorial elsevier.5 ed., 2006

Etiología.

Los patógenos etiológicos más frecuentes son *Streptococo Pneumonie*, *Stafilococo aureus* y *H. Influenzae*.

Muchas bacterias pueden ser el agente patógeno de la conjuntivitis. En clima templado, la conjuntivitis bacteriana en adultos sin compromiso inmune es más frecuentemente.

Éste tipo de conjuntivitis es caracterizada por un crecimiento bacterial exagerado en la superficie conjuntival que produce una inflamación aguda o crónica. Aunque la mayoría de los casos son auto-limitados pueden causar serios problemas oculares si no son tratados apropiadamente. (PePOSE, 1995)

Epidemiología

Incidencia. Aunque la incidencia precisa es desconocida, se sabe que es mayor en niños y adultos jóvenes que en sujetos mayores.

Transmisión

El tipo de transmisión predominante es el contacto mano-ojo. En ciertos casos puede haber otras rutas de trasmisión.

Endógenos	Exógenos
Por Contigüidad con: Párpados Córnea Sistema de drenaje nasolagrimal	Oculogenital Relaciones sexuales Parto
	Vía mano-ojo
Sanguínea (Hematógena)	Adminículos varios Lentes de contacto Fracos goteros Microscopios
Vía mano-ojo: Oculogenital Inoculación cruzada del otro ojo.	Insectos
	Nosocomial

La propagación de estructuras contiguas puede ocurrir desde la vía nasofaríngea, como en el caso del *Haemophilus influenzae* o *Staphilococo aureus*. Otras fuentes incluye los párpados; la córnea como ocurre ocasionalmente en casos de queratitis bacterial que deja como infección secundaria una conjuntivitis; o el sistema nasolagrimal como ocurre en los casos de dacriocistitis o dacriostenosis. Una forma poco común de contagio es la sanguínea o hematógena en paciente inmunocomprometidos o inmunodeficientes con ciertos tipos de infección tales como la meningocócica. Las rutas óculo-genitales pueden ocurrir también por contacto como secreciones durante la relación o el parto. La contaminación deliberada por auto-inoculación de material oral o fecal contaminado podría ocurrir como parte de la presentación del síndrome ocular Munchausen con una conjuntivitis bacterial o mixta crónica o recurrente. Los insectos como vectores son una causa importante de transmisión bacterial y de patógenos como la *Clamidia* en regiones áridas, en las de poco desarrollo y en las ciudades industrializadas. Las infecciones nosocomiales han sido reportadas en enfermeras, acompañantes de pacientes en hospitales y en cuidados intensivos. Las transmisiones iatrogénicas pueden ocurrir usualmente a través del contacto de la mano del examinador con el ojo del paciente, así como también con el uso de gotas contaminadas, tonómetros, lentes de contacto o instrumentos oftálmicos. (Pepose, 1995)

La mayoría de los casos son esporádicos. Los casos de epidemia ocurren en escenarios de congregación cerrados como colegios, campos militares, dormitorios estudiantiles, etc. Otro factor predisponente a la epidemia es un incremento de la susceptibilidad a la infección ocular en la población de riesgo, como ocurre en casos de pacientes con conjuntivitis epidémica viral, quienes están predispuestos a sobreinfección bacterial. (Pepose, 1995)

Factores de riesgo

Las variaciones en la edad y en el estado inmune del paciente con conjuntivitis bacterial afecta la frecuencia relativa del patógeno. Los niños menores de 5 años, tienen mayor incidencia de *Haemophilus influenzae* que niños más grandes y

adultos. Entre todos los grupos de edad, los niños menores de 1 año tienen mayor frecuencia de conjuntivitis por bacterias como el enterococo y caliciformes. Por otro lado los sujetos alcohólicos e inmunocomprometidos tienen un incremento de susceptibilidad a conjuntivitis por *Moraxella spp.* O bacterias Gram negativas. (PePOSE, 1995)

Patogénesis

El estado normal conjuntival es mantenido cuando los mecanismos de defensa del huésped mantienen una superficie conjuntival que es colonizada por bajo número de bacterias. La conjuntivitis bacteriana resulta cuando la bacteria residente o adquirida en la superficie conjuntival tiene la capacidad de: superar los mecanismos de defensa del huésped, penetran el epitelio, se multiplican exageradamente, y evocan una respuesta inflamatoria caracterizada por signos de toxicidad y necrosis epitelial, hiperemia y exudado. Los factores claves en la patogénesis son la invasión de la bacteria más allá de la barrera epitelial y la evasión a las defensas del huésped. El balance entre los mecanismos de defensa del huésped y los factores de virulencia son determinantes en si la conjuntiva está saludable o si prevalece en ella la enfermedad. (PePOSE, 1995)

Clasificación

La conjuntivitis bacteriana puede clasificarse según:

Tabla 5. Clasificación Clínica de la Conjuntivitis Bacteriana (Sutphin, 2007)		
Evolución Inicial	Intensidad	Microorganismos Habituales
Lenta (días o semanas)	Leve - moderada	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Moraxella lacunata</i> <i>Especies de proteus</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonas</i>
Aguda o subaguda (horas o días)	Moderada - Intensiva	<i>Haemophilus Influenzae</i> biotipo III <i>Haemophilus Influenzae</i> <i>Streptococcus Pneumoniae</i>

		<i>Staphylococcus aureus</i>
Hiperaguda (<24 horas)	Intensa	Neisseria Gonorrhoeae Neisseria meningitidis

Diagnóstico.

Teniendo en cuenta que los microorganismos más frecuentes responsables de ésta patología producen una secreción purulenta característica, el diagnóstico se basa en la correlación entre los síntomas y los hallazgos clínicos mediante una exploración por biomicroscopía que permite clasificarla por grados de severidad: leve, moderada, severa; según la presencia de uno o más signos conjuntos y el compromiso ocular

Los frotis y cultivo de la conjuntiva sólo se necesitan en los casos de conjuntivitis complicada, teniendo en cuenta los huéspedes comprometidos, como los recién nacidos o pacientes inmunocomprometidos y aquellos que no responden al tratamiento inicial. (Sutphin, 2007)

Figura 16. Secreción purulenta típica de la Conjuntivitis Bacteriana.



Fuente: kanski. J. Oftalmología clínica.
editorial elsevier.5 ed., 2006

Tratamiento

El manejo depende de la presentación clínica en la que se debe tener en cuenta la severidad, edad del paciente y tiempo de evolución. A partir de lo anterior se decide el tipo de antibiótico tópico y/o sistémico para cada caso, y la posología indicada. El tratamiento inicial incluye fármacos cuyo principio activo contenga aminoglucósidos o fluoroquinolonas (ciprofloxacina, ofloxacina, moxifloxacina o gatifloxacina), tobramicina, polimixina-B, bacitracina, etc. (Sutphin, 2007). En casos de inflamación severa pueden emplearse antiinflamatorios tópicos por periodos cortos de tiempo.

Se deben dar recomendaciones de higiene para evitar el contagio. (Tissa, 2006)

MATERIALES Y MÉTODOS

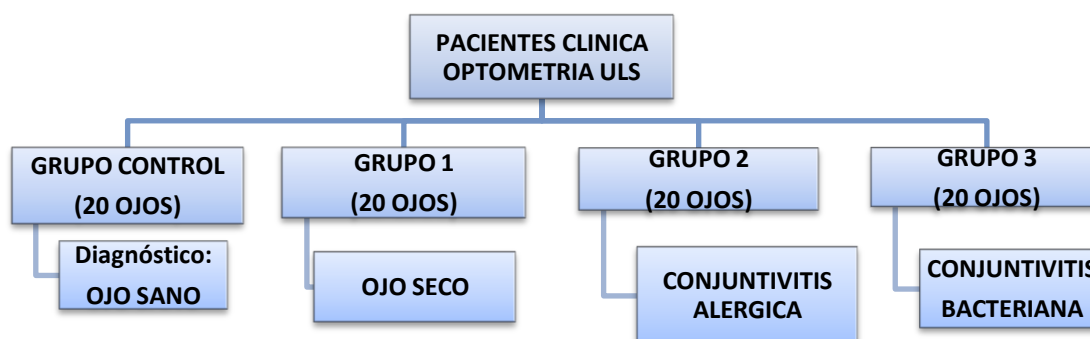
Diseño del estudio

Esta investigación fue de Casos y controles.

Población - Muestra

80 ojos de sujetos con edades entre 15 años y 53 años que asistieron a consulta optométrica en la Unidad de Funcional, en la Clínica de la Universidad de La Salle. Fueron clasificados en cuatro grupos de 10 sujetos cada uno, cuyo diagnóstico principal fue: grupo 1: ojo sano, grupo 2: conjuntivitis alérgica, grupo 3: conjuntivitis bacteriana y grupo 4: ojo seco.

Figura 17. Clasificación de los pacientes en grupos.



La clasificación del ojo seco se realizó según Murube et al, 2005 que relaciona signos, síntomas y test clínicos para designar la categoría: leve, moderado y severa. (Ver pág.27) Para la conjuntivitis alérgica y la conjuntivitis bacteriana la clasificación entre leve, moderada y severa se realizó en base a la severidad de signos y la

presentación de los síntomas (frecuencia y duración). Para el ojo sano se requería ausencia de síntomas y signos visibles mediante biomicroscopía, y ninguna o máximo 1 prueba clínica sobre el límite de normalidad.

Criterios de inclusión y exclusión

1. Se incluyeron los pacientes que presentaron la patología clasificada como leve, moderada y severa mono y/o bilateral.
2. Fueron excluidos los sujetos que presentaban más patologías oculares asociadas y los pacientes que no autorizaron su participación en el estudio.

Examen Optométrico

Se diseñó un formato de Historia Clínica (*Anexo 1*) con el registro de los siguientes datos:

1. Filiación.
2. Motivo de consulta
3. Antecedentes: medicoquirúrgicos, farmacológicos y alérgicos.
4. Signos y síntomas de cada paciente.
5. Agudeza Visual monocular en VL
6. Biomicroscopía con evaluación de tinción con fluoresceína y Rosa de Bengala.
7. Evaluación cuantitativa de la película lagrimal mediante Schirmer II y T.B.U.T.
8. Diagnóstico y clasificación del paciente en uno de los grupos.
9. Consentimiento Informado: Comunicación al paciente acerca del estudio y autorización escrita para participar en el mismo.
10. Citología de Impresión conjuntival
11. Pruebas de Laboratorio: Tinción Pas Hematoxilina e Inmuhistoquímica.

Pruebas Clínicas

Schirmer 2

Es una prueba que evalúa la producción de la lágrima acuosa. Consiste en poner una tira fina de papel de filtro en el fondo de saco inferior en el cual se mide la cantidad humedecida para cuantificar la producción de lágrimas. Según Kanski en el 2007, se puede realizar el test sin y con anestesia tópica (Figura 17): Schirmer 1 y Schirmer 2 respectivamente.

Figura 18. Aplicación de Anestésico tópico previo a la medida de Schirmer 2



Fuente: Archivo Fotográfico del Proyecto

Figura 19. Ubicación de la tira de papel en la Prueba de Schirmer.



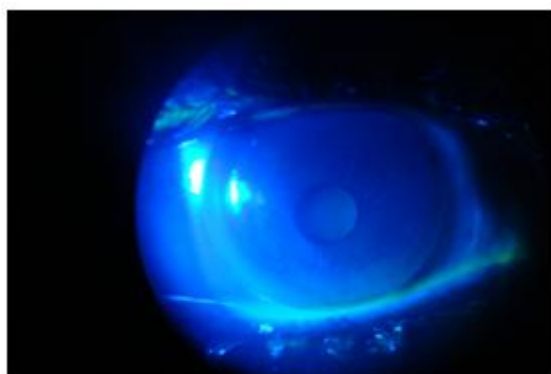
Fuente: kanski. J. Oftalmología clínica. editorial elsevier. 5 ed., 2006

En este estudio se aplicó el Schirmer 2 a todos los sujetos, teniendo en cuenta que es una prueba que evalúa la secreción básica. Se realizó después de instilar una gota de anestésico tópico Benoxinato al 5% en cada ojo. Luego se colocó una tira de papel de filtro Whatman 41 (5mm de ancho y 35 mm de largo de Ital-química, Bogotá Colombia); en el tercio medio lateral del párpado inferior (Figura 18), para minimizar la irritación corneal durante la prueba. Se pidió al paciente que cerrara los ojos debido a que varios autores lo recomiendan para limitar el efecto del parpadeo. Al cabo de 5 minutos se retiró el papel filtro y se midió en mm la cantidad de la tira humedecida, sin tomar en cuenta la porción de filtro de papel introducida en el borde palpebral. Se tuvo en cuenta para el Schirmer 2 como valor normal un dato superior o igual a 10 mm x 5 min e inferior a éste se considero anormal. (Kansky, 2007) (American Academy of ophthalmology, 1992)

T.B.U.T.

El tiempo de ruptura de la película lagrimal (TBUT) es considerado como una prueba sencilla de tamizaje que evalúa la estabilidad lagrimal. Este dato proporciona información sobre la estabilidad lagrimal y la interacción de la película lagrimal con la superficie ocular. (García, 2009)

Figura 20. Evaluación del T.B.U.T.

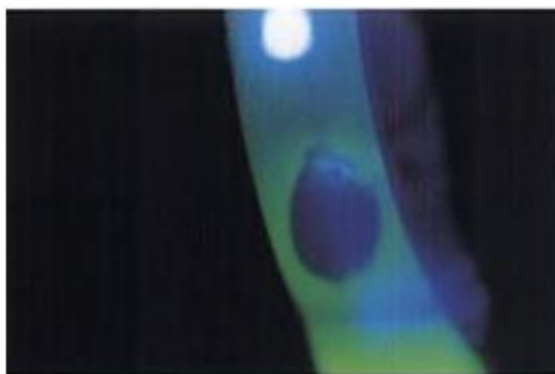


Fuente: Archivo Fotográfico del Proyecto

Se utilizó el método considerado invasivo, en el que la fluoresceína (en tirillas o en gotas) fue aplicada en el fondo de saco inferior de cada ojo de cada paciente. Después de tres parpadeos consecutivos, la película lagrimal fue examinada

utilizando la lámpara de hendidura con el filtro azul cobalto. El tiempo de ruptura en segundos se midió (con reloj) desde el último parpadeo hasta la aparición de la primera mancha seca que indica la ubicación de áreas secas. Algunos autores recomiendan que para optimizar la confiabilidad de la prueba se debe tomar 5 medidas y promediar el resultado de tres mediciones más cercanas, en el estudio se tomó tres mediciones y se promediaron el valor para cada ojo.

Figura 21. Ruptura de la película lagrimal en T.B.U.T.



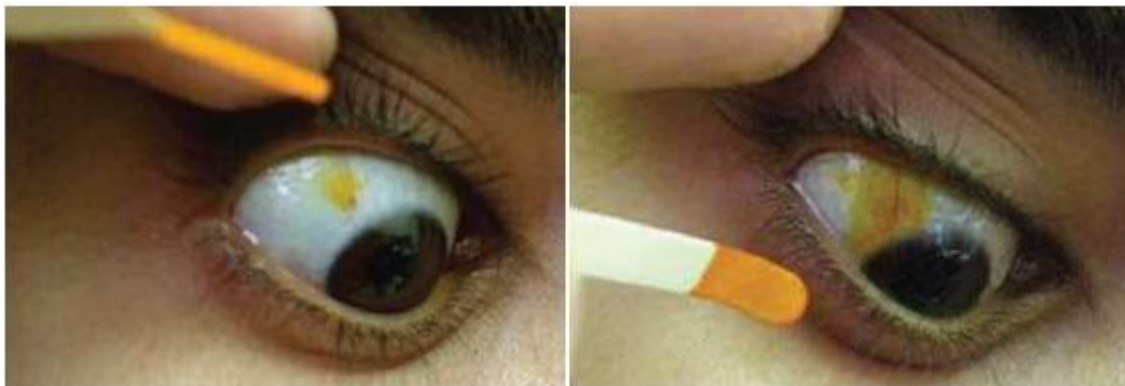
Fuente: kanski. J. Oftalmología clínica. editorial elsevier.5 ed., 2006

Se consideró normal valores superiores o iguales a 10 segundos y anormal cuando fue inferior a éste valor. En la historia se registro el tiempo de ruptura en segundos para cada ojo. (Kansky, 2007) (García, 2009)

Tinción con Fluoresceína

La fluoresceína tiñe las áreas del epitelio corneal y conjuntival donde hay suficiente separación de las uniones intercelulares haciendo evidentes las erosiones epiteliales y las membranas basales expuestas. Se utilizan tirillas de fluoresceína que se humedecen con solución salina o fluoresceína en solución al 1% o 2%.(García, 2009)

Figura 22. Aplicación de la Fluoresceína.

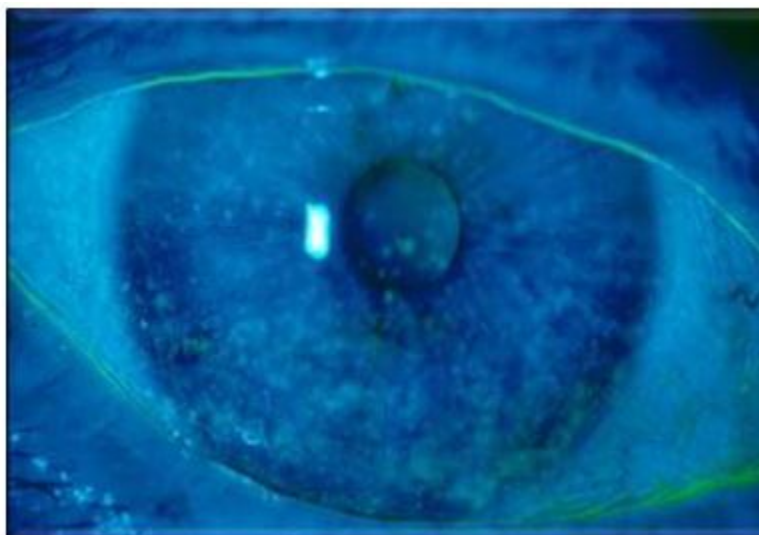


Fuente. Greg Heath. Optometric management of anterior segment eye disease: Dry eye and eyelid disease. CONTINUING EDUCATION & TRAINING. Jul. 2007.

Las zonas expuestas pueden verse como puntos o como manchas, indicando la presencia de alteración de la superficie ocular, y pueden verse más fácilmente en la cornea que en la conjuntiva indicando la ubicación y magnitud de la lesión. (García, 2009).

Después de instilar la fluoresceína en cada ojo, se observó la superficie ocular con lámpara de hendidura utilizando el filtro azul cobalto. Se registró como positiva o negativa la tinción indicando la estructura donde estaba presente.

Figura 23. Tinción puntiforme en córnea y conjuntiva.



Fuente: Digital Journal of Ophthalmology

Rosa de Bengala

El rosa de bengala tiñe selectivamente el núcleo de las células desvitalizadas o muertas, las células que tienden a la queratinización, la mucosidad y puntos de erosión corneal y conjuntival (Yanoff, 2002). En los casos de queratoconjuntivitis seca muestra la insuficiencia lagrimal sobre la cornea y conjuntiva, donde se pueden observar dos triángulos de tinción en la conjuntiva bulbar en la parte nasal y temporal con una base en el limbo. (Serrano, 2004)

Figura 24. Tinción con Rosa de Bengala en Conjuntiva Bulbar.



Fuente: kanski. J. Oftalmología clínica.
editorial elsevier.5 ed., 2006

Teniendo en cuenta que se instiló previamente una gota de anestesia tópica para realizar el Schirmer 2, se aplicó una gota de rosa de bengala en cada ojo, se permitió el parpadeo normal durante medio minuto y se lavó el exceso de tinte con solución fisiológica sustitutos lagrimales. Luego se observó en lámpara de hendidura con luz blanca y se registró lo siguiente:

Posibles resultados:

1. Tinción negativa: cuando la lágrima es normal en cantidad y calidad no se observa tinción.
2. Tinción positiva: cuando hay tinción la prueba es positiva y puede clasificarse en tres grados o tipos:

1. Tipo A o grado 1: es el grado más severo indica el mayor grado de hiposecreción. Se observa dos anchos triángulos rojos pericorneales, cuya base es el limbo y los vértices son los ángulos internos y externos respectivamente. También se puede hallar coloración en el reborde palpebral inferior y la parte inferior de la cornea. (Serrano, 2004)

Figura 25. Diagrama de tinción Tipo 1 ó A.



Fuente. Serrano. Sistema Lagrimal.Highlights of Ophtalmology. 2004

2. Tipo B o grado 2: indica una sequedad ocular intermedia. La coloración es una reducida banda coloreada estrecha que se extiende desde la carúncula hasta el ángulo externo, impregnando la parte inferior de la cornea. (Serrano, 2004)
3. Tipo C o grado 3: Indica que hay una hiposecreción pero no tan grave como en los tipos 1 y 2. Aparece una coloración microscópica, puntiforme, no homogénea donde sólo se ven puntos diseminados que ocupan la hendidura palpebral inferior incluyendo córnea y conjuntiva.

Figura 26. Diagrama de tinción Tipo 3 ó C.



Fuente. Serrano. Sistema Lagrimal.Highlights of Ophtalmology. 2004

Los resultados se registraron como tinción negativa o positiva y se clasificaron en el grado correspondiente según Serrano, 2004.

Figura 27. Tinción en córnea con Rosa de Bengala.



Fuente: Krachmer, J.H., David A. Palay.
Atlas de la córnea

Pruebas de Laboratorio

Citología de Impresión Conjuntival

La citología de Impresión Conjuntival es una prueba muy sensible que puede ser empleada en las patologías inflamatorias del segmento anterior, en las cuales el epitelio sufre una metaplasia escamosa en la que además las células caliciformes reducen su número e incluso desaparecen y pueden ser fácilmente observadas mediante ésta técnica. (García, 2009)

Figura 28. Toma de Citología de Impresión Conjuntival.



Fuente: Archivo Fotográfico del Proyecto

Para la citología de impresión se utilizaron membranas de ésteres de acetato de celulosa (Millipore PICM012550 poro 0,4m), antes de su uso las membranas se cortaron en tiras de 0.5 mm x 2.5cm se marcaron en un extremo con lápiz para identificar la zona de la conjuntiva bulbar se introdujeron en bolsas de sello hermético y se esterilizaron.

La citología de impresión fue obtenida luego de aplicar anestesia tópica con una gota de Benoxinato al 5% instilada en el fondo del saco de ambos ojos. Las membranas se colocaron sobre la zona interpalpebral, en la conjuntiva bulbar temporal y nasal, ejerciendo leve presión con un escobillón estéril durante 2 a 5 segundos. Inmediatamente las membranas se fijaron con CITOSPRAY-FIXCELL fijador celular (Imcolmédica S.A, Bogotá, Colombia). Se tomaron 4 muestras por paciente: 2 temporales y 2 nasales para ser destinadas 2 para inmunohistoquímica y las otras 2 para Pas-hematoxilina.

La técnica fue estandarizada durante 6 meses teniendo en cuenta pautas obtenidas mediante comunicación personal entre la directora del proyecto y Calonge, Méndez del Grupo de investigación en superficie ocular, IOBA, Universidad de Valladolid Fueron llevadas al laboratorio para ser sometidas a las dos técnicas.

Tinción Pas-hematoxilina.

Se utilizaron las muestras de la conjuntiva bulbar nasal. En el laboratorio, las muestras de cada paciente se colocaron en cajas de cultivo de 24 pozos, en cada pozo se ubicaron máximo dos membranas.

El procedimiento fue:

1. Alcohol 70%.....1 min*
2. Agua destilada..... dos lavados rápidos sacando el agua con pipeta.
3. Ácido peryódico al 1% se adiciona con pipeta..... 2 min
4. Agua destilada.....dos lavados rápidos

5. Reactivo de Schiff en oscuridad.....2 min
6. Metabisulfito de sodio al 0.5%..... 3 min
7. Agua destilada.....dos lavados rápidos
8. Hematoxilina de Harris.....2 min
9. Agua destilada.....8 min
10. HCl al 0.05% 15 seg
11. Agua destilada.....dos lavados rápidos
12. Sustitutivo agua Scott 15 seg
13. Agua destilada.....dos lavados rápidos
14. Etanol 96%.....1 min
15. Etanol 100%.....1 min
16. XILOL.....3 min
17. Montaje con Citoresina. *min

Figura 29. Proceso de Tinción de Pas-Hematoxilina.



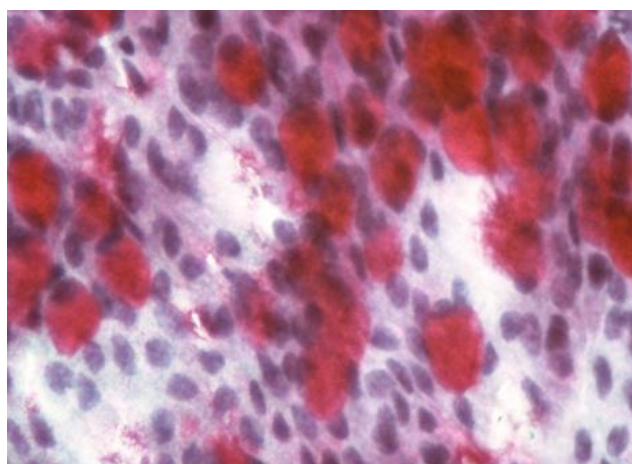
Fuente: Archivo Fotográfico del Proyecto

Los resultados se clasificaron en 6 grados (0 a 6) según la clasificación de Murube en el 2002 con las siguientes características observadas al microscopio a 10X y 40X y recuento de células caliciformes en rejilla calibrada:

Grados de Metaplasia Escamosa

1. Grado 0. El epitelio conjuntival es normal, con moderado o abundante número de células caliciformes dispuestas entre las células epiteliales no secretoras. El citoplasma es eosinófilo. La proporción núcleo/citoplasma es de 1/1.

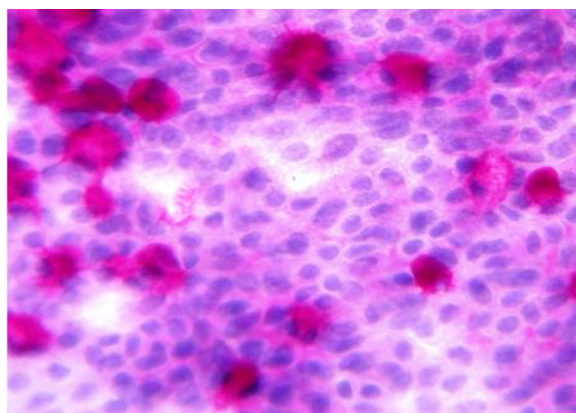
Figura 30. Grado 0 de Metaplasia Escamosa de la Conjuntiva.



Fuente: Rodríguez. M. Asociaciones en los síntomas y signos en pacientes con ojo seco. Ciencia y Tecnología N°11.,2008. 44-47.

2. Grado 1. Disminución marcada y temprana de células caliciformes. Las células epiteliales no secretoras presentan un leve alargamiento. El citoplasma es eosinófilo. La relación núcleo/citoplasma es de 1/2 a 1/3. No existe queratinización.

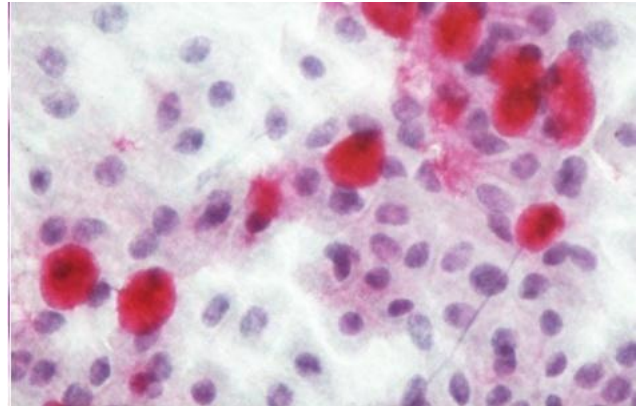
Figura 31. Grado 1 de Metaplasia Escamosa de la Conjuntiva.



Fuente: Rodríguez. M. Asociaciones en los síntomas y signos en pacientes con ojo seco. Ciencia y Tecnología N°11.,2008. 44-47.

3. Grado 2. Pérdida de células caliciformes. Las células epiteliales presentan un moderado alargamiento y aplastamiento. El citoplasma es eosinófilo-basófilo. La relación núcleo/citoplasma es de 1/4. No existe queratinización.

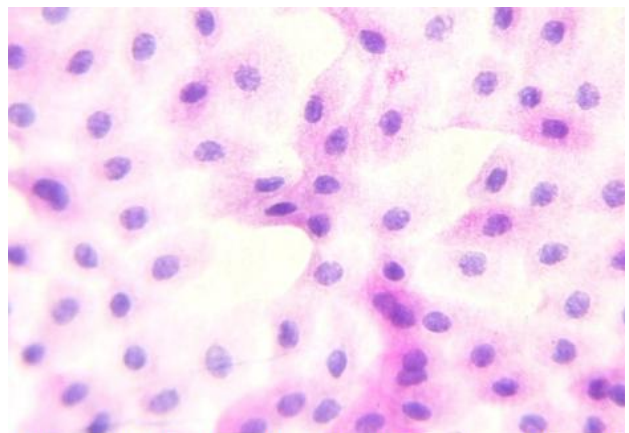
Figura 32. Grado 2 de Metaplasia Escamosa de la Conjuntiva.



Fuente: Rodríguez. M. Asociaciones en los síntomas y signos en pacientes con ojo seco. Ciencia y Tecnología N°11.,2008. 44-47.

4. Grado 3. Todas las células epiteliales presentan una pronta y leve queratinización; algunas células tienen visibles filamentos de queratina. El citoplasma sufre un moderado aplanamiento, y es metacromático. En este estado aparecen células con núcleos levemente picnóticos. La relación núcleo/citoplasma es de 1/6.

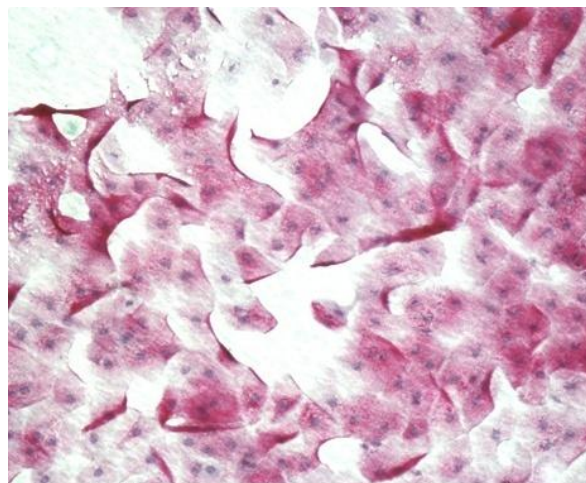
Figura 33. Grado 3 de Metaplasia Escamosa de la Conjuntiva.



Fuente: Rodríguez. M. Asociaciones en los síntomas y signos en pacientes con ojo seco. Ciencia y Tecnología N°11.,2008. 44-47.

5. Grado 4. Las células epiteliales son de gran tamaño, alargadas y presentan una moderada queratinización; muchas de ellas con densos paquetes de filamentos de queratina y núcleos picnóticos. El citoplasma es metacromático, tendiendo a ser basófilo. La relación núcleo/citoplasma es de 1/8.

Figura 34. Grado 4 de Metaplasia Escamosa de la Conjuntiva.



Fuente: Rodríguez. M. Asociaciones en los síntomas y signos en pacientes con ojo seco. Ciencia y Tecnología N°11.,2008. 44-47.

6. Grado 5. Las células epiteliales presentan una avanzada queratinización, con densos paquetes de filamentos de queratina y núcleos marcadamente picnóticos o ausentes. El citoplasma es basófilo.

Inmunohistoquímica en Citología de Impresión

Para determinar la expresión de HLA-DR se utilizaron las muestras obtenidas en las membranas de ésteres de acetato de celulosa (Millipore PICM012550 poro 0,4m) de la conjuntiva bulbar temporal de cada paciente.

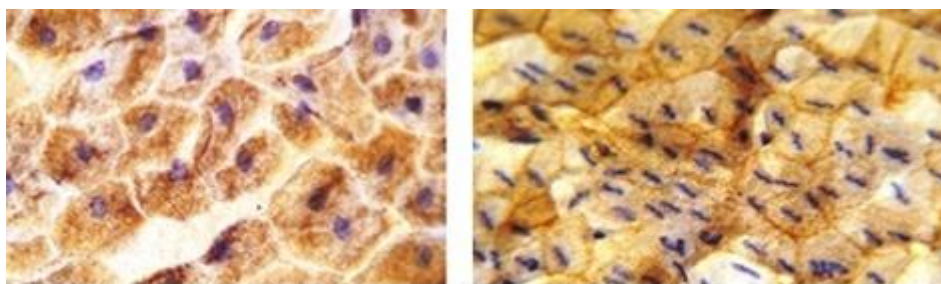
Para el procedimiento se utilizaron controles positivos de tejido obtenido de ganglios humanos y como control negativo se utilizó tejido de piel. El procedimiento realizado fue:

1. ETANOL.....15 MIN
2. Hidratación de membranas..... 5 min en agua.
3. Bloqueo con H₂O₂..... 15 minutos T amb.

4. Lavado..... 3 veces con TBS por 5 min cada lavado.
5. Adición de monoclonal (1/50 HLA-DR)..... incubar 1 hora en cámara húmeda.
6. Lavado..... 3 veces con TBS 5 min cada una en agitación.
7. Incubación del enhancer.....por 20 minutos.
8. Lavado..... 3 veces por 5 min cada lavado.
9. Adición de conjugado POLY HRP..... incubar 30 min.
10. Lavado..... 3 veces con TBS 10 min cada una en agitación.
11. Adición de sustrato..... 30seg, (1ml DBD Buffer y 1 gota liquido DAB)
12. Observación al microscopio y suspensión de la reacción con agua
13. Contraste hematoxilina..... 2 min.
14. Lavado con agua corriente
15. Agua amoniacal 1 %..... 3 seg dejar en agua
16. Xilol
17. Montaje permanente con citoresina

Las láminas se observaron en 10X y 40X en microscopio de luz, la aparición de marcaje marrón, con patrón de membrana en las células epiteliales se consideró positiva para HLA-DR.

Figura 35. Resultado positivo para HLA-DR mediante Inmunohistoquímica



Fuente: Rodriguez. M. Asociaciones en los síntomas y signos en pacientes con ojo seco. Ciencia y Tecnología N°11.,2008. 44-47.

Metodología estadística

Se realizó estadística descriptiva para relacionar los hallazgos clínicos de los grupos de casos con el grado de severidad para cada patología y se contrastaron con los resultados obtenidos para los controles. No se realizó la prueba de t student para comparar la expresión de HLA-DR en las tres patologías estudiadas y los controles puesto que la prueba resultó negativa para el 98,4% de los casos.

RESULTADOS

Pacientes y controles

El estudio evaluó 60 ojos de pacientes que presentaban una de las tres patologías mencionadas con una edad promedio de 27,3 siendo la edad mínima 15 años y la máxima 53 años. El sexo femenino representó el 60% (36/60) y el masculino el 40% (24/60).

Para Ojo Seco la edad promedio de los pacientes fue de 26,9 años siendo la edad mínima 18 años y la máxima 50 años. El sexo femenino representó el 70% (14/20) y el masculino el 30% (6/20). Para Conjuntivitis alérgica la edad promedio de los pacientes fue de 25 años con una edad mínima 15 años y la máxima 50 años. El sexo femenino representó el 50% (10/20) y el masculino el 50% (10/20); y en la conjuntivitis bacteriana la edad promedio de los pacientes fue de 29,5 años siendo la edad mínima 18 años y la máxima de 53 años. El 60% (6/10) fue de sexo femenino y el 40% (4/10) fue de sexo masculino.

En los controles (20 ojos) la edad promedio de los pacientes fue de 27,9 siendo la edad mínima 20 años y la máxima 40 años. El sexo femenino representó el 50% (10/20) y el masculino el 50%.(10/20).

Inmunohistoquímica

La expresión de HLA-DR dio positiva en el 1.7% (1/60) en los grupos de patología evaluados. Ese resultado positivo fue en un ojo del grupo de conjuntivitis alérgica leve. En los casos de ojo seco 0% (0/20) y en conjuntivitis bacteriana 0% (0/20).

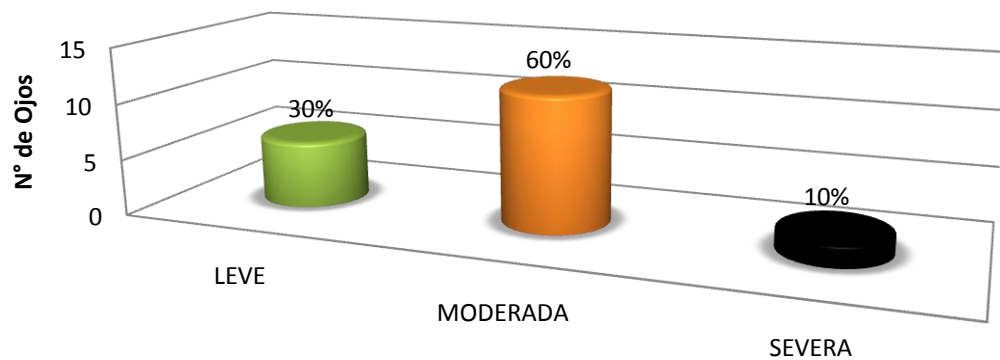
En el grupo control se presentó la expresión de HLA-DR en un 5% (1/20) en células caliciformes.

Diagnóstico Clínico

Ojo seco

Se evaluaron 20 ojos de los cuales el 30% (6/20) se clasificaron en grado leve, el 60% (12/20) en moderado y el 10% (2/20) en severo.

Grafica N 1: Clasificación de severidad en pacientes con ojo seco

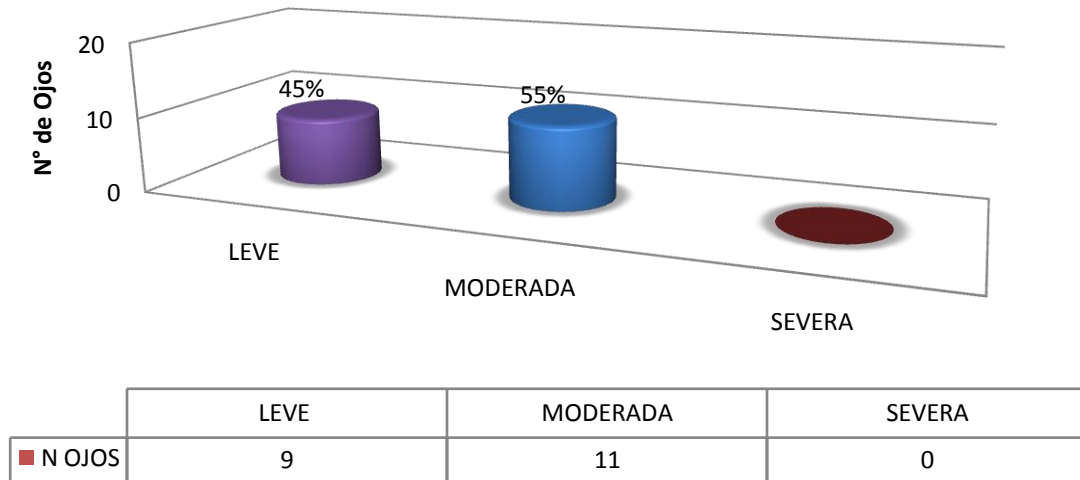


	LEVE	MODERADA	SEVERA
■ N OJOS	6	12	2

Conjuntivitis Alérgica

Se evaluaron 20 ojos de los cuales el 45% se clasificaron en grado leve, el 55% en moderado y ninguno en grado severo.

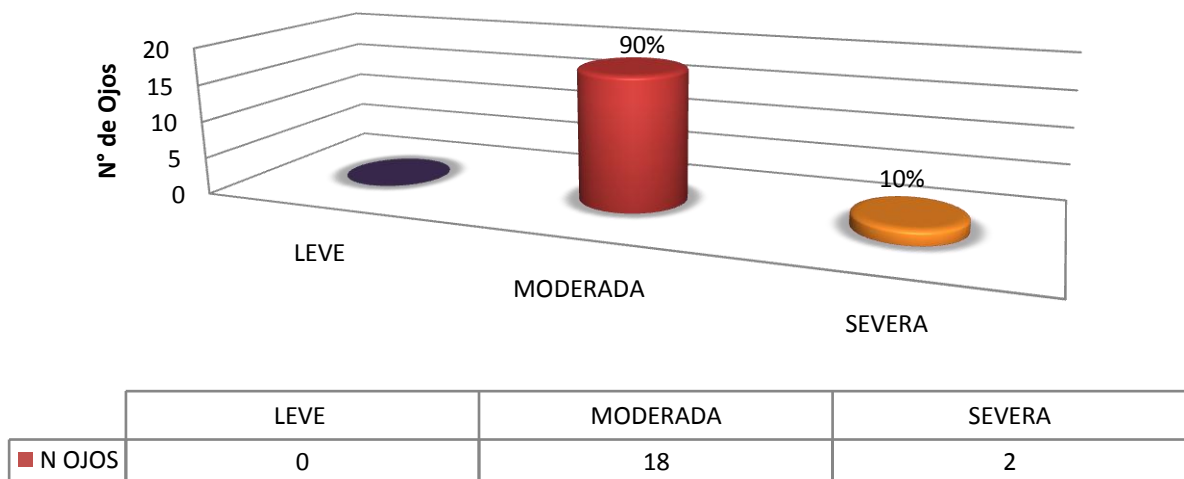
Grafica N 2: Clasificación de severidad en pacientes con Conjuntivitis Alérgica



Conjuntivitis Bacteriana

Se evaluaron 20 ojos de los cuales el 90% (18/20) en moderado y el 10% en severo. No se presentó ningún caso en grado leve.

Grafica N 3: Clasificación de severidad en pacientes con Conjuntivitis Bacteriana



Prueba de Schirmer 2

Ojo Seco

En los pacientes con ojo seco el 70% presentó la prueba Schirmer 2 alterada y en el 30% fue normal. De acuerdo a la severidad en los casos leves, en el 33.3% (2/6) estuvo alterada y fue normal en el 66.7% (4/6). En los pacientes con ojo seco moderado, el 83.4% (10/12) tuvo esta prueba alterada y en el 16,6% (2/12) fue normal. En los pacientes con ojo seco severo el 100% (2/2) estuvo alterado. (Gráfica N°4)

Conjuntivitis Alérgica

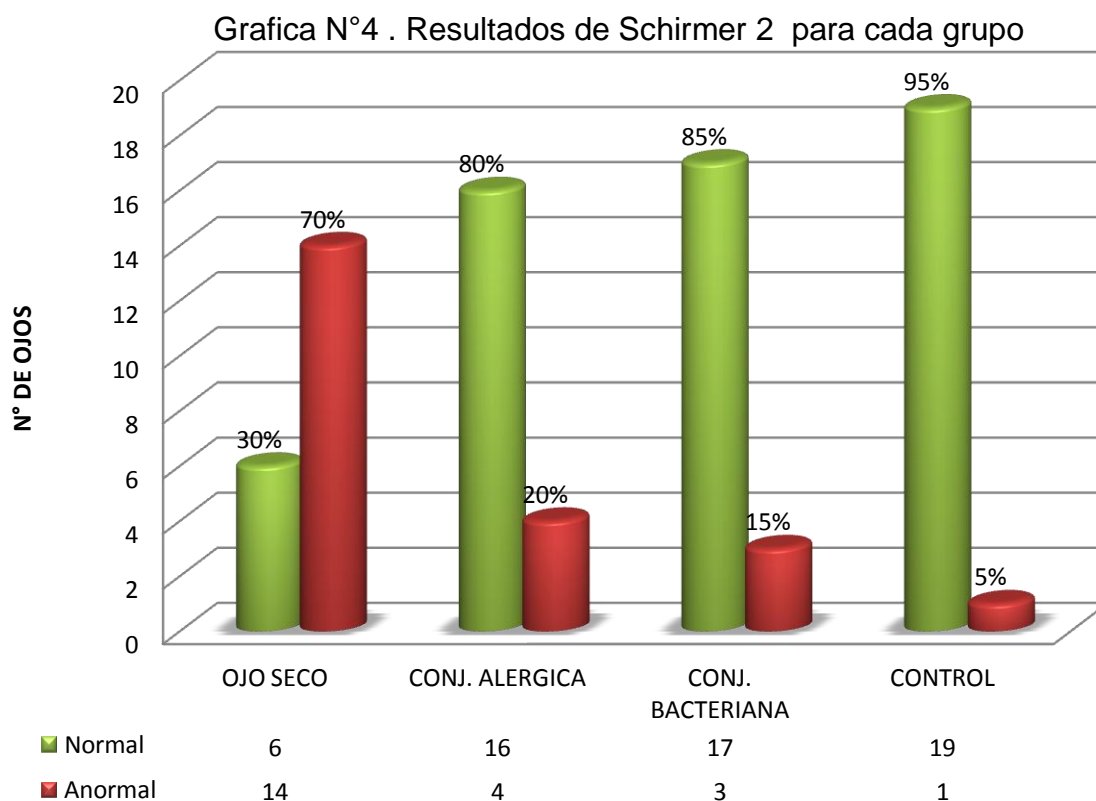
En los pacientes con conjuntivitis alérgica el 20% presento la prueba Schirmer 2 alterada y en el 80% fue normal. De acuerdo a la severidad en los casos leves, en el 22,2% (2/9) estuvo alterada y fue normal en el 77.8% (7/9). En los pacientes con conjuntivitis alérgica moderada, el 18,2% (2/11) tuvo esta prueba alterada y en el 81,8% (9/11) fue normal. En el estudio no se presentaron pacientes con conjuntivitis alérgica severa (Gráfica N°2)

Conjuntivitis Bacteriana

En los pacientes con conjuntivitis bacteriana el 5% presento la prueba Schirmer 2 alterada y en el 95% fue normal. De acuerdo a la severidad no se presentaron pacientes con conjuntivitis bacteriana leve. En los pacientes con conjuntivitis bacteriana moderada, el 16,7% (3/18) tuvo esta prueba alterada y en el 83,3% (15/18) fue normal. En los pacientes con conjuntivitis bacteriana severa el 100% (2/2) estuvo normal. (Gráfica N°4)

Controles

En los controles el 95% (19/20) se encontró normal y sólo el 5% (1/20) fue anormal.



Muestra la relación numérica y porcentual entre Schirmer normal y anormal para cada uno de los grupos.

A continuación (Tabla N°6) se presentan los valores de Schirmer 2 para cada grupo, clasificados en intervalos de < 3 mm, de 4mm a 6 mm, de 7 mm a 9 mm y > ó =10 mm.

Ojo Seco

Para los resultados alterados se encontró un 30% (6/20) inferior a 3 mm, un 25% (5/20) entre 4mm a 6 mm y un 15% (3/20) entre 7 mm a 9 mm. El 30% (6/20) presentó un Schirmer > ó =10 mm.

Conjuntivitis Alérgica

Los resultados alterados sólo se encontraron en el rango de 4mm a 6 mm con un 20% (4/20) no se encontró ningún dato inferior a 3 mm o entre 7 mm a 9 mm. El 80% restante fue normal. ($> \text{ó} = 10 \text{ mm}$)

Conjuntivitis Bacteriana

Para los valores alterados no se encontró ningún dato inferior a 3 mm, mientras que para el rango de 4mm a 6 mm un 5% (1/20) entre y un 10% (9/20) entre 7 mm a 9 mm. El 85% (6/20) presentó un Schirmer $> \text{ó} = 10 \text{ mm}$.

Controles

En los controles la totalidad de valores alterados que representan el 5% (1/20) se encontraron entre 7 mm a 9 mm. El 95% (6/20) presentó un Schirmer $> \text{ó} = 10 \text{ mm}$.

Tabla 6. Rangos de resultados obtenidos para Schirmer

Rango	Ojo Seco	Conjuntivitis Alérgica	Conjuntivitis Bacteriana	CONTROL
< 3 mm	30% (6/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)
4mm a 6 mm	25% (5/20)	20% (4/20)	5% (1/20)	0% (0/20)
7 mm a 9 mm	15% (3/20)	0% (0/20)	10% (2/20)	5% (1/20)
$> \text{ó} = 10 \text{ mm}$.	30% (6/20)	80% (16/20)	85% (17/20)	95% (19/20)

T.B.U.T

Ojo Seco

El 100% de los ojos con ésta patología presentaron un T.B.U.T anormal considerando valores normales aquellos superiores a 10 segundos. De acuerdo a la severidad, en los casos leves, en el 30% (6/6) estuvo alterada. En los pacientes con ojo seco moderado el 60% (10/12) tuvo esta prueba alterada y en el 16,6% (2/12) fue normal. En los pacientes con ojo seco severo el 10% (2/2) estuvo alterado. (Gráfica N°6)

Conjuntivitis Alérgica

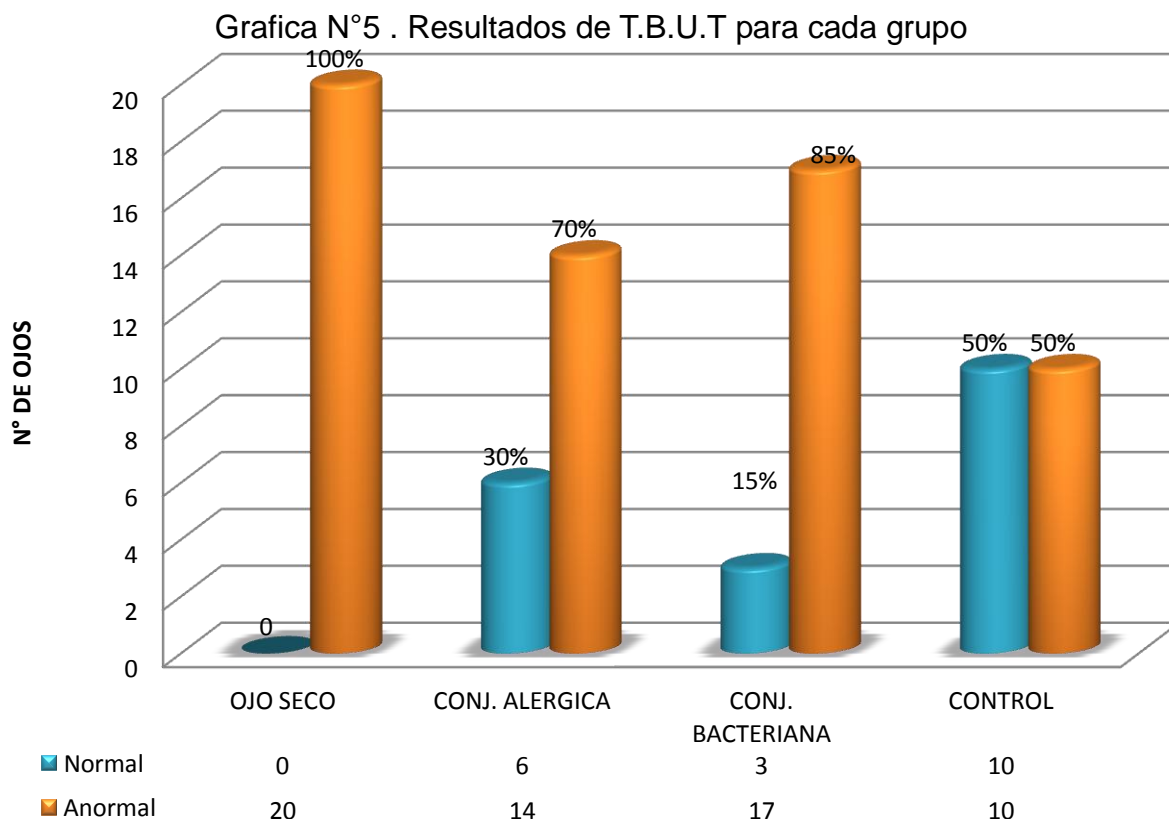
En los pacientes con conjuntivitis alérgica el 70% presento la prueba T.B.U.T alterada y en el 30% fue normal. De acuerdo a la severidad en los casos leves, en el 77,8% (7/9) estuvo alterada y fue normal en el 22.2% (2/9). En los pacientes con conjuntivitis alérgica moderada, el 72,7% (8/11) tuvo esta prueba alterada y en el 27,3% (3/11) fue normal. En el estudio no se presentaron pacientes con conjuntivitis alérgica severa (Gráfica N°6).

Conjuntivitis Bacteriana

En los pacientes con conjuntivitis bacteriana el 85% presento la prueba T.B.U.T alterada y en el 15% fue normal. De acuerdo a la severidad no se presentaron pacientes con conjuntivitis bacteriana leve. En los pacientes con conjuntivitis bacteriana moderada, el 83,3% (15/18) tuvo esta prueba alterada y en él 16,7% (3/18) fue normal. En los pacientes con conjuntivitis bacteriana severa el 100% (2/2) estuvo alterado. (Gráfica N°6)

Controles

En los controles el 50% (10/20) se encontró normal y el 50% (10/20) fue anormal.



Muestra la relación numérica y porcentual entre T.B.U.T normal y anormal para cada uno de los grupos.

A continuación (Tabla N°7) se presentan los valores de T.B.U.T para cada grupo, clasificados en intervalos de < 3 seg, de 4seg a 6 seg, de 7 seg a 9 seg y >10 seg.

Ojo Seco

Para los valores alterados se encontró un 15% (3/20) inferior a 3 seg, un 50% (10/20) entre 4 seg a 6 seg y un 35% (7/20) entre 7 seg a 9 seg. Ninguno presentó un T.B.U.T > ó =10 mm.

Conjuntivitis Alérgica

Para los valores alterados se encontró un 10% (2/20) inferior a 3 seg, un 40% (8/20) entre 4 seg a 6 seg y un 20% (4/20) entre 7 seg a 9 seg. . El 30% (6/20) presentó un T.B.U.T \geq 10 mm.

Conjuntivitis Bacteriana

Para los valores alterados se encontró un 5% (1/20) inferior a 3 seg, un 35% (7/20) entre 4 seg a 6 seg y un 45% (9/20) entre 7 seg a 9 seg. . El 15% (3/20) presentó un T.B.U.T \geq 10 mm.

Controles

En el grupo control se encontró un 5% (1/20) entre 4 seg a 6 seg y un 45% (9/20) entre 7 seg a 9 seg. . El 50% (10/20) presentó un T.B.U.T \geq 10 mm.

Tabla N°7. Rangos de resultados obtenidos para T.B.U.T.

Rango	Ojo Seco	Conjuntivitis Alérgica	Conjuntivitis Bacteriana	CONTROL
< 3 seg	15% (3/20)	10% (2/20)	5% (1/20)	% (0/20)
4 seg a 6 seg	50% (10/20)	40% (8/20)	45% (9/20)	5% (1/20)
7 seg a 9 seg	35% (7/20)	20% (4/20)	35% (7/20)	45% (9/20)
\geq 10 seg.	0% (0/20)	30% (6/20)	15% (3/20)	50% (10/20)

Fluoresceína

Ojo Seco

En los pacientes con ojo seco el 20% presento tinción positiva. De acuerdo a la severidad en los casos leves el 33,4% (2/6) presentó tinción. En los pacientes con ojo seco moderado, no hubo tinción y en los pacientes con ojo seco severo el 100% (2/2) hubo tinción positiva. (Gráfica N°8)

Conjuntivitis Alérgica

En los pacientes con conjuntivitis alérgica el 5% presento tinción positiva. De acuerdo a la severidad en los casos leves no se presentó tinción. En los pacientes con conjuntivitis alérgica moderada, el 9% (1/11) corresponde a ésta tinción. En el estudio no se presentaron pacientes con conjuntivitis alérgica severa (Gráfica N°8)

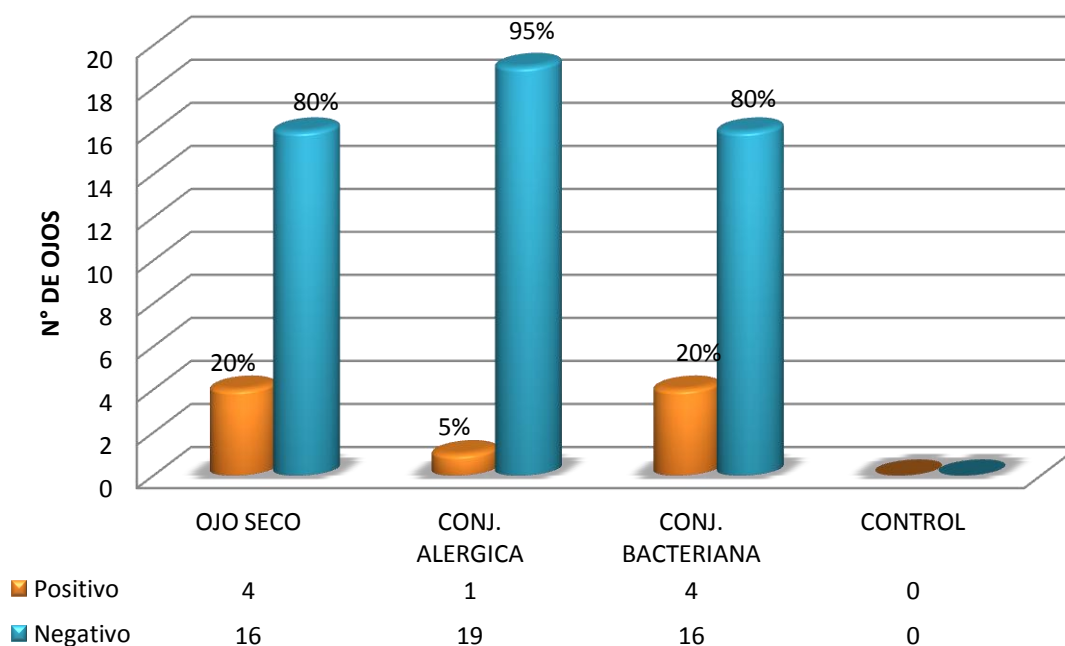
Conjuntivitis Bacteriana

En los pacientes con conjuntivitis bacteriana el 20% presento tinción positiva. De acuerdo a la severidad no se presentaron pacientes con conjuntivitis bacteriana leve. En los pacientes con conjuntivitis bacteriana moderada, el 11,1% (2/18) presentó tinción. En los pacientes con conjuntivitis bacteriana severa el 100% (2/2) también presentó tinción. (Gráfica N°8)

Controles

En los controles no hubo tinción con fluoresceína.

Grafica N°6 . Tinción con Fluoresceína



Rosa de Bengala

Ojo Seco

En los pacientes con ojo seco el 85% (17/20) presentó la prueba de Rosa de Bengala positiva y en el 15% (3/20) fue negativa. (Gráfica N°9) De acuerdo a la severidad en los casos leves el 66,7% (4/6) tuvo tinción positiva, éstos se encontraron en grado 3 y 1 ojo en grado 2. (Gráfica N°10). En los pacientes con ojo seco moderado, el 91,7% (11/12) de los cuales 8 ojos estaban en grado 3 y 3 ojos en grado 2. En los pacientes con ojo seco severo el 100% (2/2) tuvo tinción clasificado en grado 1.

Conjuntivitis Alérgica

En los pacientes con conjuntivitis alérgica el 85%(17/20) presentó la prueba de Rosa de Bengala positiva y en el 15% (3/20) fue negativa. De acuerdo a la severidad en los casos leves el 88,8% (8/9) tuvo tinción positiva, éstos se encontraron en grado

3. (Gráfica N°10). En los pacientes con conjuntivitis alérgica moderada, el 81,8% (9/11) presentó tinción de los cuales 5 ojos estaban en grado 3 y 4 ojos en grado 2. En el estudio no se presentaron pacientes con conjuntivitis alérgica severa.

Conjuntivitis Bacteriana

En los pacientes con conjuntivitis bacteriana el 50% (10/10) presentó la prueba de Rosa de Bengala positiva y en el 50% (10/10) fue negativo. De acuerdo a la severidad no se presentaron pacientes con conjuntivitis bacteriana leve. En los pacientes con conjuntivitis bacteriana moderada, el 44,4% (8/18) tuvo tinción positiva de los cuales 5 ojos estaban en grado 3 y 3 ojos en grado 2. En los pacientes con conjuntivitis bacteriana severa el 100% (2/2) tuvo tinción.

Controles

En los controles el 10% (2/20) se encontró tinción positiva grado 3 y el 90% (1/20) fue negativo.

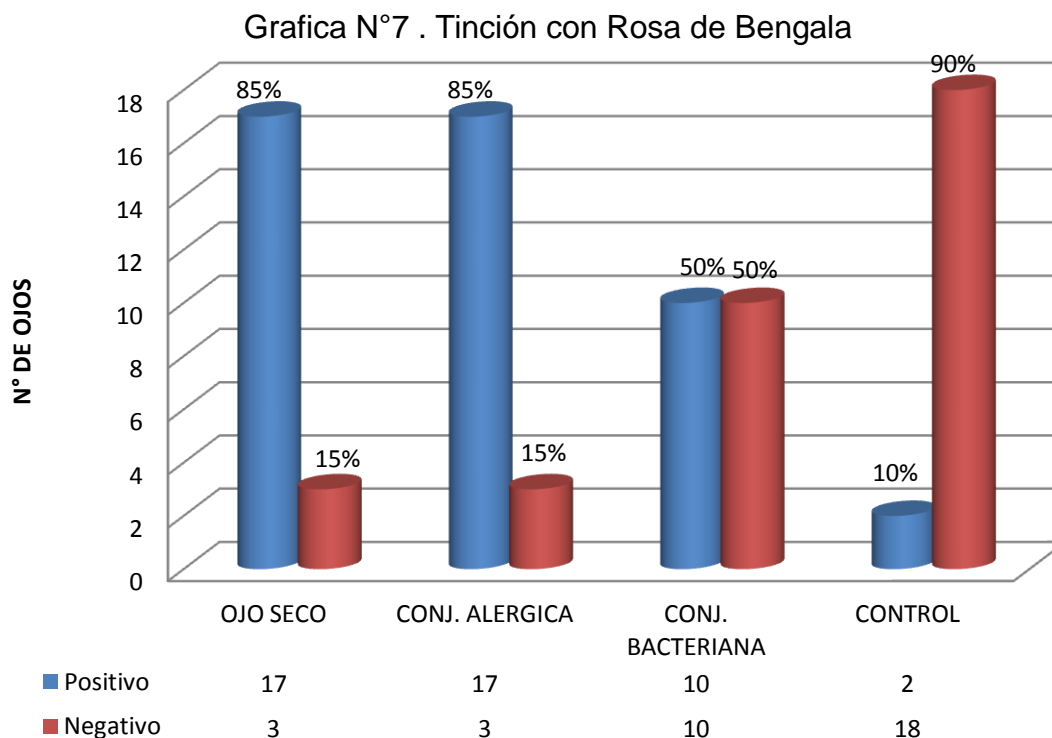


Tabla N°8. Grados de tinción con Rosa de Bengala para los casos positivos de cada grupo

Rango	Ojo Seco Total ojos positivos= 17	Conjuntivitis Alérgica Total ojos positivos= 17	Conjuntivitis Bacteriana Total ojos positivos= 10	CONTROL Total ojos positivos= 2
Grado 1 (severo)	12% (2/17)	0% (0/17)	0% (0/10)	0% (0/2)
Grado 2 (moderado)	23% (4/17)	18% (3/17)	50% (5/10)	0% (0/2)
Grado 3 (leve)	65% (11/17)	82% (14/17)	50% (5/10)	100% (2/2)

Metaplasia escamosa en citología de Impresión Conjuntival

Ojo Seco

El 60% de los ojos con ojo seco (12/20) presento metaplasia escamosa en grado 2, grado 3 y/o grado 4 considerados como anormales y el 40% (8/20) no tuvo metaplasia escamosa, grado 0 y grado 1. De acuerdo a la severidad en los pacientes con ojo seco leve, el 83,3 % (5/6) tuvo metaplasia escamosa: 4 ojos grado 2 y 1 ojo grado 4 mientras que el 16,7% (1/6) fue normal. En los casos moderados, el 41,7% (5/12) presentó metaplasia escamosa: 3 ojos grado 2 y 3 ojos grado 3 y el 58,3% (7/12) fue normal en la citología. El 100% (2/2) de los casos severos presento grado 2 de metaplasia escamosa.

Conjuntivitis Alérgica

El 50% de los pacientes con conjuntivitis alérgica (10/20) presento metaplasia escamosa graduada como 2, 3 o 4 considerados como anormales y el 50% (10/20) no tuvo metaplasia escamosa, graduada como 0 y 1. De acuerdo a la severidad en los pacientes con ojo seco leve, el 22,2% (2/9) tuvo metaplasia escamosa: 1 ojo grado 2 y 1 ojo grado 3 mientras que el 77,8% (7/9) fue normal. En los casos moderados, el 72,8% (8/11) presentó metaplasia escamosa: 7 ojos grado 3 y 1 ojo grado 4; y el 27,2% (4/11) fue normal en la citología. En el estudio no se presentaron pacientes con conjuntivitis alérgica severa.

Conjuntivitis Bacteriana

Del 100% (20) de los ojos con conjuntivitis bacteriana, el 10% (2/20) presentó muestra insuficiente para realizar la lectura, por lo tanto se excluyen de éstos resultados. El 50% (9/18) de los pacientes presento metaplasia escamosa graduada como 2, 3 o 4 considerados como anormales y el 50% (9/18) no tuvo metaplasia escamosa, graduada como 0 y 1.

De acuerdo a la severidad todos en los casos moderados, el 56,2% (9/16) presentó metaplasia escamosa: 4 ojos grado 2 y 3 ojos grado 3 y 2 ojos grado 4 el 43,8% (7/16) fue normal en la citología. El 100% (2/2) de los casos severos presento citología normal.

Controles

El 20% (4/20) presentó metaplasia escamosa graduada como 2 ojo en grado 2 y 2 ojos en grado 3 considerados como anormales y el 70% (16/20) no tuvo metaplasia escamosa, graduada como 0 y 1.

Grafico N° 8. Resultados de Metaplasia Escamosa Para Cada Grupo

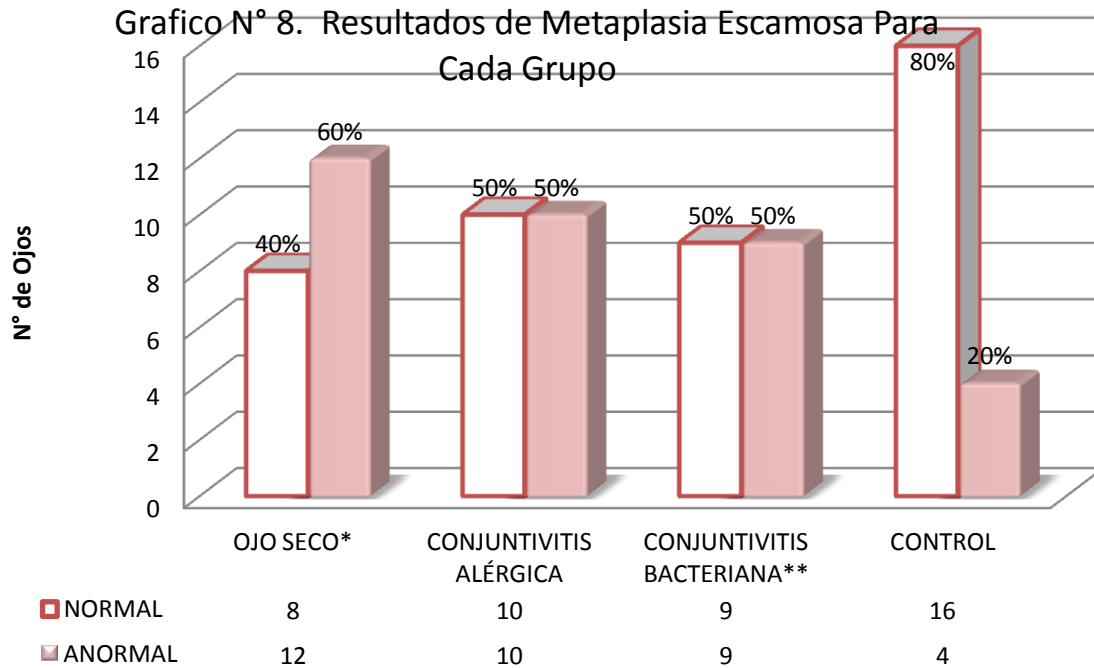
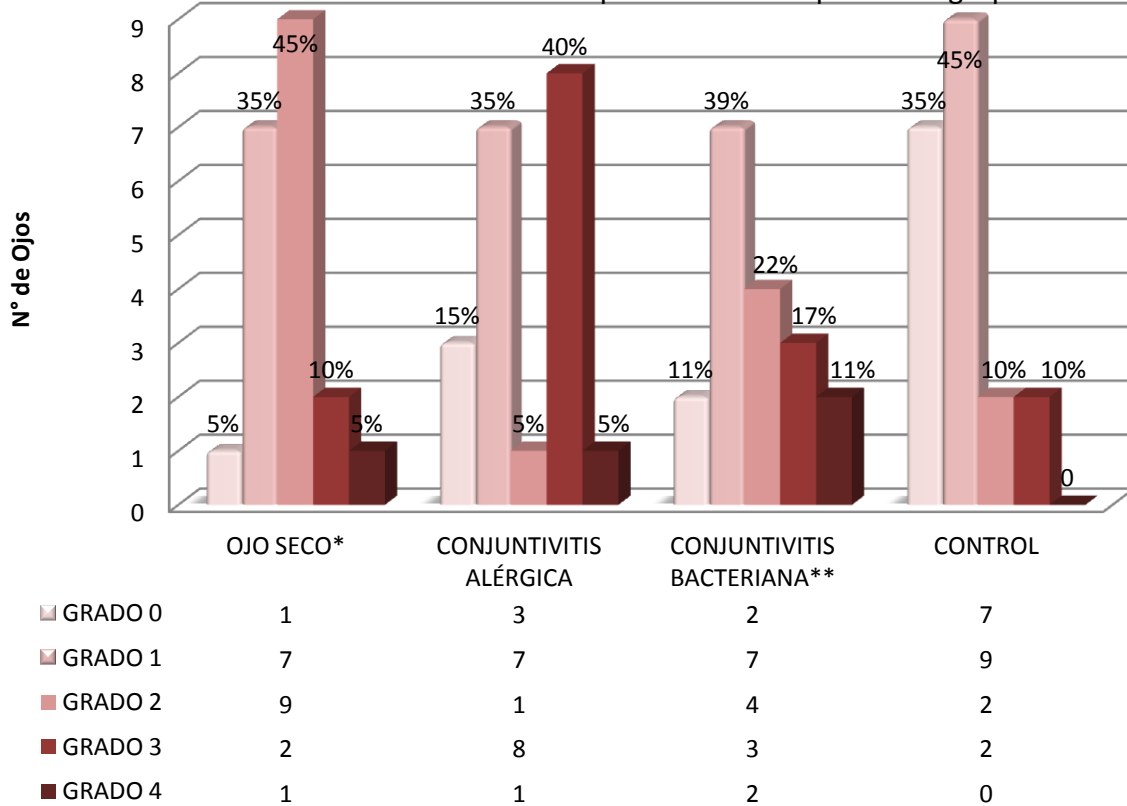


Grafico N° 9. Grados de Metaplasia Escamosa para cada grupo



*Cromatina irregular en 2 ojos (1 paciente – Grados 1 y 2)

** Muestra escasa en 2 ojos y PMN en 1 ojo (Grado 3)

DISCUSION

La inflamación es una serie de respuestas que genera un tejido ante un estímulo que puede ser una agresión física, infecciosa o autoinmune; comprende procesos que involucran diferentes tipos de células, moléculas y cambios estructurales que buscan localizar, aislar, eliminar el agente, y reparar el daño que ha sido generado por éste. Dependiendo de la cronicidad del proceso, se generan variaciones de la morfofisiología del tejido que en ocasiones llegan a ser irreversibles, pueden afectar su integridad y ser causa de serias complicaciones posteriores. Un proceso inflamatorio de la superficie ocular puede producir cambios estructurales que conllevan a alteraciones de las capas más superficiales de la córnea y conjuntiva. En el caso de la conjuntiva se producen alteraciones como la pérdida de las células caliciformes productoras de mucina. Por lo tanto una disminución e incluso ausencia de mucina genera pérdida de la adherencia de la película lagrimal reflejada en poca estabilidad sobre la superficie ocular. Rodríguez, Martha (del Grupo de investigación en Inmunología Ocular, Universidad de La Salle)

El diagnóstico clínico se realizó en base a pruebas optométricas de rutina como son el Schirmer, el T.B.U.T, la tinción con fluoresceína y Rosa de Bengala que buscaban correlacionar los hallazgos clínicos con los resultados de pruebas analizadas en el laboratorio como fue la citología de impresión conjuntival procesada con tinción de Pas-hematoxilina y la inmunohistoquímica para determinar la expresión del marcador inmunológico HLA-DR. Las pruebas para determinar los hallazgos clínicos permitieron relacionar las patologías leves, moderadas o severas con las alteraciones celulares que éstas pudieran presentar; es decir, determinar si a mayor severidad mayores cambios histológicos.

La tinción de las muestras de cada sujeto para determinar la expresión de HLA-DR, si bien tuvo un resultado negativo para un 98,3% de la totalidad de los casos, fue útil para confirmar el grado de metaplasia escamosa en la ausencia del colorante PAS. Como bien se describió en los materiales y métodos, se utilizaron membranas de ésteres de acetato de celulosa para las dos técnicas de laboratorio; éstas membranas ya habían sido utilizadas en estudios previos pero sólo para la Tinción con Pas Hematoxilina donde los resultados fueron muy buenos, sin embargo la técnica de Inmunohistoquímica no se había realizado antes en éste tipo de membranas, ya que las pruebas de rutina se realizan sobre el tejido obtenido por biopsia como en el caso del control positivo para éste proyecto que fueron ganglios humanos. Así mismo en el año 2007 Rodríguez et al realizó la estandarización de la técnica de inmunohistoquímica y tuvo en cuenta el tipo de filtro, membranas de biopore PICM012550 poro 0.4 μ m y filtros de Nylon GNWPO2500 (Millipore corporación, Billerica), y afirma que los mejores resultados se obtuvieron con las membranas de biopore (Millipore PICM012550 poro 0,4 μ m) en los que encontró HLA-DR positivo en el 87,3% de los pacientes (55/63).

Ojo Seco

Para el grupo de *Ojo seco* se reportó un total de 70% de casos con un Schirmer 2 alterado, valor inferior a las otras pruebas clínicas realizadas para diagnosticar ésta patología. Puede ser que de los casos estudiados el 30% sean más de tipo Lipodeficiente, lo que explicaría un T.B.U.T alterado en el 100%. Ésta prueba que evalúa la producción acuosa es referenciada como el gold standard para determinar el volumen lagrimal según García en el 2009, quien afirma que el resultado no debe utilizarse como único criterio para diagnosticar ésta patología, dado que tiene poca especificidad y sensibilidad comparado con muchas de las otras pruebas indicadas para evaluar el ojo seco. Además se debe tener en cuenta que entre las múltiples presentaciones clínicas del ojo seco se encuentran muy comúnmente los casos en que puede no haber una pérdida de la producción lagrimal sino de la calidad y la relación de ésta con la superficie ocular e incluso cursar con una hipersecreción

lagrimal con poca estabilidad lagrimal (García, 2009) condiciones que no pueden ser medidas con el test de Schirmer 2.

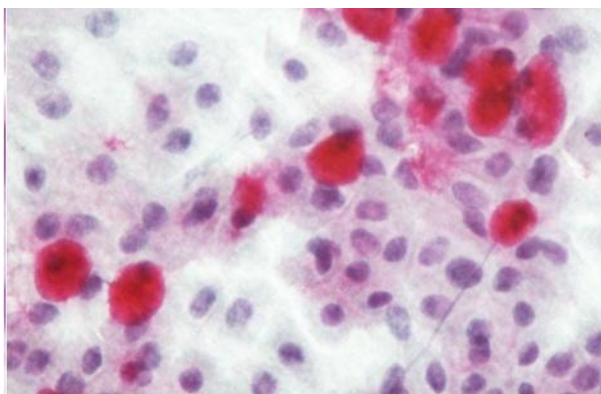
El T.B.U.T. que proporciona información sobre la estabilidad lagrimal y la interacción de la película lagrimal con la superficie ocular. A pesar de que es considerado como una prueba sencilla de tamizaje que evalúa la estabilidad lagrimal (García, 2009) en éste estudio se presentó alterado en el 100% de los casos y aunque el T.B.U.T puede ser cuestionado por su realización o reproducibilidad, un T.B.U.T severamente disminuido es indicativo de problemas de ojo seco (Zuber, 2003) tal como se encontró en los pacientes en los que el tiempo de rompimiento lagrimal se presentó en un rango de 4 seg a 6 seg para el 50% y >3 seg para el 15%. Además la fácil aplicación del test en la consulta optométrica de rutina le da valor clínico para el diagnóstico de ojo seco que de seguro será confirmado con otros test y la correlación entre los signos y síntomas del paciente.

La tinción con colorantes vitales y supravitales como la rosa de bengala y la fluoresceína que es comúnmente utilizada en la evaluación de rutina de segmento anterior específicamente para córnea y conjuntiva. La tinción con fluoresceína ayuda a identificar la extensión y distribución de pérdida epitelial pero ocurre en lugares de muerte celular donde los espacios intercelulares aumentan y ésta puede penetrar hasta allí siendo más utilizada para identificar lesiones en córnea. (Zuber, 2003) lo que lleva a pensar que para el diagnóstico de ojo seco donde el daño conjuntival también se debe ser identificado, deben utilizarse tintes como el rosa de bengala. Los casos con tinción positiva se clasificaron en grado 3 con un 65% que indican tinción leve que hay una hiposecreción pero no tan grave y grado 2 con un 23% indicativo de sequedad ocular intermedia que se relaciona con los casos clasificados como leves y moderados. Es así como se considera a la rosa de bengala como un tinte que permite ver las células desvitalizadas que son representativas en procesos inflamatorios y aún más en procesos crónicos como el ojo seco con daños graduales de la superficie ocular que pueden ser a veces irreversibles. Éste daño celular debe ser confirmado con la citología de impresión conjuntival que ha sido ampliamente

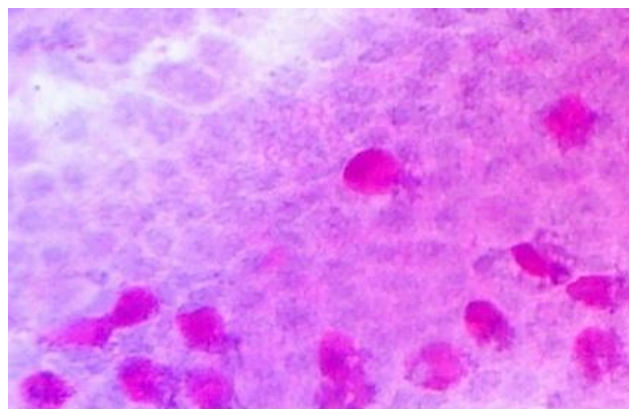
utilizada para la observación de los cambios histopatológicos de la superficie ocular, especialmente la metaplasia escamosa en pacientes con ojo seco, como diagnóstico confirmatorio de este síndrome. (Rodríguez, 2007)

En los casos de éste grupo se encontró metaplasia escamosa incluso en aquellos clasificados como leves con un 83,3 % hasta los severos con un 100% lo que confirma la utilidad de la prueba y la necesidad de realizarla para detectar tempranamente alteraciones de la superficie ocular. La mayoría de los pacientes que estuvieron clasificados en severidad leve, moderada y severa presentaron metaplasia escamosa grado 2. La figura 36 compara el grado 2 encontrado en un estudio similar para pacientes con ojo seco y el grado 2 en un ojo con síndrome de ojo seco de éste estudio donde hay pérdida de células caliciformes. Las células epiteliales presentan un moderado alargamiento y aplastamiento. El citoplasma es eosinófilo-basófilo. La relación núcleo/citoplasma es de 1/4. No existe queratinización.

Figura N° 36. Comparación de metaplasia grado 2 entre un estudio en pacientes con ojo seco y un caso de ojo seco en éste proyecto.



Fuente: Rodríguez, M. Asociaciones en los síntomas y signos en pacientes con ojo seco. Ciencia y Tecnología N°11.,2008. 44-47.



Fuente: Archivo fotográfico del proyecto

Conjuntivitis Alérgica

Para los casos de *Conjuntivitis alérgica* se reportaron solo casos clasificados en severidad moderada y severa con un porcentaje de alteración del *Schirmer 2* del

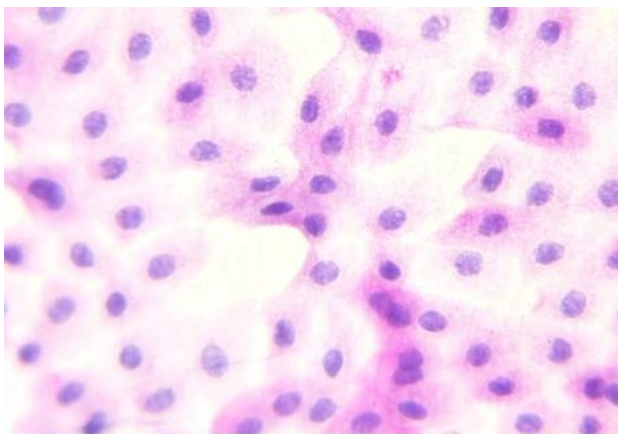
20% total de la muestra para este grupo encontrándose en su mayoría en el rango 4mm a 6 mm x 5 minutos, los casos severos presentaron en su totalidad afectación de la cantidad de la película lagrimal, resultado que puede deberse a que la alergia se considera un factor de riesgo consistente del ojo seco (Merayo, 2005) y debido a la metaplasia escamosa que se produce por la pérdida de las células caliciformes quienes producen la mucina encargada de la permanencia de la película lagrimal en la superficie ocular puede encontrarse un *Schirmer 2* alterado.

A pesar de que el test T.B.U.T. no permite diagnosticar la presencia de conjuntivitis alérgica, si puede indicar alteración de la superficie ocular manifestada en la poca estabilidad lagrimal teniendo en cuenta que en la alergia como proceso inflamatorio se presentan cambios estructurales en el segmento anterior. Los casos en los que el tiempo de rompimiento lagrimal se presentó alterado se clasificaron en un rango de 4 seg a 6 seg con un 40% seguido de un 20% en los rangos de 7mm-9mm que correspondieron a un 77,85% para los casos leves y para los casos clasificados como moderados con un 72,7%. El T.B.U.T no se relaciona con la severidad en los casos evaluados pero se debe tener en cuenta que incluso las conjuntivitis leves pueden ser más crónicas que las moderadas con la consiguiente alteración de la lágrima y la superficie corneal y conjuntival lo que justificaría éstos valores de T.B.U.T.

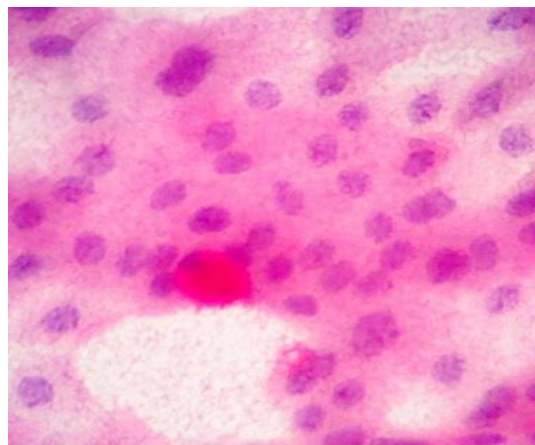
La tinción con fluoresceína fue positiva para muy pocos casos de conjuntivitis alérgica debido a que ésta patología genera principalmente cambios a nivel de conjuntival bulbar y tarsal pero la fluoresceína tiñe más fácilmente en la cornea que en la conjuntiva. Por consiguiente para el diagnostico de conjuntivitis alérgica se deben tener en cuenta otras pruebas que incluyen desde la simple valoración por biomicroscopía para revisar cambios en los tejidos hasta pruebas como la rosa de bengala. Éste resultado es confirmatorio de la patogénesis que involucra una fase de sensibilización y una efectora, en las que se liberan múltiples mediadores inflamatorios que finalmente son responsables del daño tisular y de los cambios que ocurren en las células epiteliales. (Irkec, 2003)

La citología de impresión se realizó para observar los cambios que pudieran tener las células en los ojos con conjuntivitis alérgica, teniendo en cuenta que ésta también debía presentar alteraciones del tejido comunes a los procesos inflamatorios de segmento anterior. Se seleccionó la zona interpalpebral, que es la más afectada por ser la más expuesta a la fricción del parpadeo y al ambiente, de manera que los cambios histológicos se evidenciaran más tempranamente en esta zona. (Murube 2002). Así se tomaron para los tres grupos, muestra de la conjuntiva bulbar temporal. El 72,8% (8/11) presentó metaplasia escamosa en los casos moderados clasificados en grado 3 en el que según Murube en el 2002 lo clasifica como el grado en el que todas las células epiteliales presentan una pronta y leve queratinización; algunas células tienen visibles filamentos de queratina. El citoplasma sufre un moderado aplanamiento, y es metacromático. En este estado aparecen células con núcleos levemente picnóticos. La relación núcleo/citoplasma es de 1/6. En las siguientes gráficas se compara una imagen de otro estudio con la imagen de un paciente con conjuntivitis alérgica con metaplasia escamosa del mismo grado.

Figura N° 37. Comparación de metaplasia grado 3 entre un estudio en pacientes con ojo seco y un caso de conjuntivitis alérgica en éste proyecto.



Fuente: Rodríguez. M. Asociaciones en los síntomas y signos en pacientes con ojo seco. Ciencia y Tecnología N°11.,2008. 44-47.



Fuente: Archivo fotográfico del proyecto

En un paciente con conjuntivitis alérgica leve se encontró tinción positiva en la inmunohistoquímica que indicaría expresión de HLA-DR, sin embargo al revisar los demás hallazgos clínicos, es evidente que en todas las pruebas hubo una leve alteración que no se relaciona con la expresión de éste marcador inmunológico que se esperar encontrar en casos severos donde la patogénesis involucra una fase de sensibilización y una efectora, en las que se liberan múltiples mediadores inflamatorios que finalmente son responsables del daño tisular y de los cambios que ocurren en las células epiteliales, que al ser estimulada por la liberación de histamina, expresan moléculas de adhesión, HLA-DR y citoquinas proinflamatorias que amplifican la respuesta alérgica.(Irkec, 2003). Por lo tanto no se considera representativo para éste estudio.

Conjuntivitis Bacteriana

En el tercer grupo que fue la conjuntivitis bacteriana no se encontraron antecedentes al momento de la revisión bibliográfica referentes a pruebas de película lagrimal, citología de impresión conjuntival y expresión de HLA-DR. Se debe tener en cuenta que es una patología que presenta un proceso infeccioso de presentación frecuente cuya incidencia es difícil de determinar ya que la mayor parte de los pacientes son tratados empíricamente sin realizar un cultivo, es autolimitada y su resolución puede ser en días, semana o meses incluso son tratamiento farmacológico (Fernández,2004). Pero debido a que genera una respuesta inflamatoria, se incluyó en el estudio para generar expectativa que conlleven a indagar acerca de las características de éste proceso a nivel celular, en cuanto a las alteraciones de la superficie ocular y no sólo la patogénesis y el tratamiento que han sido ampliamente estudiados.

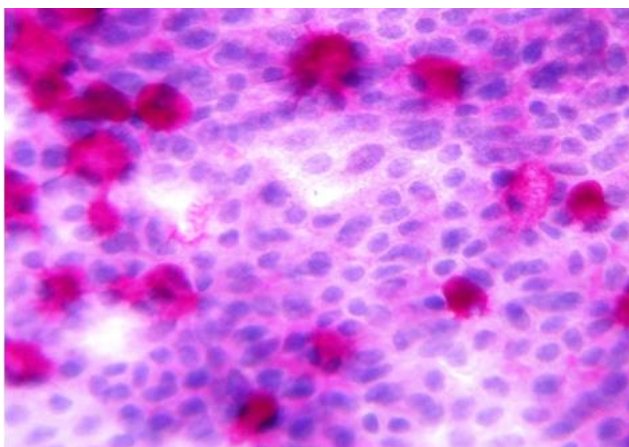
Las pruebas de lágrima realizadas en los casos de conjuntivitis bacteriana no pretendían confirmar el diagnóstico, sino evaluar la lágrima en éste tipo de inflamación conjuntival de origen infeccioso. Fue así como la prueba de *Schirmer 2* resultó alterado en el 5% de los ojos evaluados y el T.B.U.T. anormal en el 85% de

los casos. Aunque los casos moderados se encontraron con una anomalía en el 83,3%, éstos estaban entre 7 seg a 9 seg en un 45% que se acercan a el valor de normalidad tomado en el estudio ($> \text{ó} = 10$ mm). Por lo tanto se considera que la estabilidad lagrimal estuvo severamente alterada en estos pacientes, es posible que la secreción característica de ésta entidad, que se encuentra diluida en lagrime haya alterado el resultado, e incluso la fotofobia característica en especial en los casos moderados a severos.

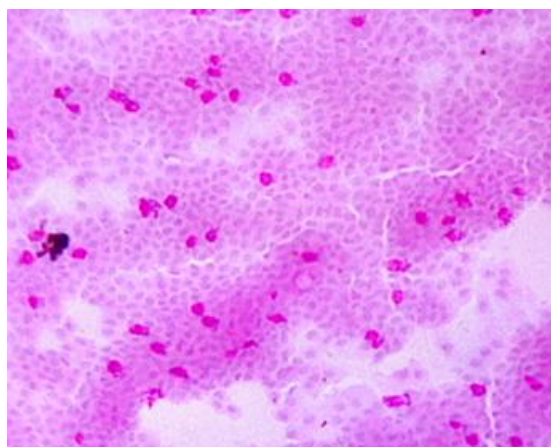
En cuanto a las pruebas de tinción con fluoresceína (tinción en el 20% de los casos) y la Rosa de Bengala (tinción en el 50% de los casos) no representa la mayoría de los casos, lo que indicaría que las células no estuvieron desvitalizadas en todos los casos puesto que en los que hubo tinción, ésta estuvo en grado 3 y 2 que son tinción leve y moderada respectivamente en los pacientes de severidad moderada y severa. Los casos que presentaron tinción positiva en fluoresceína estuvieron clasificados en grado severo y uno en moderado, pero los demás hallazgos clínicos como la citología de impresión conjuntival estuvo para éstos casos normal, resultado que puede deberse a que los casos tenían un curso agudo de la inflamación donde es posible que no hayan aún alteraciones tisulares severas como en las otras dos patologías.

Teniendo en cuenta que se excluyeron 2 casos por muestra insuficiente para realizar la lectura, los casos normales tuvieron una distribución en los grados del 2 al 4, pero a pesar de que el porcentaje fue igual para normales y anormales la mayoría de los casos estuvieron normales clasificados en grado 1. Debido a que no se encontraron datos sobre citología de impresión conjuntival en conjuntivitis bacteriana, a continuación se compara una citología de un paciente sin metaplasia escamosa (grado 1) de un estudio realizado por Rodríguez et al en 2007 y la citología de un caso de conjuntivitis bacteriana sin metaplasia escamosa (grado 1) que fue el grado en el que se clasificaron la mayoría de los ojos con ésta patología.

Figura 38. Comparación entre la metaplasia grado 1 entre un estudio en pacientes con ojo seco y un caso de conjuntivitis bacteriana en éste proyecto.



Fuente: Rodríguez. M. Asociaciones en los síntomas y signos en pacientes con ojo seco. Ciencia y Tecnología N°11.,2008. 44-47.



Fuente: Archivo fotográfico del proyecto

Controles

El grupo control fue elegido en base a la ausencia de hallazgos clínicos que sugirieran la presencia de alguna patología inflamatoria como ojo seco, conjuntivitis alérgica o bacteriana. Éstos sujetos asistieron a la Clínica de Optometría de la Universidad de la Salle con otros motivos de consulta como defectos refractivos o control visual. A éstos fueron aplicadas todas las pruebas con el mismo procedimiento que se hizo para cada grupo. Se encontró que la prueba de *Schirmer* 2 en sujetos sanos permite descartar posibles alteraciones de la película lagrimal que puedan presentarse aún en la ausencia de signos y síntomas.

La prueba de T.B.U.T. para la mayoría de casos que tenían alteración del tiempo de ruptura lagrimal (45%) se encontraron rangos de 7 seg a 9 seg que se aproximan al valor de >10 mm que se tomó como normal. Por lo tanto no es indicativo en éste estudio para determinar la ausencia o presencia de alteración inflamatoria de la superficie ocular.

En los controles no hubo tinción con fluoresceína y con el rosa de Bengala en el 10% se encontró tinción positiva grado 3 que es leve, los 2 ojos correspondían al

mismo sujeto que presentaba una Pinguecula bilateral, no reportaba síntomas, el T.B.U.T y *Schirmer 2* se encontraron normales para cada ojo pero la citología de impresión conjuntival mostró metaplasia escamosa en los grados 2 y 3 que indican anormalidad. Éste paciente hizo parte del 20% de ojos con metaplasia escamosa que evidentemente no tenían signos visibles al examen con la biomicroscopía, un solo caso presentó metaplasia escamosa grado 2 y un T.B.U.T alterado y un solo caso tuvo metaplasia escamosa grado 3 sin ninguna otra alteración en las pruebas clínicas ni la sintomatología. Estos resultados pueden ser justificados teniendo en cuenta que la citología de impresión conjuntival es una prueba objetiva que puede indicar que están ocurriendo daños a nivel tisular sin que se hayan generado signos macroscópicos o sintomatología para el paciente.

En cuanto a la citología de impresión conjuntival se debe tener en cuenta que a pesar de que se haya estandarizado para los investigadores la toma de la muestra y la técnica como tal, hay factores dependientes del sujeto y de la situación en particular como la presión ejercida sobre el epitelio conjuntival, ya que es probable que influya en la cantidad de muestra obtenida, también la estimulación del paciente a pesar de la aplicación de anestesia tópica puesto que el lagrimeo impide que las células queden adheridas al papel produciendo una muestra escasa.

La lectura para la graduación de la metaplasia escamosa debe realizarse teniendo en cuenta siempre dos aspectos, las alteraciones de las células escamosas y la cantidad de caliciformes en toda la muestra, sin leer en los bordes para no sobrevalorar el tamaño real de las células epiteliales y teniendo como punto de referencia la morfología y distribución celular de una citología normal (Calonge, Méndez, Grupo de investigación en superficie ocular, IOBA, Universidad de Valladolid, comunicación personal con la directora del proyecto). Por lo tanto el recuento debe ser muy cuidadoso y observar toda la muestra, más que campos aislados, ya que la información topográfica es de mayor valor para lograr la graduación (Tseng, director Ocular surface Center, Miami, comunicación personal con la directora del proyecto).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La expresión de HLA-DR tuvo resultado negativo en los grupos patológicos estudiados.

La tinción con Rosa de Bengala y el T.B.U.T presentaron un alto porcentaje para detectar alteraciones en la película lagrimal y la superficie ocular en patologías como el ojo seco y conjuntivitis alérgica lo que indica que tienen valor clínico para hacer un diagnóstico oportuno y completo.

La prueba de *Schirmer 2* que ha sido utilizada como el gold estándar para el diagnóstico de ojo seco permitió clasificar ésta patología y no es indicada para el diagnóstico de la conjuntivitis alérgica y bacteriana.

En los casos de la conjuntivitis alérgica y bacteriana sería necesario realizar test como Rosa de Bengala, tinción con fluoresceína y T.B.U.T. para evaluar la integridad de la superficie ocular y por ende la estabilidad lagrimal que estuvo alterada en los casos estudiados y que es posible que exacerbe los síntomas y la presentación clínica de la patología.

La citología de impresión conjuntival que se ha usado para confirmar el diagnóstico de ojo seco, puede ser más ampliamente indicada en las patologías crónicas del segmento anterior o en aquellas en las que el tratamiento no haya tenido completa respuesta por la presencia de alteraciones estructurales que no hayan sido detectadas.

No hubo relación entre la severidad de las patologías y el grado de metaplasia escamosa en la mayoría de los casos. Por lo tanto se recomienda realizar asociaciones entre la evolución de la patología como aguda o crónica con la citología de impresión conjuntival para verificar si la cronicidad probablemente tienen mayores cambios tisulares por el tiempo de evolución.

BIBLIOGRAFIA

- Abelson, M. Allergic Diseases of the Eye. United States of America: W.B. Saunders Company, 2001, 276 p (13-17p).
- Aguilar, AJ. "Ojo seco". Paginas de actualización en oftalmología. (2000): 1.
- Albietz, JM. "Dry eye an update on clinical diagnosis, management and promising new treatments". Clinical and experimental optometry 1. (2001): 4-18.
- American Academy of Ophthalmology. External Disease and Cornea. San Francisco, California: A.A.O, 1992. 313pp.
- Bron, A. Et al. Wolff's Anatomy of the eye and orbit. London: Chapman, 2002. 715pp.
- Dumortier, G, Chaumeil, J. 2004. Lachrymal Determinations: Methods and Updates on Biopharmaceutical and Clinical Applications. Ophthalmic research 36 (Suppl. 4) 183-194.
- Fernández, E. Conjuntivitis bacteriana. Sociedad mexicana de oftalmología. 2004, febrero del 05 2010 <<http://www.smo.org.mx/conjuntivitis-bacteriana>>.
- Fontella, JR. Conjuntivitis Alérgica. Clasificación, Diagnóstico Y Tratamiento. Hospital Clínico y Provincial de Barcelona. 30 enero. 2010. <<http://www.ofthalmocom.com/Temas/Conjuntiva/Conjuntivitis%20alergica.htm>>.
- García. P. Diplomado en ojo seco: módulos 2, 5, 7. Ophtha-fedopto, 2009.
- Harry, J y Misson, G. Clinical Ophthalmic Pathology: Principles of diseases of the Eye and Associated structures. Oxford: Butterworth Heinemann, 2001 361pp.

Herrera H, et al. Efecto del fumarato de ketotifeno tópico sobre la concentración de IgE total en lágrimas y la expresión de HLA-DR en pacientes con conjuntivitis alérgica. *Ciencia & Tecnología para la salud visual y ocular. Revista de la Facultad de Optometría de la Universidad de La Salle*; 7 (2006): 17-26

Herrera H y Prada P. Comparación de los signos y síntomas con los niveles de IgE en lágrimas, en pacientes con conjuntivitis alérgica. *Revista de la Facultad de Optometría de la Universidad de La Salle*; 8(2006): 37-44. Ihan A, Cvenkel B. 2000. <<Conjunctival epithelium expression of HLA-DR in glaucoma patients and its influence on the outcome of filtration surgery>>. *Br J Ophthalmology* 84:648–650.

Irkec, M y Bozkurt, B. <<Epithelial cells in ocular allergy>> *Curr Allergy Asthma Rep* 3. 4. (2003): 352-357.

Johnson ME, Murphy PJ 2004. Changes in the tears film and ocular surface from dry eye syndrome. *Prog Retina Eye Res* 23 (4): 449-474.

Kansky, J. *Clinical Ophthalmology. A systematic Approach*. 6a edition. British: Elsevier Limited, 2007, 931 pp.

Kaufman. P. *Adler's Physiology of the Eye*. St. Louis: Mosby, 10a edition, 2003. 876pp.

Krachmer, J, et al. *Cornea*. Philadelphia: Elseiver Mosby, 2005. 200pp.

Mabey, et al. 1991. Expression of MHC class II antigens by Conjunctival epithelial cells in trachoma: Implications concerning the pathogenesis of blinding disease. *J Clin Pathol* 44:285-289.

- Merayo, J. Conceptos actuales en ojo seco. Del síndrome a la enfermedad. España, 2005. Febrero de 05 2010 << <http://www.oculab.com/ficheros/ojoseco.pdf>>>.
- Murube, J, Rivas L. Dry eye: clinical and impression cytology classification. ARCH. SOC. CANAR. OFTAL. 2002 - Nº 13. Abril 28 de 2008. <<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12696629>>>.
- Murube, J. Anatomía y fisiología. 26 Enero. 2010 <<<http://www.oftalmo.com/publicaciones/ojoseco/cap02.htm>. >>
- Ohashi, Y. et al. Abnormal protein profiles in tears with dry eye syndrome. Ed. Am J Ophthalmol.2003.31enero.2010 <<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12888052?dopt=Abstract>.>>
- Pepose, J. Ocular infection & immunity. St. Louis (USA): Mosby, 1995. 1552pp.
- Rodríguez M, et al. Descripción de la metaplasia escamosa por citología de impresión en pacientes con ojo seco. Ciencia & Tecnología para la salud visual y ocular. Revista de la Facultad de Optometría de la Universidad de La Salle; 8 (2007): 51-62.
- Rojas, W. *Inmunología*. 13ra edición. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas, 2004, 473 pp.
- Riegleman, R. Discriminación diagnóstico de las pruebas. Panamá: Bol Of Sanit Panamá, 1991. 537pp.
- Saroux, H. et.al. Anatomía e histología del ojo. Barcelona: Masson, 1985. 367pp.
- Serrano, H. Sistema lagrimal. Panamá: Highlights of Ophthalmology, 2004. 414pp.
- Senaratne T, Gilbert C. 2005. Primary eye care conjunctivitis. Journal_53_Final.indd; 73-75.

Serin, D. et al. A simple approach to the repeatability of the Schirmer test without anesthesia. Eyes open or closed? *Cornea* 26 (8): 903-906.

Sutphin, J. E. *Enfermedades Externas Y Cornea*. España: Harcourt Brace De, S.A. 2007, 528pp.

Tissa, S. Conjuntivitis. *Revista de salud ocular*. 2006. 27 enero. 2010
<http://www.revistasaludocular.org/diciembre_2006/pdf/8Conjuntivitis.pdf>

Tomás J, Arrondo E. *Actualización en alergia ocular*. Tomo 1. Ed. Glosa, S.L. 2003
<http://www.esteve.es/EsteveArchivos/1_8/Ar_1_8_49_APR_1.pdf> Marzo 17 de 2008.

Tseng SCG. 1999. Visión integrada y nuevas perspectivas de las enfermedades lagrimales y de la superficie ocular. *Archivos de la sociedad española de oftalmología* 74: 9-28.

Wu, G. *Ophthalmology for primary care*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997. 197pp.

Yanoff, M. *Ocular Pathology*. 5a edition. St Louis, Missouri: Mosby, 2002, 761p, 215p.

Zuber, Thomas J., Mayeaux J, *Atlas of Primary Care Procedures*. USA. Source: Lippincott Williams & Wilkins. 2003. 632pp.



Anexo N°1. Formato de historia clínica.

EXPRESIÓN DE HLA-DR MEDIANTE INMUNOHISTOQUÍMICA EN CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL EN PACIENTES CON PATOLOGÍA OCULAR INFLAMATORIA DE SEGMENTO ANTERIOR

HISTORIA CLINICA

FECHA _____ HISTORIA N° _____
 NOMBRE _____ EDAD _____
 OCUPACION _____ TEL _____
 MOTIVO DE CONSULTA _____

ANTECEDENTES MEDICOQUIRURGICOS _____

FARMACOLOGICOS _____

ALERGICOS _____

SINTOMATOLOGIA

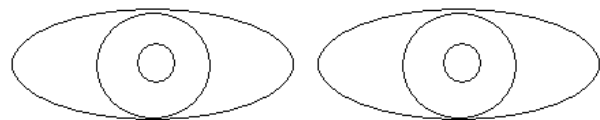
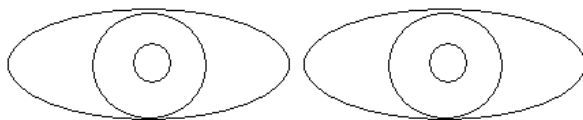
AGUDEZA VISUAL

AGUDEZA VISUAL DE LEJOS		
SIN CORRECCION	OD	_____
	OI	_____
CON CORRECCION	OD	_____
	OI	_____

BIOMICROSCOPIA

TINCION FLUORESCEINA

TINCION ROSA DE BENGALA



OD _____
OI _____

OD _____
OI _____

EVALUACION DE PELICULA LAGRIMAL

PRUEBA CLINICA	OD	OI
SCHIRMER		
BUT		

DIAGNOSTICO

	OD	OI	LEVE	MODERADO	SEVERO
<input type="checkbox"/> CONJUNTIVITIS ALERGICA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> CONJUNTIVITIS BACTERIANA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> OJO SECO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> OJO SANO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			

CONDUCTA

OBSERVACIONES

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ con CC _____

Certifico que he sido informado sobre mi participación como caso clínico en el estudio:

“Expresión de HLA-DR mediante inmunohistoquímica en citología de impresión conjuntival en pacientes con patología ocular inflamatoria de segmento anterior”, que conozco los posibles riesgos de los procedimientos y acepto participar de él.

Firma _____ C.C. _____

Anexo N°2. Descripción detallada de la población de estudio del grupo 1 (Ojo Seco)

OJO SECO	N° de sujetos	EDAD	GENERO		SINTOMATOLOGIA	BIOMICROSCOPIA
			F	M		
ODI S	1	40		X	DOLOR OCULAR, SENSACION DE CUERPO EXTRAÑO, VISION BORROSA, ARDOR	BLEFRITIS SBORREICA ODI, PTERIGIO TIPO I OI
ODI M	2	21	X		ARDOR OCULAR	HIPEREMIA CONJUTIVAL BULBAR LEVE DIFUSA
ODI M	3	18	X		LAGRIMEO, ARDOR, FOTOFOBIA.	OD: SECRECION ESCAMOSA EN PESTAÑOAS. HIPEREMIA EN CONJUNTIVA BULBAR LEVE DIFUSA. PAPILAS LEVES DIFUDAS EN CONJUNTIVA TARSAL EN SUPERIOR E INFERIOR. OI DESEÑOS EN PELICULA LAGRIMAL. PAIPLAS EN TARSO SUPERIOR EN INFERIOR LEVES
ODI M	4	21	X		HIPEREMIA, SENSACION DE RESEQUEDAD.	ODI: HIPEREMIA LEVE EN CONJUNTIVA BULBAR LADO TEMPORAL SECTORIZADA. MEIBOMITIS.
ODI M	5	50	X		ARDOR, OJO ROJO Y SENSACIÓON DE "LANZETAZOS"	PINGUECULITIS NASAL EN ODI. E HIPEREMIA CONJUNTIVAL LEVE
ODI M	6	20	X		ARDOR OCULAR OCASIONAL E HIPEREMIA POR EXPOSICION AL MEDIO AMBIENTE	DESCAMACIÓN EN PESTAÑAS LEVE Y MEIBOMITIS EN PARPADO SUPERIOR. METAPLASI NASAL Y TEMPORAL
ODI L	7	21		X	ARDOR OCULAR E HIPEREMIA CONJUNTIVAL LEVE DIFUSA OCASIONAL	ESTRUCTURAS OCULARES NORMALES
ODI L	8	22	X		SENSACION DE RESEQUEDAD OCULAR ODI Y OJO ROJO OCASIONAL	LAGOFTALMOS DE 1MM ODI
ODI M	9	26		X	ARDOR CONSTANTE	SECRECION PAPILAR LEVE EN TARSO INFERIOR ODI
ODI L	10	30	X		HIPEREMIA CONJUNTIVAL, PRURITO EN CANTO INTERNO EN ODI, RESEQUEDAD OCULAR	HIPEREMIA CONJUTIVAL BULBAR LEVE DIFUSA, REACCION PAPILAR LEVE EN EL TARSO INFERONASAL. HILOS MUCOSOS EN CANTO INTERNO OI.

Anexo N°3. Descripción detallada de las pruebas clínicas del grupo 1 (Ojo Seco)

N° de sujetos	TINCION CON ROSA DE BENGALA	TINCION CON FLUORESCINA	BUT seg		SCHIRMERmm		CITOLOGIA- GRADOS		INMUNOHISTOQUIMICA	
			OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
1	GRADO 1 ODI	PUNTEADO DIFUSO EN CORNEA ODI	1	1	0	0	2	2	N	N
2	GRADO 2 ODI	TINCION NEGATIVA	8	7	8	6	2	2	N	N
3	GRADO 3 ODI.	TINCION NEGATIVA	7	9	6	3	3	3	N	N
4	GRADO 3:ODI	TINCION NEGATIVA	4	3	6	5	1	1	N	N
5	GRADO 3:ODI	TINCION NEGATIVA	4	5	4	3	1	1	N	N
6	GRADO 3:OD GRADO 2: OI	TINCION NEGATIVA	4	4	25	25	1	1	N	N
7	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	6	6	14	14	0	2	N	N
8	GRADO 2 OD: GRADO 3 OI	TINCION NEGATIVA	7	8	21	24	2	2	N	N
9	GRADO 3 OD. TINCION NEGATIVA OI.	TINCION NEGATIVA	5	4	3	2	1 CROMATINA IRREGULAR	2 CROMATINA IRREGULAR	N	N
10	GRADO 3: ODI.	TINCION POSTIVA: PUNTEADO SUPERFICIAL INFERIOR CORNEAL	6	7	7	9	2	4	N	N

ODI = OJO DERECHO IZQUIERDO
OD= OJO DERECHO
N= NEGATIVO
P= POSITIVO
OI=OJO IZQUIERDO

Anexo N°4. Descripción detallada de la población de estudio del grupo 2 (Conjuntivitis Alérgica)

CONJUNTIVITIS ALERGICA	N° de sujetos	EDAD	GENERO		SINTOMATOLOGIA	BIOMICROSCOPIA
			F	M		
LEVE	1	21		X	RESEQUECEDAD OCULAR AL FINALIZAR EL DÍA EN AMBOS OJO, HIPEREMIA CONJUNTIVAL POR EXPOSICION AL AMBIENTE	MEIBOMITIS ODI, PINGUECULA NASAL OD, LEVE REACCION PAPILAR AMBOS
MODERADA	2	24	X		FOTOFOBIA, CANSANCIO OCULAR, ARDOR	OD: SECRECION OLEOSA EN PESTAÑOS. HIPEREMIA EN CONJUNTIVA BULBAR LEVE DIFUSA. PAPILAS LEVES DIFUDAS EN CONJUNTIVA TARSAL INFERIOR. OI DESCAMACION DE PESTAÑAS. HIPEREMIA EN CONJUNTIVA BULBAR MODERADA DIFURA. DESECHOS EN PELICULA LAGRIMAL.
MODERADA	3	15	X		CANSANCIO OCULAR, ARDOR OCULAR.	ODI: PAPILAS EN CONJUNTIVA TARSAL INFERIOR LEVES
MODERADA	4	15		X	ARDOR OCULAR, PRURITO Y OJO ROJO EN AMBOS OJOSPOR LA MAÑANA DESDE HACE TRES MESES.	ODI: MEIBOMITIS EN MARGEN PALPEBRAL INFERIOR, PAIPLAS LEVES EN CONJUNTIVA TARSAL INFERIOR. METAPLASIA ESCAMOSA EN LADO NASAL.
LEVE OI, MODERADA OD	5	22		X	ARDOR OCULAR	MEIBOMITIS Y PAPILAS EN TARSO INFERIOR ODI
MODERADA	6	50	X		ARDOR OCULAR EN AMBOS OJOS	PINGUECULITIS NASAL Y TEMPORAL EN ODI.
MODERADA	7	29		X	ARDOR OCULAR E HIPEREMIA CONJUNTIVAL LEVE DIFUSA OCASIONAL Y SENSACION DE CUERPO EXTRAÑO	REACCION PAPILAR LEVE EN TARSO INFERIOR ODI
LEVE	8	26		X	ARDOR, CONGESTION CONJUNTIVAL NASAL Y TEMPORAL ODI	HIPEREMIA CONJUNTIVAL BULBAR LEVE DIFUSA, REACCION PAPILAR LEVE EN TARSO INFERIOR
LEVE	9	27	X		NINGUNO	MEIBOMITIS Y REACCION PAPILAR ODI
LEVE	10	21	X		PRURITO, HIPEREMIA, ARDOR EN LA MAÑANA	SECRECION PAPILAR LEVE EN TARSO INFERIOR Y SUPERIOR ODI

Anexo N°5. Descripción detallada de las pruebas clínicas del grupo 2 (Conjuntivitis Alérgica)

N° de sujetos	TINCION CON ROSA DE BENGALA	TINCION CON FLUORESCINA	BUT seg		SCHIRMERmm		CITOLOGIA- GRADOS		INMUNOHISTOQUIMICA	
			OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
1	GRADO 3,ODI	TINCION NEGATIVA	12	11	18	19	1	2	N	N
2	GRADO 3 OD, GRADO 2 OI	TINCION NEGATIVA	5	4	6	4	3	3	N	N
3	GRADO 3: ODI	OD TINCION SUPERFICIAL EN CORNEA INFERIOR. OI NO SE OBSERVA TINCION	5	3	30	25	3	3	N	N
4	GRADO 3 ODI:	TINCION NEGATIVA	12	13	25	20	3	3	N	N
5	GRADO 2 OI, GRADO 3 OD	TINCION NEGATIVA	4	5	14	14	0	0	N	N
6	GRADO 2 ODI	TINCION NEGATIVA	4	5	20	17	1	1	N	N
7	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	10	9	13	11	4	3	N	N
8	GRADO 3:ODI	TINCION NEGATIVA	8	9	14	10	1	1	N	P
9	GRADO 3: OD. TINCION NEGATIVA OI	TINCION NEGATIVA	9	10	13	14	0	1	MUESTRA ESCASA	MUESTRA ESCASA
10	GRADO 3. ODI	TINCION NEGATIVA	3	4	6	5	3	1	DIFICIL LECTURA	DIFICIL LECTURA

ODI = OJO DERECHO Y IZQUIERDO
OD= OJO DERECHO
N= NEGATIVO
P= POSITIVO
OI=OJO IZQUIERDO

Anexo N°6. Descripción detallada de la población de estudio del grupo 3 (Conjuntivitis Bacteriana)

CONJUNTIVITIS BACTERIANA	N° de sujetos	Edad	GENERO		SINTOMATOLOGIA	BIOMICROSCOPIA
			F	M		
SEVERA	1	19	X		PRURITO, HIPEREMIA, ARDOR, LAGRIMEO, FOTOFOBIA, SENSACION DE CUERPO EXTRAÑO	QUERATITIS PUNTEADA SUPERFICIAL AMBOS OJOS
MODERADA	2	20	X		HIPEREMIA, PESADEZ DE PÁRPADOS, SENSACION DE CUERPO EXTRAÑO	LEVE SECRECION MUCUPURULENTO EN CANTO INTERNO EN ODI
MODERADA	3	21	X		ARDOR OCULAR OCASIONAL E HIPEREMIA POR EXPOSICION AL MEDIO AMBIENTE, SENSACION DE CUERPO EXTRAÑO	LEVE SECRECION MUCUPURULENTO EN CANTO INTERNO EN ODI, CON EDEMA PALPEBRAL LEVE Y HIPEREMIA CONJUNTIVAL LEVE DIFUSA
MODERADA	4	18	X		SENSACION DE CUERPO EXTRAÑO, DOLOR PALPEBRAL EN ODI	HEMORRAGIA SUBCONJUNTIVAL SUPERIOR ODI
MODERADA	5	40	X		DOLOR OCULAR, ARDOR OCULAR, SENSACION DE CUERPO EXTRAÑO, PRURITO	PINGUECULITIS NASAL Y TEMPORAL EN ODI. LEVE SECRECION MUCUPURULENTO EN CANTO INTERNO EN ODI, CON EDEMA PALPEBRAL LEVE Y HIPEREMIA CONJUNTIVAL LEVE DIFUSA
MODERADA	6	50	X		PARAPADOS PEGADOS EN LA MAÑANA, ARDOR OCULAR, SECRECION PURULENTO	PTERIGIO NASAL TIPO 1, SECRECION PURULENTO EN CONJUNTIVA TARSAL INFERIO. ODI
MODERADA	7	21		X	FOTOFOBIA, SENSACION DE CUERPO EXTRAÑO, ARDOR OCULAR, SECRECION PURULENTO CONSTANTE.	SECRECION MUCUPURULENTO MODERADA EN CANTO INTERNO Y EXTERNO, HIPEREMIA CONJUNTIVAL BULBAR LEVE, PAPILAS EN TARSO
MODERADA	8	53		X	OJO ROJO, ARDOR OCULAR. DESPIERTA CON LOS OJOS PEGADOS	LAGOFTALMOS DE 1MM ODI, PÁRPADOS LAXOS, BLEFARITIS SEBORREICA Y MEIBOMITIS ODI. METAPLASIA ESCAMOSA NASAL EN OD, SECRECION MUCUPURULENTO MODERADA EN CANTO INTERNO Y EXTERNO, HIPEREMIA CONJUNTIVAL BULBAR LEVE, PAPILAS EN TARSO
MODERADA	9	18		X	FOTOFOBIA, SENSACION DE CUERPO EXTRAÑO, ARDOR OCULAR, SECRECION PURULENTO CONSTANTE.	SECRECION MUCUPURULENTO MODERADA EN CANTO INTERNO Y EXTERNO, HIPEREMIA CONJUNTIVAL BULBAR LEVE DIFUSA, PAPILAS EN TARSO
MODERADA	10	35		X	FOTOFOBIA, SENSACION DE CUERPO EXTRAÑO, ARDOR OCULAR, SECRECION PURULENTO CONSTANTE. EN ESPECIAL OJO DERECHO	SECRECION MUCUPURULENTO MODERADA EN CANTO INTERNO Y EXTERNO, HIPEREMIA CONJUNTIVAL BULBAR DIFUSA LEVE, PAPILAS EN TARSO

Anexo N°7. Descripción detallada de las pruebas clínicas del grupo 3 (Conjuntivitis Bacteriana)

N° de sujetos	TINCION CON ROSA DE BENGALA	TINCION CON FLUORESCEINA	BUT seg		SCHIRMERmm		CITOLOGIA- GRADOS		INMUNOHISTOQUIMICA		
			OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI	
1	GRADO 2 ODI	POSITIVO: PUNTEADO SUPERFICIAL DIFUSO EN CORNEA ODI	4	5	12	13	1	1	N	N	
2	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	8	6	12	12	1	MUESTRA ESCASA	N	N	
3	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	4	3	16	11	MUESTRA ESCASA	3	N	N	
4	GRADO 2 ODI	TINCION NEGATIVA	10	9	15	13	1	1	N	N	ODI = OJO DERECHO IZQUIERDO
5	OD :GRADO 3 - OI :GRADO2	TINCION NEGATIVA	5	5	20	15	2	2	N	N	OD= OJO DERECHO
6	GRADO 3 ODI	TINCION NEGATIVA	11	10	14	15	4	4	N	N	N= NEGATIVO
7	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	8	9	10	12	1	3 PNM	N	N	P= POSITIVO
8	GRADO 3 ODI	TINCION POSTIVA: PUNTEADO SUPERFICIAL INFERIOR CORNEAL ODI	6	6	13	6	0	0	N	N	OI=OJO IZQUIERDO
9	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	9	7	12	11	2	1	N	N	
10	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	7	5	9	8	2	3	N	N	

Anexo N°8. Descripción detallada de la población de estudio del grupo Control

GRUPO CONTROL	N° de sujetos	EDAD	GENERO		SINTOMATOLOGIA	BIOMICROSCOPIA
			F	M		
	1	20	X		NO REPORTA SINTOMAS	ESTRUCTURAS OCULARES NORMALES
	2	21	X		NO REPORTA SINTOMAS	METAPLASIA CONJUNTIVAL NASAL LEVE EN ODI
	3	25	X		NO PRESENTA SINTOMATOLOGIA	ESTRUCTURAS OCULARES NORMALES
	4	29		X	NO PRESENTA SINTOMATOLOGIA	CONGRESIONES DE CALCIO EN TARSO INFERIOR
	5	31		X	ASINTOMATICO	ESTRUCTURAS OCULARES NORMALES
	6	40		X	ASINTOMATICO	ESTRUCTURAS OCULARES NORMALES
	7	23	X		ASINTOMATICO	ESTRUCTURAS OCULARES NORMALES
	8	25		X	ASINTOMATICO	ESTRUCTURAS OCULARES NORMALES
	9	36		X	ASINTOMATICO	ESTRUCTURAS OCULARES NORMALES
	10	29	X		ASINTOMATICO	ESTRUCTURAS OCULARES NORMALES

Anexo N°9. Descripción detallada de la pruebas clínicas del grupo Control

N° de sujetos	TINCION CON ROSA DE BENGALA	TINCION CON FLUORESCEINA	BUT seg		SCHIRMERmm		CITOLOGIA-GRADOS		INMUNOHISTOQUIMICA	
			OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI
1	NO SE OBSERVA TINCION	TINCION NEGATIVA	10	9	17	18	3	1	MUESTRA ESCASA	N
2	SE OBSERVA TINCION PUNTEADA DE FLUORESCEINA EN LA METAPLASIA GRADO 3	TINCION NEGATIVA	11	9	10	9	2	3	N	N
3	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	11	11	15	15	0	0	N	P CALICIFORMES
4	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	5	8	16	16	2	1	N	N
5	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	9	8	13	10	0	0	N	N
6	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	11	12	12	13	1	0	N	N
7	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	10	11	14	13	1	0	N	N
8	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	8	10	10	12	1	1	N	N
9	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	8	7	15	12	1	1	N	N
	TINCION NEGATIVA	TINCION NEGATIVA	9	11	12	13	0	1	N	N

ODI = OJO DERECHO IZQUIERDO
OD= OJO DERECHO
N= NEGATIVO
P= POSITIVO
OI=OJO IZQUIERDO