

# APLICACIÓN SUBCONJUNTIVAL DE CONCENTRADO DE PLAQUETAS PLASMÁTICAS EN EL TRATAMIENTO DE QUEMADURAS OCULARES. RESULTADOS PRELIMINARES

## SUBCONJUNCTIVAL APPLICATION OF PLASMA PLATELET CONCENTRATE IN THE TREATMENT OF OCULAR BURNS. PRELIMINARY RESULTS

MÁRQUEZ-DE-ARACENA R<sup>1</sup>, MONTERO-DE-ESPINOSA I<sup>1</sup>, MUÑOZ M<sup>2</sup>, PEREIRA G<sup>3</sup>

### RESUMEN

**Objetivo:** Se valoró la eficacia de la aplicación subconjuntival de concentrado de plaquetas plasmáticas autólogas en pacientes con quemaduras oculares.

**Método:** Para ello se analizaron 10 ojos de 10 pacientes que sufrieron accidentes laborales por quemaduras oculares del mismo grado. Se establecieron dos tipos de tratamiento: al primer grupo, control, se le aplicó tratamiento médico tópico convencional; al segundo, se le añadió además, inyección subconjuntival de concentrado de plaquetas autólogas. Se estudió la evolución clínica, días que le incapacitaron dicha patología para su actividad laboral y seguimiento hasta su curación final.

**Resultados:** Se encontraron diferencias entre el grupo de los tratados con concentrado de plaquetas autólogas subconjuntivales respecto al grupo con tratamiento médico tópico convencional, siendo más corto el tiempo de cicatrización de córnea (sig-

### ABSTRACT

**Purpose:** The efficiency of the subconjunctival application of autologous platelet concentrate in patients with ocular burns was assessed.

**Methods:** This was carried out by analysing the effect of treatment in the eyes of 10 patients suffering from ocular burns as a result of work-related accidents. Two types of treatment were evaluated: the first group only received conventional topical medical treatment; and the second group, in addition, had subconjunctival injection of plasma platelet concentrate. The clinical condition of the patient and the period in which the disease prevented the patient from working were studied; monitoring was carried out until the burns had fully healed.

**Results:** Statistically significant differences were found between the group treated with subconjunctival autologous platelet concentrate and the group treated with conventional topical medications, with

Recibido: 17/7/06. Aceptado: 12/6/07.

Hospital FREMAP de Sevilla. Clínica Centro Cid de Sevilla. Departamento Cirugía (Área Oftalmología). Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

<sup>1</sup> Doctor en Medicina. Universidad de Sevilla. España.

<sup>2</sup> Doctor en Medicina. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. España.

<sup>3</sup> Licenciada en Medicina. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. España.

Trabajo financiado por Institución Casa Real de los Godos.

Correspondencia:

Rafael Márquez de Aracena del Cid

Servicio de Oftalmología

Hospital FREMAP de Sevilla

Avda. de Jerez, s/n

Sevilla

España

E-mail: rafael\_marquez@fremap.es

nificativamente estadístico), conjuntiva, baja laboral y tiempo hasta curación final.

**Conclusiones:** Podemos considerar la autoplacquetoterapia subconjuntival (infiltración subconjuntival de concentrado de plaquetas autólogas) como un tratamiento sencillo y económico en el tratamiento de las alteraciones traumáticas (quemaduras) de la superficie ocular. Cuya eficacia deberá ser confirmada por series mayores.

**Palabras claves:** Superficie ocular, quemaduras oculares, plaquetas, factores de crecimiento, córnea.

a shorter period of time in corneal and conjunctival healing, time on sick leave and time needed for full healing.

**Conclusions:** Subconjunctival infiltration of autologous platelet concentrate should be considered as a straightforward, economical and possibly effective form of treatment for traumatic accidents (burns) of the ocular surface (*Arch Soc Esp Oftalmol* 2007; 82: 475-482).

**Key words:** Ocular surface, ocular burns, platelet, growth factors, cornea.

## INTRODUCCIÓN

Las quemaduras oculares suponen el 12-19% de los traumatismos oculares (1), afectando generalmente a personas jóvenes en su actividad laboral o doméstica (2). Es una patología que requiere una actuación rápida y eficaz, de la cual dependerá su pronóstico final. Pueden ser de naturaleza química o física. La mayoría de las quemaduras químicas, también llamadas causticaciones, están producidas por sustancias ácidas o alcalinas. La gravedad de una lesión química está relacionada con la concentración del producto, el pH de la solución y el tiempo de exposición. Los álcalis provocan lesiones más graves al desnaturalizar las proteínas y saponificar los lípidos de las membranas lo que permite que el material alcalino penetre con rapidez la córnea y entre en el ojo. Los ácidos precipitan proteínas corneales que actúan como tampón y barrera contra la penetración más profunda. En general, hay que considerar el grado de afectación de la córnea, de la conjuntiva y del limbo esclero-corneal, teniendo esta última estructura anatómica cada vez mayor relevancia debido a que en ella se encuentran las células madre encargadas de la regeneración epitelial (3).

Tras un quemadura corneal, desde el borde del epitelio sano, hay un primer intento de recubrimiento: las células epiteliales basales de los márgenes de la úlcera pierden sus hemidesmosomas y migran para cubrir el defecto. El recubrimiento definitivo será a expensas de las células transitorias y células madres limbares (4). Cuando hay una destrucción de las células madre limbares, por la acción de mediadores químicos que se encuentran en el estroma y la ausencia de fibroblastos —que producen factores de crecimiento de queratocitos—

(5), el epitelio conjuntival sufre una transformación recubriendo la córnea (6,7). El aumento de la vascularización acabará por conjuntivalizar la córnea (8). En el estroma corneal ocurre una degradación del colágeno, que estimulará la migración de polimorfonucleares (PMN) a la córnea (9). Éstos producirán leucotrienos, quimiotácticos para nuevos neutrófilos, y colagenasas que provocarán la degradación enzimática del colágeno y, por tanto, la perforación corneal. El factor de crecimiento epitelial estimulará a los queratocitos para formación de nuevo colágeno anómalo que provocará una cicatriz blanquecina y desarrollarán fibrillas contráctiles intracitoplásmicas que producirán una cicatriz y un posible astigmatismo irregular (4).

El objetivo del tratamiento será conseguir la reepitelización corneal y conjuntival con la mayor rapidez y el menor daño permanente posible. Los episodios prolongados de desepitelización corneal incrementan la producción de colagenasas en el estroma corneal, pudiendo llegar a la perforación corneal. La base del tratamiento convencional incluye el lavado ocular abundante, la limpieza de restos del producto que permanezcan en la superficie ocular, el desbridamiento de áreas necróticas y la aplicación de tratamiento tópico con corticoides, antibióticos y ciclopléjicos (3). Las lesiones de mayor gravedad pueden requerir, además de lo expuesto anteriormente, tratamiento médico sistémico como es el uso de tetraciclinas (10), corticoides, antioxidantes y favorecedores de la síntesis de colágeno como el ácido ascórbico (11). En casos de quemaduras graves pueden ser necesarias opciones de tratamiento quirúrgico, como el trasplante de membrana amniótica (12) o el autoinjerto de limbo esclero-corneal (13) con el fin de regenerar las células madre limbares para favorecer la epitelización y

suprimir la fibrosis. Entre las técnicas clásicas se encuentra la autohemoterapia —inyección subconjuntival de sangre autóloga— en pacientes con quemaduras oculares importantes, cuya eficacia ha sido contrastada (14-17) incluso acompañada de otras sustancias (18).

Por otro lado, se sabe que el suero autólogo parece facilitar la curación y regeneración epitelial de patologías de la superficie ocular (19-22) ya que aporta, entre otros, factores de crecimiento.

Estos factores de crecimiento son proteínas que desempeñan una función esencial en los procesos complejos de reparación y regeneración de tejidos. Intervienen en la comunicación intercelular; transmiten su información al interactuar con los receptores situados en la membrana celular; favorecen la quimiotaxis, proliferación y diferenciación celular (23). Pueden encontrarse en el interior de las plaquetas, almacenados en los gránulos alfa y se han encontrado varios factores endógenos implicados en la reparación de tejidos (24), incluido el ojo (25).

La posible aplicación de factores de crecimiento derivados de concentrados de plaquetas sobre las células epiteliales de la córnea podría favorecer su trofismo (26). En cultivos celulares se ha podido observar que la aplicación de determinadas fracciones de suero y plasma aumentan el crecimiento, migración y diferenciación celular, respecto a los que no se les aplica (27). Asimismo se ha abierto una posibilidad a la utilización de concentrados de plaquetas plasmáticas en patologías de la superficie ocular, como los trasplantes (28).

La eficacia de la aplicación tópica del suero autólogo y de la autohemoterapia en determinadas alteraciones de la superficie ocular, pueden hacer pensar que el potencial terapéutico de esta última técnica reside en el contenido de la fracción plaquetaria que contiene la sangre. Hasta ahora, no se ha demostrado que los factores de crecimiento sean los únicos hemoderivados que favorezcan los procesos de reepitelización corneal.

Llegados a este punto será imprescindible valorar si la aplicación de concentrados de plaquetas plasmáticas actúan eficazmente en la regeneración de alteraciones de la superficie ocular. Para ello se analizó clínicamente la regeneración de los tejidos de la superficie ocular de ojos con quemaduras tras aplicación subconjuntival de concentrado de plaquetas plasmáticas, valorando la utilidad y eficacia de dicha técnica. Presentamos nuestros resultados preliminares.

## SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODO

Se analizaron 10 ojos de 10 pacientes que acudieron de urgencia a nuestro centro (monográfico de patología laboral) por accidentes laborales: quemaduras oculares grado III de la clasificación de Dua (29), es decir, con defectos corneales de 3 a 6 horas de afectación corneal y de 30-50% de lesión conjuntival. Tras recibir el tratamiento pautado, según método y protocolo, se realizó seguimiento clínico hasta su curación.

Los pacientes se eligieron de manera consecutiva entre los primeros que acudieron a urgencias con dichas patologías y autorizaron la realización de los correspondientes tratamientos. En aquellos pacientes que sufrieron quemaduras en ambos ojos se eligió, para estudio, sólo el ojo con lesión más grave.

### Distribución por grupos

Los pacientes se dividieron en dos grupos en función del tratamiento recibido:

— El grupo A (5 pacientes) recibió tratamiento tópico convencional.

— El grupo B (5 pacientes) recibió tratamiento tópico + concentrado de plaquetas subconjuntivales (APL).

Tratamiento médico convencional (realizado a todos los pacientes estudiados):

Tras lavado ocular profuso con suero fisiológico y limpieza con torunda, se instauró el siguiente tratamiento médico en todos ellos: colirio cicloplentolato 1 gota /12hs; colirio de dexametasona 1mg y tobramicina 3 mg (tobradex, laboratorio Alcon-Cusí) 1 gota/6hs; pomada retinol palmitato 10.000 U.I. + gentamicina, sulfato 3 mg + DL-Metionina 5 mg (pomada oculos epitelizante, Novartis) / 6hs + oclusión del ojo afecto. En los casos que así lo requirieron se realizó profilaxis antitetánica.

Al grupo B se utilizó el siguiente protocolo:

1.º Información detallada al paciente y firma de consentimiento informado.

2.º Extracción de 20 cc de sangre periférica en tubos estériles de 4,5 ml y base de citrato sódico 0,5 ml como anticoagulante. Además se extrae sangre para análisis clínico que comprende: hemograma y bioquímica completo, hepatitis y VIH.

Se centrifugan los tubos con las muestras de sangre a 2.100 rpm durante 7' separándose el plasma en fracciones. Para nuestro estudio empleamos la fracción plasmática más rica en plaquetas: los 200-400 µl (0,2-0,4 cc.) inmediatamente encima de la

serie roja. Se obtienen 1-2 ml tras centrifugación cuando el hematocrito está dentro de los parámetros clínicos habituales.

### Tratamiento subconjuntival

En lugar esteril (quirófano), y tras aplicación de 1 gota/ 3´/ 3 veces en el ojo a tratar de colirio de tetracaína clorhidrato 1mg + 4 mg de oxibuprocaina clorhidrato (colircusí anestésico doble<sup>®</sup>, Alcon-Cusí). se inyecta subconjuntivalmente el concentrado de plaquetas en conjuntiva bulbar (fig. 1) 0,5-1 ml a las 12,00 h y otro a las 6,00 h. Se aplica pomada antibiótica + colirio antiinflamatorio y oclusión 24 hs.

### Método de evaluación clínica

Sintomatología clínica subjetiva del paciente y evaluación clínica de las lesiones mediante biomicroscopia con lámpara de hendidura, con/sin tinción tópica de fluoresceína. Para medir tanto las lesiones como la evolución de las mismas se realizó la división horaria del ojo en 12 partes de Dua (29), analizando la zona de tinción con fluoresceína e hiperemia.

Recogida de datos (en base tipo excel).

Estudio estadístico: Medias con desviación estándar; percentiles mediante Bisagras de Tukey y significación mediante Prueba de Kruskal-Wallis. Correlación de Pearson (paramétrica y no paramétrica).



Fig. 1: Quemosis conjuntival tras infiltración de concentrado de plaquetas plasmáticas subconjuntivales en un ojo con quemadura por álcali.

## RESULTADOS

Se analizaron de manera aleatoria 10 pacientes varones que habían sufrido quemaduras oculares por cáusticos grado tipo III según la clasificación de Dua (35) debidas a accidentes laborales: con edad media 32,25 (DE=15,52). Cuatro eran ojos derechos (40%), cinco ojos izquierdos (50%) y 1 le afectaron los dos ojos (10%). En relación a los sectores productivos de donde provenían los pacientes: 50% (5 pacientes) procedían de la construcción, seguidos del sector servicios del 30% (3) y del 20% la industria (2 pacientes). Los agentes etiológicos más frecuentes fueron 6 pacientes por álcalis (60%), 3 por disolventes (30%), muy frecuentes en los sectores de la construcción y servicios, y 1 paciente por ácidos (10%).

Respecto al tiempo de cicatrización de la córnea fue de 6 días para el grupo A (tratamiento convencional) y 3 días para grupo B (autoplaquetoterapia), encontrándose diferencias estadísticamente significativas (0,001) entre ambos grupos.

El tiempo de cicatrización conjuntival fue mayor en el grupo A (6 días) que en el grupo B (4 días), aunque la diferencia no llega a ser estadísticamente significativa (0,017).

En relación con la queratitis se evidenció un acortamiento en los pacientes del grupo B (6 días) respecto al grupo A (9 días) que tampoco llegó a ser estadísticamente significativo.

Respecto al tiempo de baja laboral, en las quemaduras no existía diferencias estadísticas entre el grupo A (7 días) y el grupo B (6 días).

En el tiempo final de curación, se encontraron diferencias entre el grupo A (10 días) y B (6 días), que tampoco llegaron a ser estadísticamente significativas (0,017).

El estudio analítico de los pacientes tratados con concentrados plaquetarios plasmáticos autólogos no se mostró ninguna correlación con ninguno de los parámetros estudiados (correlación de Pearson paramétrica y no paramétrica).

### Efectos secundarios del tratamiento

En el grupo A no se evidenció ningún efecto indeseable. En el grupo B, al 100% de los que se le aplicó concentrado plaquetario subconjuntival la quemosis había desaparecido a las 24 horas (fig. 2). Tres pacientes (60%) señalaron escozor ocular al

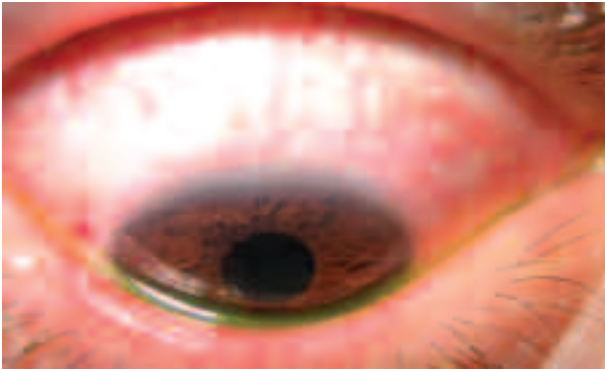


Fig. 2: Estado de la conjuntiva bulbar a las 24hs de infiltración subconjuntival de concentrado de plaquetas plasmáticas.

minuto tras inyección que desapareció a los 3'-5'. En tres de ellos (60%) quedaron pequeños depósitos subconjuntivales anaranjados muy localizados y minimamente sobre elevados en los lugares de infiltración que desaparecieron a los 8 días de media. Tampoco se evidenciaron secuelas permanentes en ninguno de los ojos tratados.

## DISCUSIÓN

Entre los diversos tratamientos utilizados para corregir los defectos epiteliales corneales se encuentra la aplicación de suero autólogo: en la queratitis neuroparalítica, neurotrófica (30), enfermedades crónicas de la superficie ocular (31), queratoconjuntivitis sicca (32,33) y defectos persistentes del epitelio corneal (34,35).

El suero autólogo parece facilitar la curación y regeneración epitelial de patologías de la superficie

ocular (19-22) ya que aporta factores de crecimiento y mejora la sensibilidad corneal tras su aplicación (30). Asimismo, la utilización tópica de otros factores de crecimiento, como el epidérmico (EGF) y el neural (NGF), parecen acelerar la curación de defectos corneales (36-38), mejorando la visión y la sensibilidad corneal (39). Los factores vasculares endoteliales pueden jugar un papel importante en la fisiología de las células epiteliales de la conjuntiva (25). También se ha demostrado que la aplicación exógena de factores (KGF-2) en animales experimentales (conejos) puede estimular la migración de células madres limbares al centro de la córnea, acelerando la curación de la córnea quemada (40). Dicha estimulación parece estar relacionada con la concentración de factores de crecimiento (41). Los factores de crecimiento presentes en la membrana amniótica favorece el crecimiento de células limbares cultivadas (42).

La aplicación tópica de factores de crecimiento de ratón en tres pacientes con defectos epiteliales persistentes debidos a queratitis neurotrófica mejoraron el cuadro, apuntándose problemas para su aplicación debido tanto a costes como dificultades técnicas (43).

En el presente estudio se observa que la inyección subconjuntival de concentrados plaquetarios autólogos reduce de manera estadísticamente significativa el tiempo de cicatrización de la córnea en quemados tipo III (0,001).

Respecto a la cicatrización de la conjuntiva, se había descrito cierta actividad de factores de crecimiento endógenos en su regeneración (25). En nuestro estudio, se evidencia una disminución del tiempo de cicatrización conjuntival en los quemados tipo III tratados con plaquetas respecto al tratamiento convencional, grupo A, que no llega a ser

Tabla I. Cuadro resumen de los resultados

Días de baja		M	P50	[P25-P75]	P
Tipo III	Grupo A	5	7	[6-9]	0,053
	Grupo B	5	6	[4-6]	
Tiempo curación	Grupo A	5	10	[8-15]	0,017
	Grupo B	5	6	[6-7]	
Cicatriz. Córnea	Grupo A	5	6	[4-7]	0,001
	Grupo B	5	3	[2-3]	
Cicatriz. Conjuntiv	Grupo A	5	6	[6-7]	0,017
	Grupo B	5	4	[4-6]	

estadísticamente significativa (0,017). Estos resultados deberán ser comprobados en series mayores.

En relación con la queratitis se evidenció un acortamiento de la curación en los pacientes grupo B (6 días) respecto al grupo A (9 días) que no llegó a ser estadísticamente significativo.

Aunque no sea un factor estrictamente clínico el tiempo de baja laboral de los pacientes, nos ha parecido conveniente incluirlo debido a la relevancia social y económica que implica. Los resultados son muy similares (7 días en el grupo A y 6 días en el grupo B). Respecto al tiempo final de curación, en las quemaduras se encontraron diferencias entre el grupo A (10 días) y B (6 días), que no llegaron a ser estadísticas (0,017).

El acortamiento del período de cicatrización de la córnea (significativamente estadístico), conjuntiva, tiempo de baja laboral y de curación final de los tratados con concentrado de plaquetas plasmáticas (grupo B), respecto a los tratados de forma convencional (grupo A), puede indicar que la aplicación subconjuntival de los mismos tiene una función activa y eficaz en los procesos de regeneración ocular externa de etiología traumática (quemaduras) por lo que podría valorarse su utilización de manera tópica.

En los pacientes tratados con concentrados plaquetarios autólogos (grupo B), no se evidenció ninguna correlación entre los diferentes resultados analíticos (hemáticos y bioquímicos) respecto a los parámetros estudiados.

La eficacia de este tratamiento se ve reflejado en el acortamiento general del tiempo de curación y cicatrización de conjuntiva y tiempo de curación en quemados oculares tipo III (35), que se hace significativamente estadístico en la cicatrización corneal.

La presencia de pequeñas sobreelevaciones conjuntivales localizadas, parece señalar la localización de depósitos de concentrados plaquetarios que irían liberándose de forma retardada, prolongando el efecto de dicho tratamiento.

La aplicación subconjuntival de plasma rico en plaquetas plasmáticas parece acelerar la curación de signos clínicos presentes en patologías oculares, como es la úlcera en córnea y conjuntiva. En procesos que aparecen varios días después de su aplicación, como la queratitis, no parecen tener gran eficacia. Por lo que podría valorarse su utilización de manera tópica.

La eficacia clínica de la aplicación subconjuntival de la fracción plaquetaria, en nuestra experiencia, nos permite deducir que no hace falta activar el concentrado plaquetario para que sea efectivo, con-

siderando interesante la posibilidad de una nueva aplicación en el tratamiento de las quemaduras oculares. Asimismo, que la acción regeneradora tisular de la sangre puede encontrarse, fundamentalmente, en la fracción plaquetaria.

La técnica utilizada permite la obtención exclusiva de plaquetas, excluyendo interleucinas inflamatorias de origen leucocitario. Se evitan riesgos de transmisión ya que es plasma autólogo; preparación de forma inmediata y ambulatoria; nulo efecto antigénico y un coste económico muy bajo. Al demostrar el concentrado de plaquetas una potencial actividad regeneradora en la superficie ocular abre un abanico de utilidades en el tratamiento de patologías de la superficie ocular.

La aplicación subconjuntival de concentrado de plaquetas plasmáticas autólogas (autoplaquetoterapia) en lesiones traumáticas —quemaduras— oculares es un tratamiento sencillo y económico en el tratamiento de las quemaduras de la superficie ocular, sin presentar efectos secundarios indeseables. Cuya eficacia deberá ser confirmada por series mayores.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Reim M, Redbrake C, Schrage N. Heridas oculares químicas y térmicas. Tratamiento quirúrgico y médico basado en hallazgos clínicos y patofisiológicos. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2001; 76: 79-124.
2. Morgan SJ. Chemical burns of the eye: causes and management. *Br J Ophthalmol* 1987; 71: 854-857.
3. Rapuano CJ, Luchs J, Kim T. Requisitos en Oftalmología. *Segmento Anterior*. Madrid: Harcourt 2001; 288-293.
4. Cameron JD. Corneal reaction to injury. In Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ. *Cornea: Fundamentals of cornea and external diseases*. St. Louis: Mosby; 1997.
5. Kruse FE, Tseng SC. Epithelial growth is promoted by a mitogen from fibroblast conditioned medium. *Invest Ophthalmol Vis Sci (ARVO Suppl)* 1991; 34: 1011.
6. Harris TM, Berry ER, Pakurar AS, Sheppard LB. Biochemical transformation of bulbar conjunctiva into corneal epithelium: an electrophoretic analysis. *Exp Eye Res* 1985; 41: 597-605.
7. Buck RC. Ultrastructure of conjunctival epithelium replacing corneal epithelium. *Curr Eye Res* 1986; 5: 149-159.
8. Huang AJ, Watson BD, Hernandez E, Tseng SC. Induction of conjunctival transdifferentiation by photothrombotic occlusion of corneal neovascularization. *Ophthalmology* 1988; 95: 228-235.
9. Pfister RR, Haddox JL, Dodson RW, Harkins LE. Alkali-burned collagen produces a locomotory and metabolic stimulant neutrophils. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1987; 28: 295-304.
10. Ralph RA. Tetracyclines and the treatment of corneal stromal ulceration: a review. *Cornea* 2000; 19: 274-282.
11. Pfister RR, Paterson CA, Spiers JW, Hayes SA. The efficacy of ascorbate treatment after severe experimental

- alkali burns depends upon the route of administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1980; 19: 1526-1529.
12. Kruse FE, Rohrschneider K, Völcker HE. Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. *Ophthalmology* 1999; 106: 1504-1510.
  13. Morgan S, Murray A. Limbal autotransplantation in the acute and chronic phases of severe chemical injuries. *Eye* 1996; 10: 349-354.
  14. Trusov MS, Rozenkrants KB. Surgical treatment of chemical burns of the eye in combination with irrigation with defibrinated blood and subconjunctival administration of autoblood with antibiotics. *Vestn Oftalmol* 1966; 79: 61-65.
  15. Sallai S, Fehér J, Podhorányi G. Experience with autologous blood therapy in burns. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1967; 150: 879-886.
  16. Dolezalova V, Kutsikova L. Subconjunctival injection of autogenous blood in the eye after thermal and chemical burns. *Cesk Oftalmol* 1973; 29: 207-212.
  17. Lenkiewicz E, Ferencowa A, Szewczykowa E. Subconjunctival autohemotherapy of eye burns in our cases. *Klin Oczna* 1992; 94: 113-114.
  18. Kuprianowicz W, Czesnel H. Results of treatment of calcium eye burns with subconjunctival injections of blood. *Klin Oczna* 1969; 39: 51-54.
  19. Fox RI, Chan R, Michelson JB, Belmont JB, Michelson PE. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 459-461.
  20. Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J. Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology* 1999; 106: 1984-1989.
  21. Tsubota K, Goto E, Fujita H, Ono M, Inoue H, Saito I, et al. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjogren's syndrome. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 390-395.
  22. Goto E, Shimmura S, Shimazaki J, Tsubota K. Treatment of superior limbic keratoconjunctivitis by application of autologous serum. *Cornea* 2001; 20: 807-810.
  23. Bennet NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors. *Am J Surg* 1993; 165: 728-737.
  24. Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets* 2001; 12: 261-273.
  25. Gebhardt M, Mentlein R, Schaudig U, Pufe T, Recker K, Nölle B, et al. Differential expression of vascular endothelial growth factor implies the limbal origin of pterygia. *Ophthalmology* 2005; 112: 1023-1030.
  26. Hartwig D, Harloff S, Liu L, Schlenke P, Wedel T, Geerling G. Epitheliotropic capacity of a growth factor preparation produced from platelet concentrates on corneal epithelial cells: a potential agent for the treatment of ocular surface defects? *Transfusion* 2004; 44: 1724-1731.
  27. Hartwig D, Herminghaus P, Wedel T, Liu L, Schlenke P, Dibbelt L, et al. Topical treatment of ocular surface defects: comparison of epitheliotropic capacity of fresh frozen plasma and serum on corneal epithelial cells in an in vitro cell culture model. *Tranfus Med* 2005; 15: 107-113.
  28. Marquez de Aracena del Cid R, Montero de Espinosa Escoriaza I, Muñoz Sáez M, Pereira Gutiérrez G, Martín Leal F. Tratamiento con concentrado plaquetario plasmático subconjuntival y tópico en el trasplante de limbo. *Mapfre Medicina* 2006; 17: 280-285.
  29. Dua HS, King AJ, Joseph A. A new classification of ocular surface burns. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1379-1383.
  30. Matsumoto Y, Dogru M, Goto E, Ohashi Y, Kojima T, Ishida R, et al. Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy. *Ophthalmology* 2004; 111: 1115-1120.
  31. Ogawa Y, Okamoto S, Mori T, Yamada M, Mashima Y, Watanabe R, et al. Autologous serum eye drops for the treatment of severe dry eye in patients with chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 579-583.
  32. Fox RI, Chan R, Michelson JB, Belmont JB, Michelson PE. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 459-461.
  33. Tananuvant N, Daniell M, Sullivan LJ, Yi Q, Mckelvie P, McCarty DJ, et al. Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients. *Cornea* 2001; 20: 802-806.
  34. Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J. Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology* 1999; 106: 1984-1989.
  35. Tsubota K, Goto E, Fujita H, Ono M, Inoue H, Saito I, et al. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjogren's syndrome. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 390-395.
  36. Lambiase A, Manni L, Rama P, Bonini S. Clinical application of nerve growth factor on human corneal ulcer. *Arch Ital Biol* 2003; 141: 141-148.
  37. Baum J. Topical treatment with nerve growth factor for corneal neurotrophic ulcers. *Surv Ophthalmol* 1999; 43: 372-373.
  38. Lambiase A, Rama P, Bonini S, Caprioglio G, Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for corneal neurotrophic ulcers. *N Engl J Med* 1998; 338: 1174-1180.
  39. Bonini S, Lambiase A, Rama P, Caprioglio G, Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for neurotrophic keratitis. *Ophthalmology* 2000; 107: 1347-1351.
  40. Liu L, Li YP, Huang SQ, Lin JX, Zhang WX. Mechanism of keratinocyte growth factor-2 accelerating corneal epithelial wound healing on rabbit alkali burned cornea. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2005; 41: 364-368.
  41. Mathers WD, Sherman M, Fryczkowski A, Jester JV. Dose-dependent effects of epidermal growth factor on corneal wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 2403-2406.
  42. Yam HF, Pang CP, Fan DS, Fan BJ, Yu EY, Lam DS. Growth factor changes in ex vivo expansion of human limbal epithelial cells on human amniotic membrane. *Cornea* 2002; 21: 101-105.
  43. Daniele S, Gilbard JP, Schepens CL. Treatment of persistent epithelial defects in neurotrophic keratitis with epidermal growth factor: a preliminary open study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1992; 230: 314-317.