



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FUNDACION HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ

**COMPORTAMIENTO EPITELIAL CORNEAL
POST PRK Y LASEK EVALUADO
CON MICROSCOPIA CONFOCAL.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
CIRUJANO OFTALMOLOGO**

P R E S E N T A :

DR. ARTURO GUERRA JUÁREZ

ASESORES:

**DR. OSCAR BACA LOZADA
DRA. REGINA VELASCO RAMOS
DR. ALEJANDRO BABAYAN SOSA**

HOSPITAL OFTALMOLOGICO
DE NTRA. SRA. DE LA LUZ
★ FEB. 28 2007 ★
JEFATURA DE ENFERMERIA
EZEQUIEL MONTES 136
MEXICO, D.F.



MEXICO, D.F. FEBRERO, 2007

*Vo Bo
Arturo*

Arturo



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos:

A mis padres por su amorosa dedicación.

A mis maestros por su tiempo y paciencia.

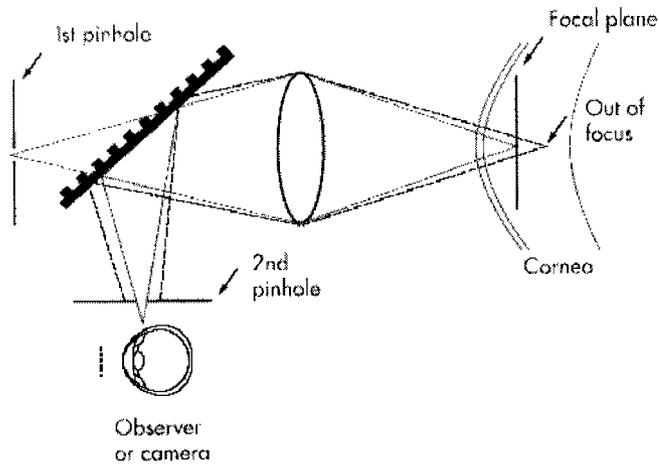
INDICE

| | |
|-------------------------|----|
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| OBJETIVO..... | 4 |
| HIPOTESIS..... | 4 |
| JUSTIFICACION..... | 4 |
| DISEÑO DEL ESTUDIO..... | 4 |
| MATERIAL Y METODOS..... | 5 |
| RESULTADOS..... | 7 |
| DISCUSIÓN..... | 32 |
| CONCLUSIONES..... | 39 |
| REFERENCIAS..... | 40 |

INTRODUCCIÓN

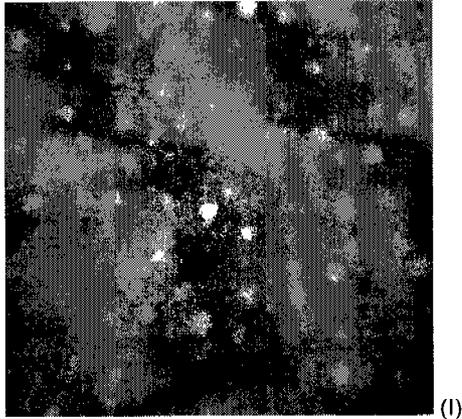
La queratectomía fotorefractiva (QFR) y el láser in situ keratomileusis (LASIK) han sido los procedimientos quirúrgicos más empleados para la corrección de errores refractivos. También el láser subepitelial keratomileusis (LASEK) se usa para corregir defectos refractivos, en dicha técnica se usa alcohol al 18% y al 20% para crear un colgajo epitelial.¹ En ocasiones en QFR se ha usado alcohol al 20% para remover el epitelio². Se han reportado alteraciones de re-epitelización con las técnicas de superficie, comprobadas mediante microscopía electrónica de transmisión (MET) y tinción de TUNEL (deoxynucleotidyl transfer mediated biotin-dexoyuridine 5-triphosphate nick-end labeling)¹, reportándose cambios ultra estructurales a nivel de membrana basal y capa de Bowman, así como modificaciones en la proliferación celular, y adherencia de la capa basal del epitelio. La literatura muestra que la mayoría de las publicaciones de cirugía refractiva se enfocan principalmente en resultados clínicos, con poco énfasis en la fisiopatología de la curación de la herida, por lo que existen muy pocos estudios que muestren patrones de comportamiento epitelial.

El principio de la microscopía confocal fue descrito en 1957 por Minsky, quien propuso que tanto el sistema de iluminación (condensador) como el de observación (objetivo) se enfocaran en un mismo punto (en un mismo punto focal) de ahí que se llame microscopía "confocal", mediante este método se mejoró la resolución axial (z) a 5-10 μm . así como la resolución lateral (x,y) 1-2 μm , permitiendo una magnificación de hasta 600 veces¹⁸.

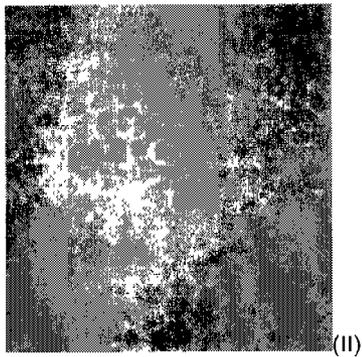


En la figura (A) de arriba se ilustra el principio de la microscopía confocal. Un haz de luz blanca pasa a través de un agujero pequeño y es enfocada en el plano focal sobre la córnea por una lente condensadora. La luz que regresa es desviada a través de un lente hacia un orificio pequeño de salida para alcanzar a un observador o una cámara. La luz distorsionada de otros planos focales cercanos es limitada por orificios pequeños y no alcanza al observador o la cámara. Esta técnica nos da imágenes de cortes coronales corneales en blanco y negro, en tiempo real, no invasiva y en vivo.

A continuación se describen las imágenes normales del epitelio corneal con microscopía confocal.



La imagen (I) nos muestra la capa de células de descamación del epitelio corneal en la que se pueden observar células con una morfología desordenada, con núcleos hiperreflécticos y pared celular mal delimitada.



En la imagen (II) se observa la capa basal del epitelio corneal en esta capa se observan células mas ordenadas, de menor tamaño, sin núcleo de centro oscuro y bordes claros¹⁸.

OBJETIVO

Analizar con microscopía confocal las características de re-epitelización en pacientes postoperados de QFR y LASEK.

HIPOTESIS

La regeneración del epitelio corneal es diferente entre QFR y LASEK con microscopía confocal

HIPOTESIS NULA

La regeneración del epitelio corneal no es diferente entre QFR y LASEK con microscopía confocal

JUSTIFICACION

Observar mediante microscopía confocal diferencias entre ambas cirugías de superficie (LASEK y QFR). Debido a la poca información disponible en la literatura se decide hacer este estudio.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Prospectivo, comparativo, longitudinal y experimental

MATERIAL Y METODOS

Se incluyeron todos aquellos pacientes que requirieran cirugía refractiva, mayores de 21 años, sin importar el sexo. Con los criterios de inclusión que se siguen para el protocolo de cirugía refractiva (refracción estable, agudeza visual corregida que mejorara mas de 3 líneas en comparación con la no corregida, grosor corneal por arriba de 520 micras, sin evidencia de patología corneal, sistémica o antecedente de cirugía ocular, sin uso de medicamentos tópicos por lo menos 2 meses antes), se excluyeron a todos aquellos que no acudieran a sus citas. Se dividieron a los pacientes en 2 grupos un grupo todos aquellos postoperados de QFR, el otro operados de LASEK.

La técnica quirúrgica se realizó con la plataforma Chiron 217, Technolas (Baush and Lomb®, Alemania), de la siguiente manera: se instiló una gota de tetracaina al 0.5% antes de la cirugía, se realizó QFR trans-epitelial con diámetro de 7 mm y un grosor promedio de 50 micras. Se realizo una ablación estromal con diámetro de 5.5 mm y un grosor variable de acuerdo al defecto refractivo, al final del procedimiento quirúrgico se colocó lente de contacto. En los pacientes con LASEK, después de instilar anestesia local con tetracaina al 0.5% se les coloco alcohol al 20% sobre el epitelio corneal durante 30 segundos en un aérea de 7mm, acto seguido se hizo el flap epitelial para posteriormente realizar la ablación estromal con la plataforma Chiron 217, Technolas (Baush and Lomb®, Alemania), con recolocación del flap epitelial y lente de contacto.

Se llevó un control clínico y fotográfico (Sony Cyber-shot DSC-P10 ®) de ambas córneas con lámpara de hendidura y con microscopio confocal (Confoscan 3 ®) a los días 1, 4, 5, 12,18 y 24 del postoperatorio, en pacientes postoperados de QFR. A los pacientes postoperados de LASEK se les tomaron

fotos clínicas a partir del día 5 posterior al retiro del lente de contacto pero se les realizó microscopía confocal los días antes mencionados.

Una vez recabadas las fotos se estudio el tiempo de re-epitelización con el micrómetro de la lámpara de hendidura en los pacientes operados solamente de QFR y en los pacientes operados de LASEK no se realizo esto debido a que se les dejo lente de contacto hasta que re-epitelizaron, en ambas técnicas se hizo microscopía confocal y se estudiaron las características del epitelio (hipertrofia e hiperplasia) así como su integración. Se correlacionaron los cambios en la microscopía confocal: características del epitelio, tiempo de aparición de la membrana basal del epitelio corneal.

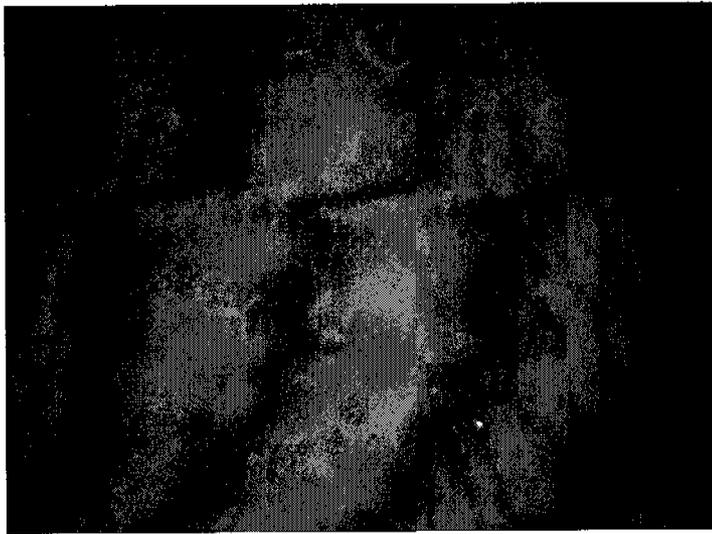
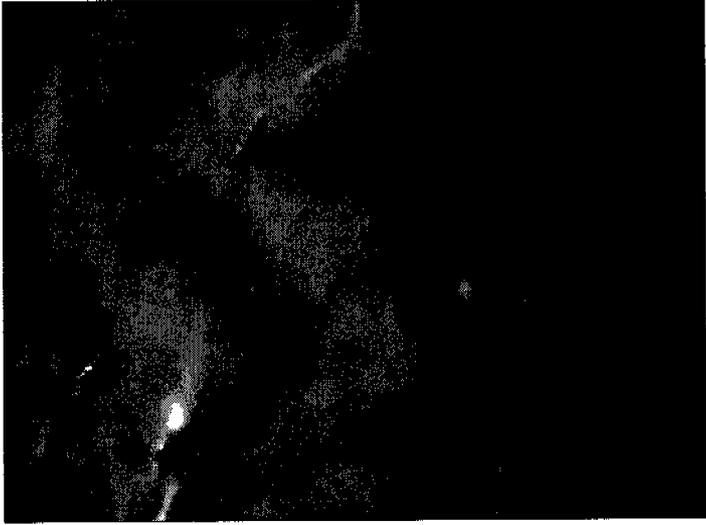
También se realizó un conteo de células basales del epitelio corneal los días antes mencionados en ambos grupos de pacientes con el Confoscan 3 ®, (Software NAVIS 3 ®) usando un diámetro de 0.0192 mm² ya que es el que esta previamente instalado en la maquina, se hizo una comparación del número de células en ambos grupos de pacientes, se hizo análisis estadístico de "t" pareada para muestras con diferente varianza así como desviación estandar con Microsoft Excel 2002 ®.

RESULTADOS

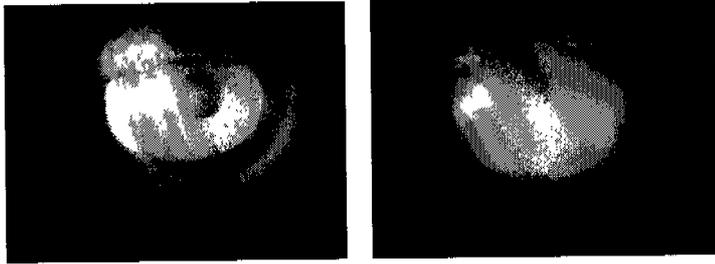
El trabajo tuvo una duración de 1 año 7 meses (marzo 2005 a octubre 2006) en el cual se estudiaron un total de 33 ojos (21 QFR y 12 LASEK) de 17 pacientes. Con un rango de edad de 21 a 37 años (promedio 29 años). Se realizaron un total de 594 tomas con microscopia confocal teniendo un promedio de 300 fotos por cada toma haciendo un total de 58,800 imágenes de las cuales se analizó un promedio de 6 fotos por cada toma escogiéndose las más claras. Se tomaron y analizaron un promedio de 24 fotos clínicas digitales por ojo en el grupo de QFR y en grupo de LASEK 12 fotos por ojo a partir de que se retiró el lente de contacto (entre el día 5 y 7 postquirúrgico) haciendo un total de 594 fotos.

En los 21 ojos postoperados de QFR se observaron características similares en cuanto a patrones de re-epitelización. En el 100% de los ojos estudiados se vieron imágenes ausentes de epitelio corneal con zonas de hiperreflectividad sin forma característica probablemente correspondiente a restos de células epiteliales en el primer día post-quirúrgico, solamente observándose el estroma anterior sin epitelio. En el 82% de los ojos estudiados (18 ojos) se observó la aparición de células nucleadas sobre el estroma anterior al cuarto día postquirúrgico, 2 ojos tuvieron una capa más organizada con más células y con una capa de células basales visibles y en el 4% (un ojo) no se observó dicha capa de células hasta el quinto día después de la cirugía. A día 12 en el 96% de los ojos (19 ojos) se observaron los primeros indicios de la capa de células basales. En todos los ojos se observó primero una capa desorganizada de células prebasales (nucleadas), para después tener una capa basal bien organizada, aproximadamente a los 18 días aparecieron células nucleadas con

bordes no bien definidos sobre una capa de células basales bien organizadas en el 82% de los ojos estudiados, en los ojos restantes esta capa apareció al estudio siguiente (7 días después). Observándose en todos los ojos todas las capas del epitelio al mes (± 5 días) y en las fotos panorámicas a los 25 días después de la cirugía teniendo el primer día posquirúrgico un área promedio de 6.5mm x 6.8mm al 4to día posquirúrgico se tuvo un área promedio de 1mm x 4mm y al quinto día quirúrgico se tuvo solo una desepitelización central de menos de 1mm x 1 mm posteriormente con queratopatía punteada difusa hasta el día 25 (± 5 días), con un promedio de reepitelización de 1.5 mm diarios y del día 3 al 4 avanzando hasta 4 mm, se observó una velocidad constante de reepitelización en el 96% de los ojos pero no constante en el tiempo, siendo más rápida conforme el aumentaba el tiempo. En todos los casos no se alcanzó a observar nervios dentro el epitelio (2 meses). Solo se observaron 4 ojos con *haze* (3 pacientes) el cual apareció al día 15 después de la cirugía desapareciendo completamente en 2 ojos al mes, en lo otros 2 presentaron *haze* a los 2 meses.



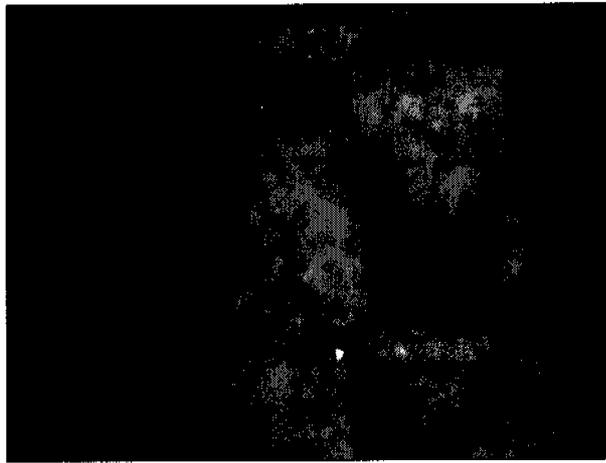
Fotos de microscopio confocal prequirúrgicas: Se observa la capa de células basales, el estroma anterior de donde salen los nervios atravesando la membrana de Bowman (entre la capa de células basales y el estroma anterior) y penetrando al epitelio. Se observan células de descamación.



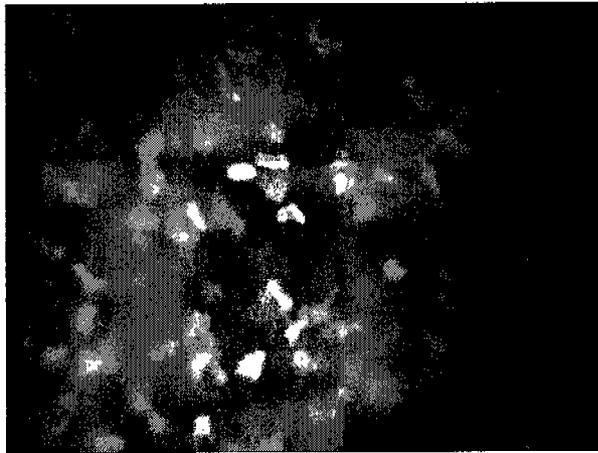
Primer día postquirúrgico en un paciente del GRUPO de QFR sin fluoresceína y con fluoresceína



Primer día postquirúrgico en un paciente del grupo de LASEK

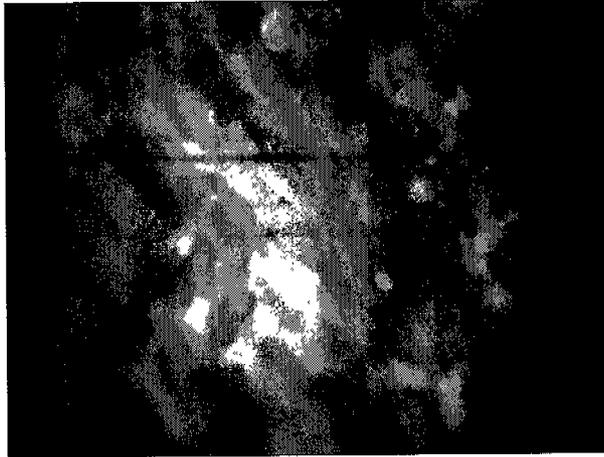


A.

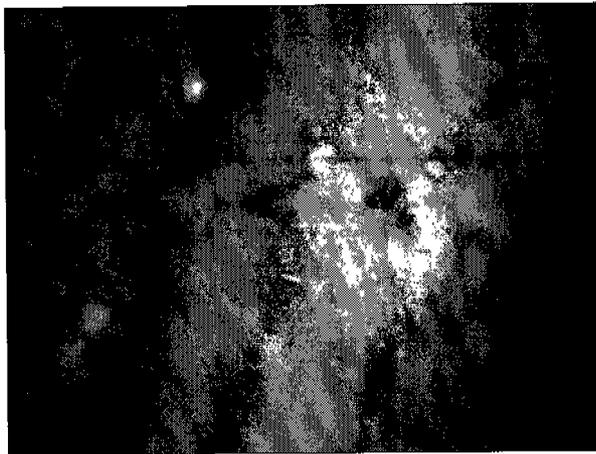


B.

Fotos de microscopia con focal del 1er día posquirúrgico de QFR (A) no se observa epitelio solo tejido necrótico en la zona de la cirugía. (B) con queratocitos activados.



A1.



B1.

Microscopia confocal de un paciente del grupo de LASEK en el primer día postquirurgico (A1) En la capa epitelial superficial del flap epitelial se observa hipertrofia celular con núcleos y bordes celulares claros sin espacios intercelulares.

(B1) En la capa basal epitelial del flap se observa hipertrofia de células basales.



Fotos del 4to día posquirúrgico de QFR en el cual se observa una desepitelización central

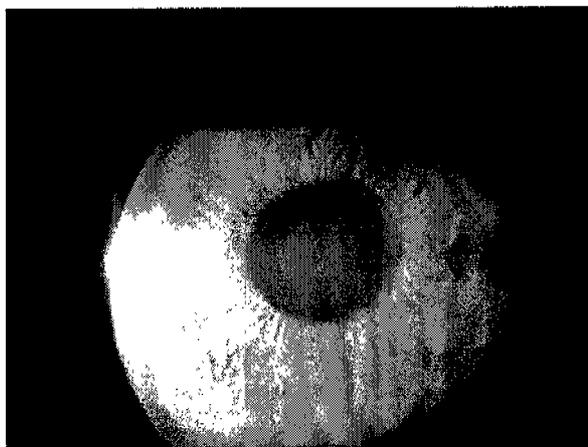
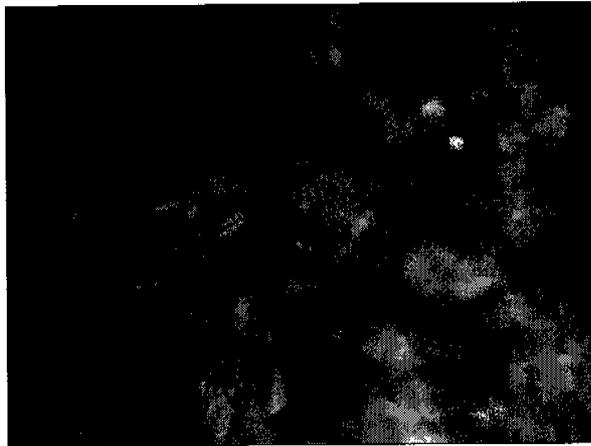


Foto clínica al 4to día posquirúrgico de LASEK todavía con lente de contacto

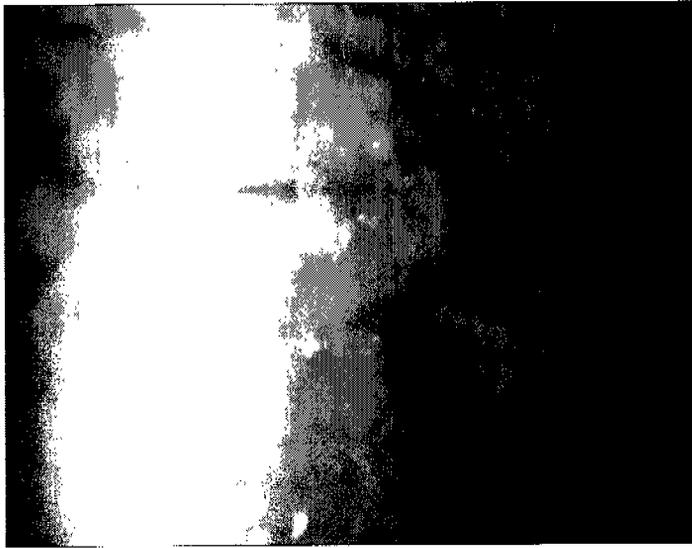


A2

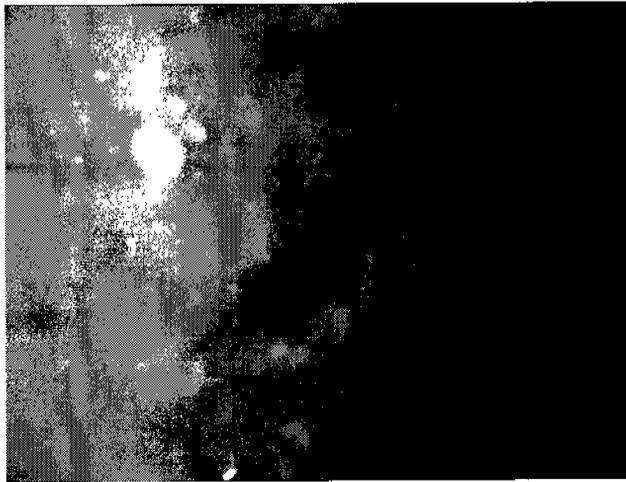


B2.

Fotos del 4to día PO de microscopia confocal de QFR (A2) se observan los primeros rastros de proliferación de células epiteliales así como como células de descamación. (B2) Estroma anterior con queratocitos medianamente activados.



A3



B3

Fotos del 4to día PO con microscopia confocal en pacientes de LASEK (A3) Se observan disminución del tamaño celular así como mayor espacio intercelular en la capa superficial del epitelio corneal (B3) se observa células prebasales en con bordes muy difusos nucleadas inmediatamente debajo de la capa de células superficiales.

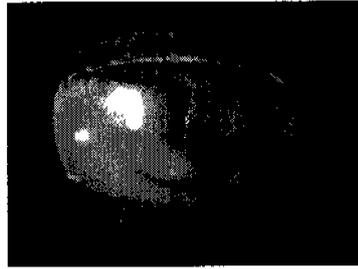


Foto PO 5to día de QFR con una desepitelización central ya desapareciendo

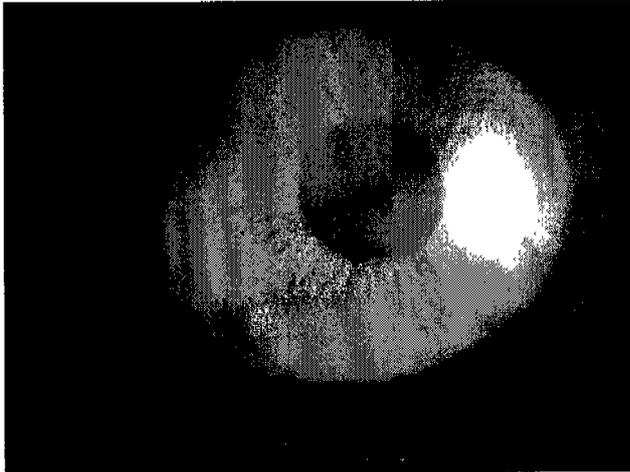
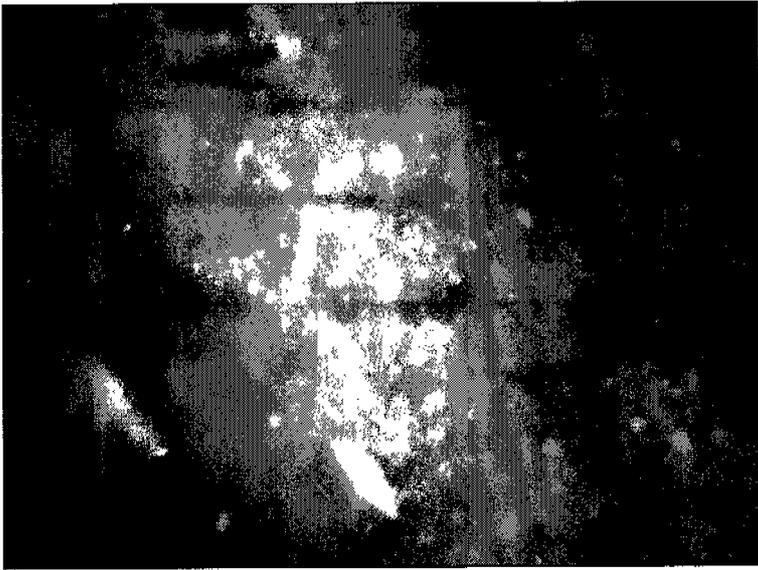
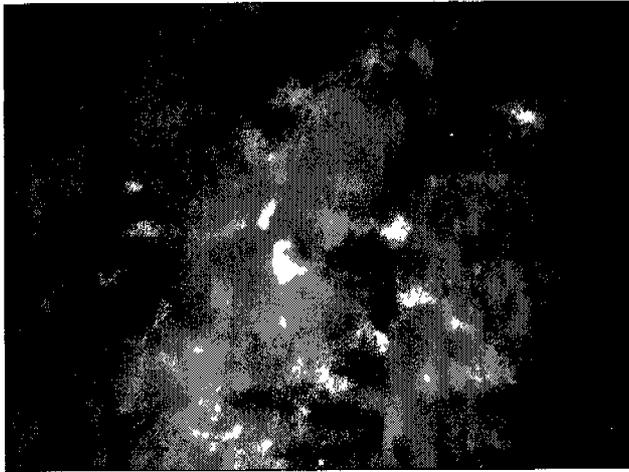


Foto de LASEK al 5to día PO sin defecto epitelial

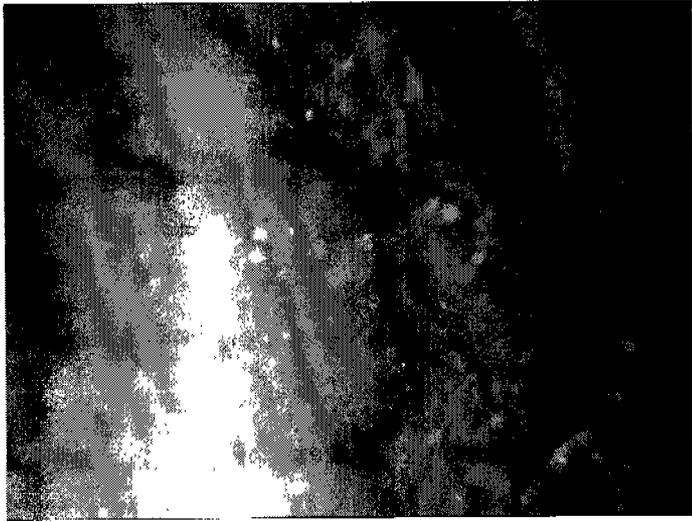


A4.

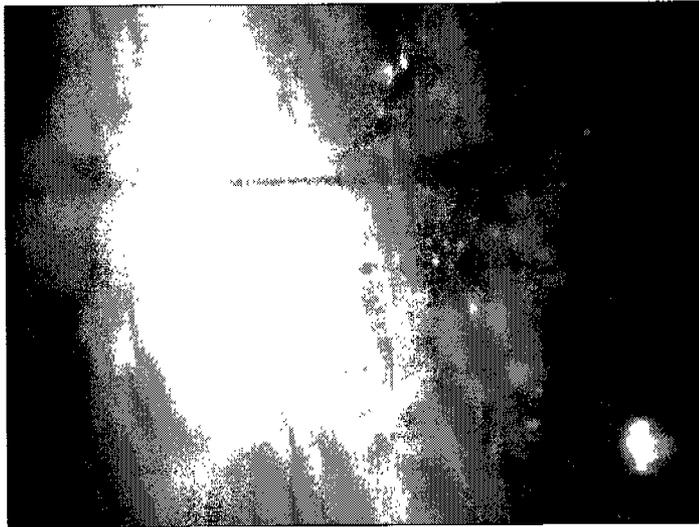


B4.

Fotos del 5to día PO de QFR (A4) se observan un aumento considerable en la proliferación de células provenientes de la capa basal con engrosamiento general del epitelio. (B4) con actividad moderada de queratocitos.

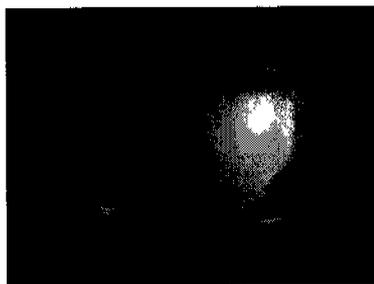
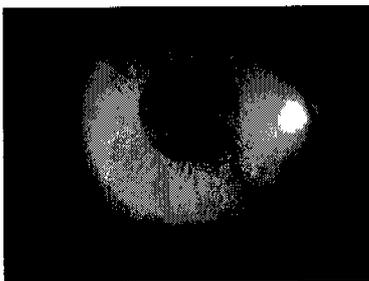


A5

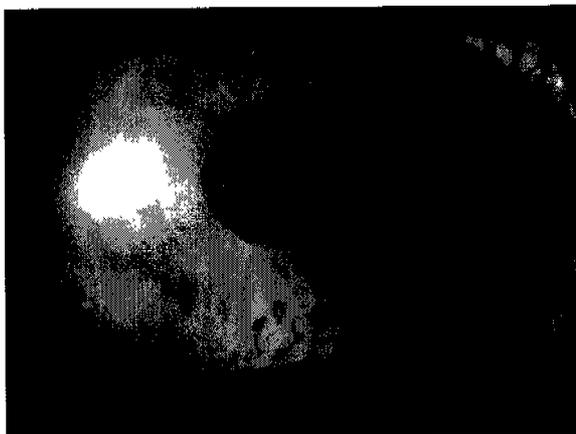


B5

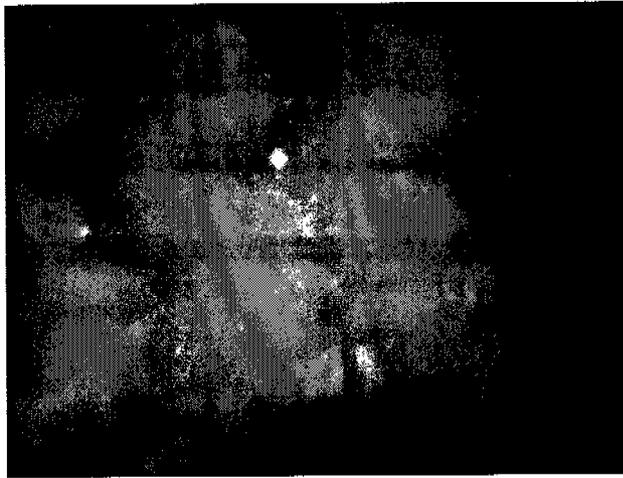
Fotos de microscopia confocal al 5to día PO de LASEK (A5) el epitelio en todo su grosor es ocupado por células prebasales las cuales han sustituido en su totalidad a las células originales del flap.



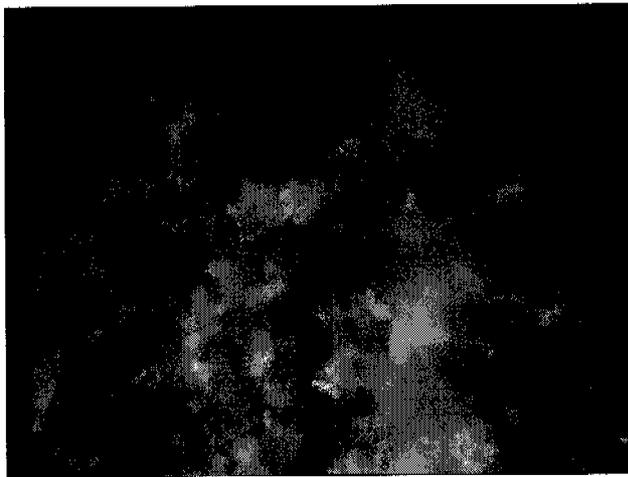
Fotos del 12 día PO de QFR ya sin desepitelización



Fotos del día 12 PO de LASEK solamente con queratopatía epitelial superficial al instilar fluoresceína.

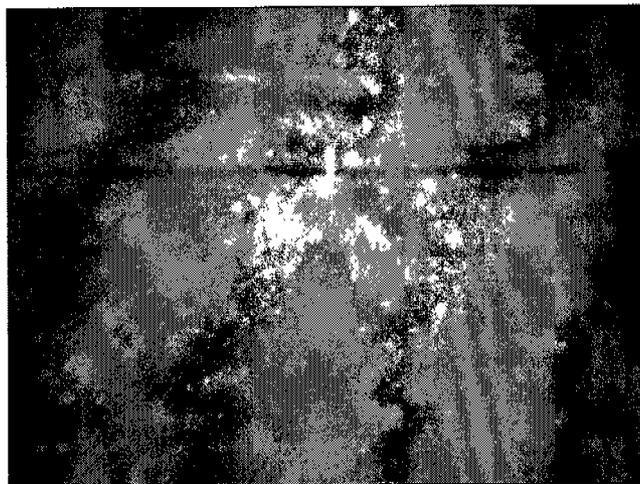
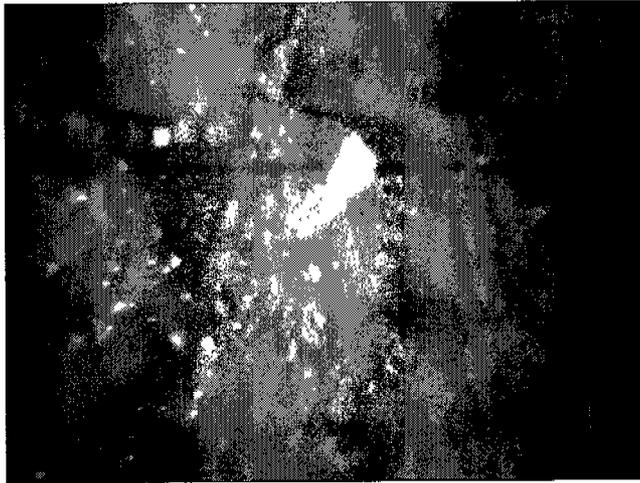


A6.



B6.

Foto microscopia confocal del día 12 PO QFR (A6) Se observa más claramente y más definida la capa de células epiteliales con células de descamación. (B6) con queratocitos moderadamente activados.



Fotos del día 12 PO LASEK (A7) se observa una capa de células superficiales con desarrollo incompleto todavía sin bordes claros ni núcleos prominentes, (B7) en esta foto se observa una capa de células basales con hipertrofia e inmadura, todavía con núcleos prominentes pero con tendencia a la normalidad conforme se profundiza.

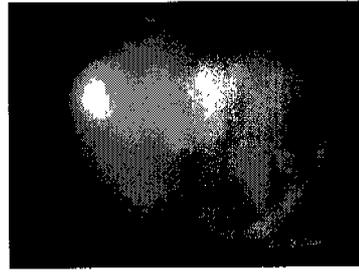
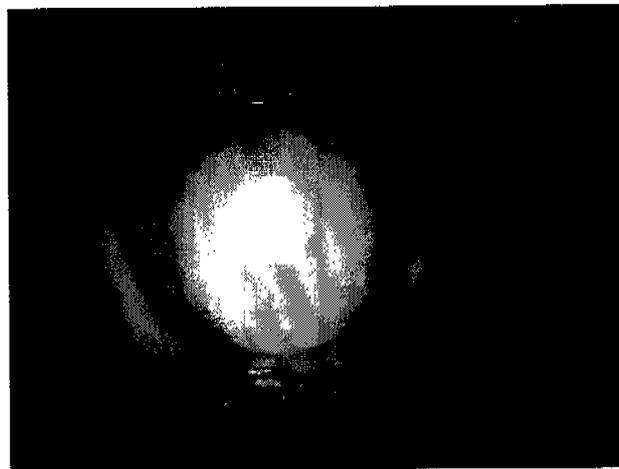
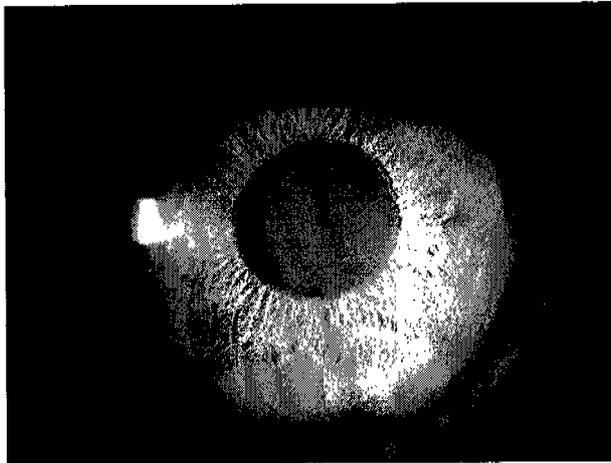
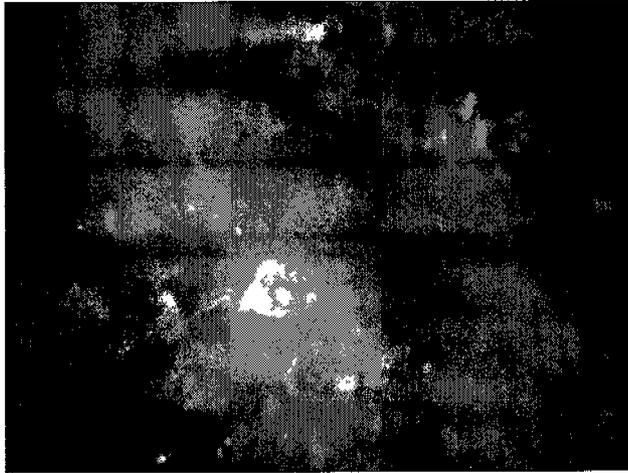


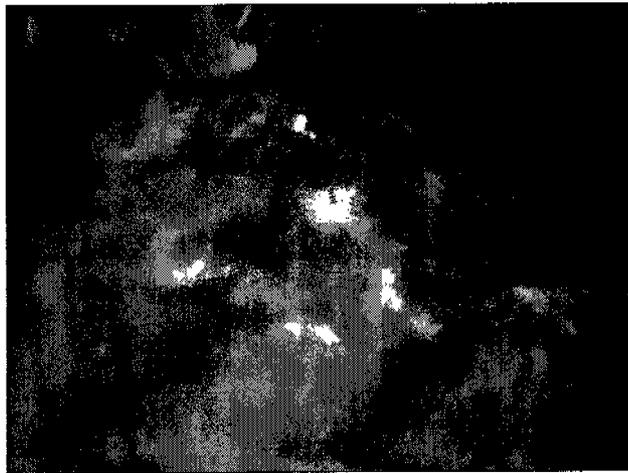
Foto a 18 días PO QFR sin datos patológicos



Fotos día 18 PO LASEK sin datos patológicos

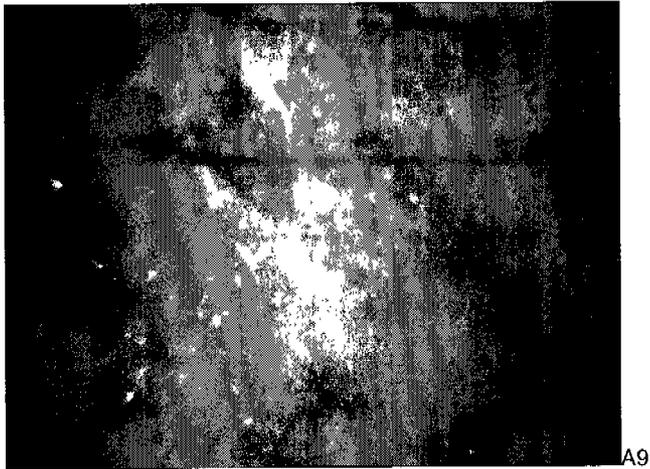


A8.

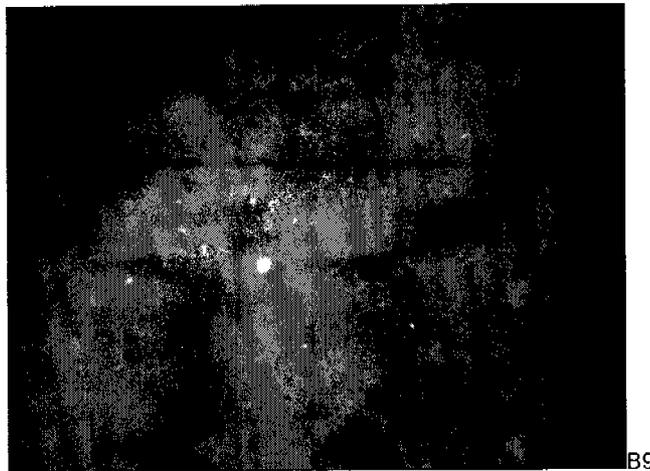


B8.

Foto de microscopio confocal a los 18 días PO QFR (A8) Se aprecia un epitelio mas organizado sin mucha proliferación con células de descamación. (B8) los únicos queratocitos activados son los que están pegados a la capa de células basales.



A9



B9

Fotos del día 18 LASEK (A9) Se observa una capa superficial ya con células de descamación de características normales (B9) la membrana basal persiste todavía con hipertrofia de células basales con algunos núcleos presentes, con más características de normalidad que en días anteriores.

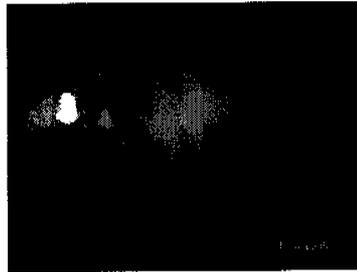
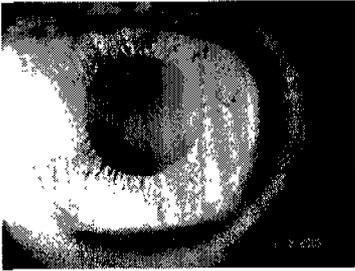


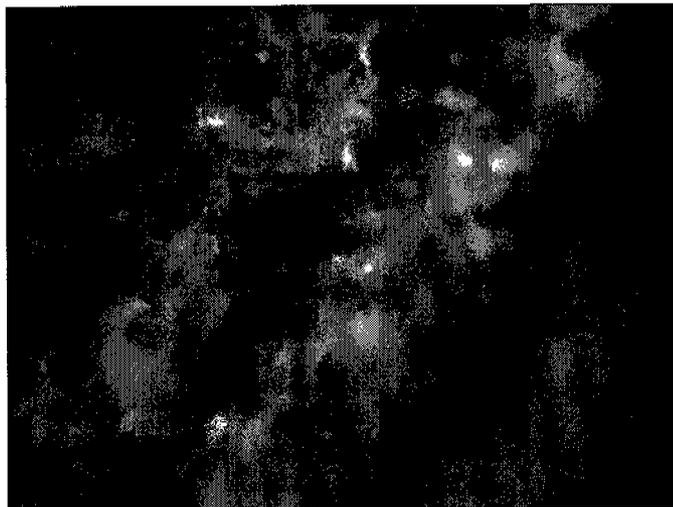
Foto a los 25 días PO QFR con características prácticamente normales.



Foto del día 25 PO LASEK sin datos patológicos

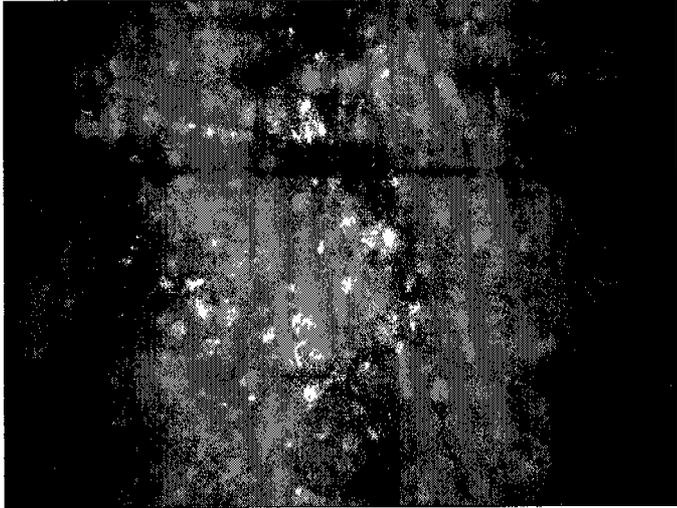


A10.

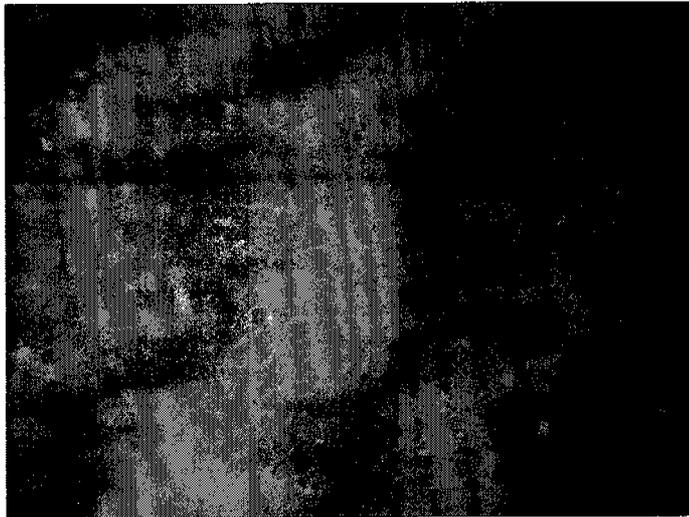


B10.

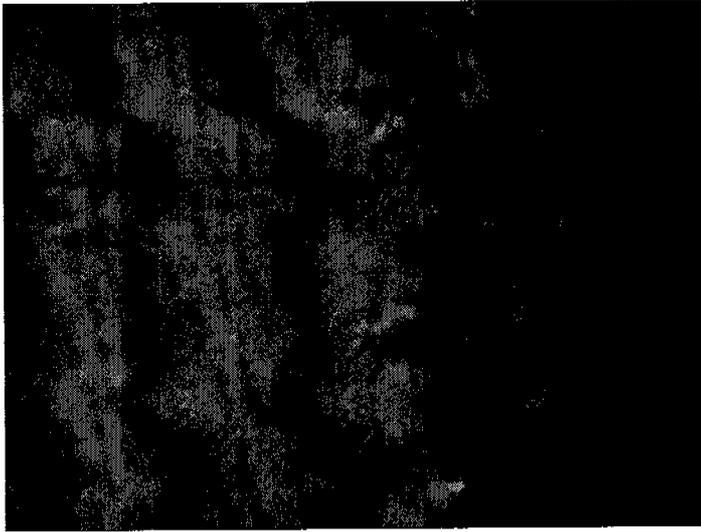
. Fotos de microscopio con focal a los 25 días PO QFR (A10) células basales ya regeneradas con epitelio de descamación. (B10) la activación de lo queratocitos solo se limita al estroma anterior



A11



B11



C11

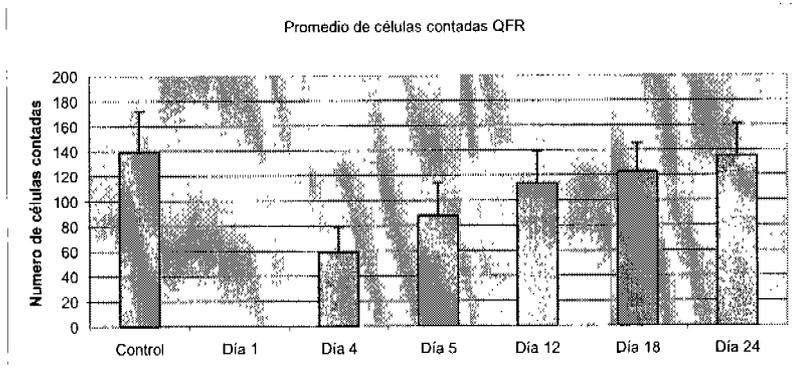
Fotos día 25 PO LASEK (A11) se observa una capa de células de descamación ya de características normales con bordes bien delimitados y núcleos claros, (B11) en el centro del flap la membrana basal se observa libre de núcleos con bordes ligeramente engrosados pero con una morfología ordenada, (C11) hacia la orilla de lo que fue el flap se observa una membrana basal ya de características normales

En los 12 ojos postoperados de LASEK se observaron las mismas características, el primer día se observaron imágenes celulares con reflectividad media, con células hipertróficas con núcleos visibles con bordes delimitados estos hallazgos son correspondientes a una hipertrofia del flap epitelial, al cuarto día reducción en tamaño celular con aumento de los espacios intercelulares, también se observó la aparición de células prebasales al igual que en QFR, a partir de entonces la membrana de células basales se formó de igual manera que en el grupo de QFR pero con 2 diferencias: hipertrofia y la presencia de núcleos en las células de la membrana basal en los pacientes operados con LASEK, observándose esto desde el día 12 al día 18. En LASEK se observaron los primeros indicios de normalidad de membrana basal al día 12, al igual que QFR, estos corresponden a la aparición de células pequeñas, con bordes hiperreflécticos, y centro hiporrefléctico, nucleadas en el caso de LASEK. Con solo 2 capas de células basales para el día 18, y para el día 24 se observaron 3 capas de estas células ya con mucha mayor claridad.

En cuanto al conteo celular en QFR se observó un aumento sostenido en el número de células basales hasta igualarse con el conteo basal al día 24, en LASEK el número de células fue mayor y más constante pero no igualo el control en el día 25.

Para el análisis estadístico del conteo celular de ambos grupos se realizó una prueba de "t" pareada para varianzas desiguales así como desviación estándar en ambos grupos. Estas pruebas se hicieron el día antes de la cirugía, a los días 1, 4, 5, 12 18 y 24, teniendo una $P < 0.05$ (con diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos) los días 5 ($P = 0.0008$), 12 ($P = 0.04$), 18 ($P = 0.0001$), y una $P > 0.05$ (con diferencia no

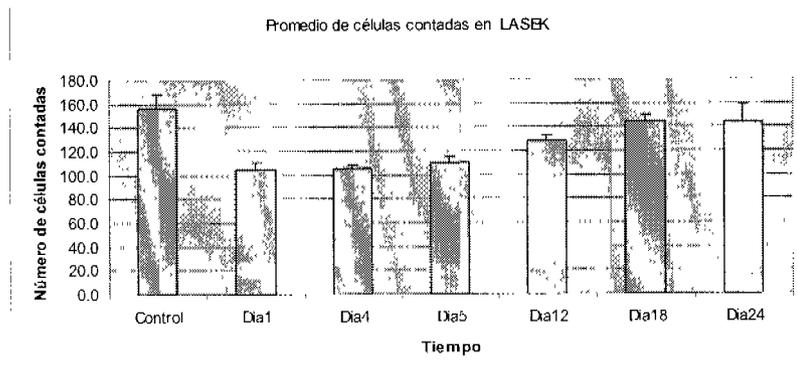
estadísticamente significativa entre ambos grupos) en el control ($P = 0.06$) los días 4 ($P = 1.8$), 25 ($P = 0.3$).



Grafica de conteo celular de QFR

| Conteo celular | Control | Día 1 | Día 4 | Día 5 | Día 12 | Día 18 | Día 24 |
|----------------|---------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
| QFR AO | 139.3 | 0 | 59.2 | 88.1 | 113.7 | 122.5 | 135.4 |
| Desv est | 32.7 | 0 | 20.3 | 26 | 25.7 | 23.3 | 25.6 |

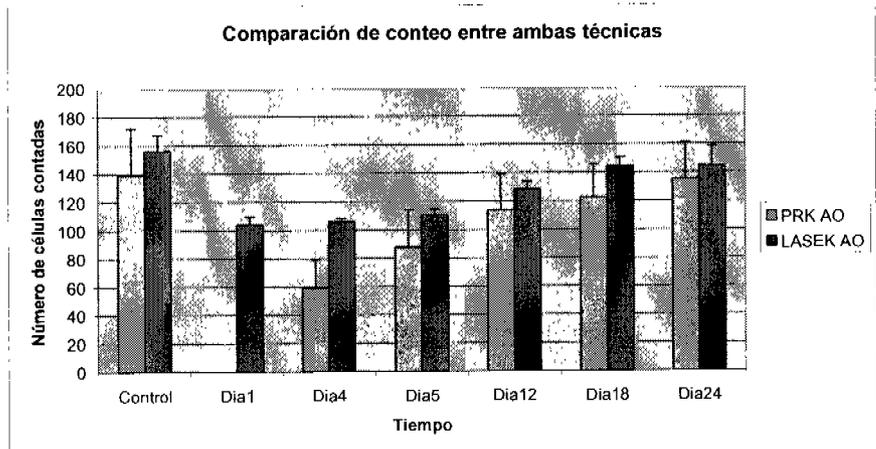
Promedio de conteo celular de QFR



Grafica de conteo celular de LASEK

| Conteo celular | Control | Día 1 | Día 4 | Día 5 | Día 12 | Día 18 | Día 25 |
|----------------|---------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
| LASEK AO | 156.2 | 104.4 | 106.1 | 110.9 | 128.3 | 144.4 | 144.3 |
| desv est | 11.4 | 5.4 | 2.4 | 3.7 | 5.4 | 6.1 | 14.4 |

Comparación de conteo celular entre ambas técnicas



Comparación de ambas técnicas en el conteo celular

| Comparacion AO | Control | Dia1 | Dia4 | Dia5 | Dia12 | Dia18 | Dia24 |
|----------------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| QFR AO | 139.3 | 0 | 59.2 | 88.1 | 113.7 | 122.5 | 135.4 |
| LASEK AO | 156.2 | 104.4 | 106.1 | 110.9 | 128.3 | 144.4 | 144.3 |

Promedio de comparación de conteo celular AO

DISCUSIÓN

Es importante entender el comportamiento del alcohol sobre el epitelio corneal, para lo cual se han realizado estudios en modelos animales (gallina white leghor), en el cual después de aplicar alcohol al 20% sobre el epitelio corneal y evaluarlas con microscopia electrónica de transmisión (TEM) y tinción de TUNEL se reporto evidencia de disrupción de la lamina densa y efectos deletéreos a los 45 segundos de exposición y discontinuidad de la membrana basal, gránulos densos en la lamina basal así como daño epitelial generalizado y desaparición evidente de las microvellosidades. La exposición prolongada a alcohol al 20% puede resquebrajar las fibras de anclaje y la lamina densa, lo que implicaría que la separación de planos podría ser entre el epitelio y la membrana basal esto último en modelos animales¹. Se ha observado que en ojos humanos que el plano de acción del alcohol es entre la lámina densa y la capa de Bowman este hallazgo sugiere que la acción del alcohol usado durante LASEK es sobre las fibras de anclaje entre la capa de Bowman y la membrana basal del epitelio corneal³. En otros estudios en ojos humanos se ha observado que la separación en este plano no es constante y esta puede ocurrir entre el epitelio y la membrana basal o entre la membrana basal y capa de Bowman⁴⁻⁵. La adherencia de la membrana basal a la capa basal del epitelio es de significancia debido a que se cree que la membrana basal provee la estabilidad y soporte que mantiene al epitelio intacto a pesar de la manipulación, por lo tanto preservando la integridad y la viabilidad de todo el epitelio corneal⁴. Los hallazgos con microscopia electrónica y tinción de TUNEL sugieren que la capa basal epitelial probablemente sea la capa más frágil del epitelio y la que tiene más probabilidades de dañarse durante la creación del flap epitelial. El

epitelio corneal del flap actúa como barrera mecánica evitando la acción de citocinas producidas por este como ligando Fas e IL1 evitando así la pérdida de queratocitos y la apoptosis del estroma superficial, disminuye la formación de cicatrices en estroma (en comparación con QFR), reduce el reflejo corneolagrimal disminuyendo por lo tanto la entrada de lágrima y evitando el contacto de citocinas con el estroma, además de esta función de barrera el epitelio puede ser una fuente de moléculas activas que protegen a los queratocitos o quizás sirva como un sitio neutralizador para factores que podrían disparar la muerte de queratocitos¹. Estos beneficios serán mayores entre mas células viables existan en el flap⁵. Se ha reportado reducción significativa de células viables cuando la concentración del alcohol fue mayor del 25% y cuando la aplicación del alcohol al 20% excedió los 35 segundos¹.

Se ha observado en corneas de conejo que después de 30 segundos de aplicación de alcohol, las microvellosidades están disminuidas y además de encontrar rupturas focales en las uniones intercelulares con microscopia de escaneo de electrones (SEM). Con TEM las microvellosidades apenas fueron visibles y una o dos capas del epitelio corneal mostraron edema de tono filamentos desorganizados y organelos distorsionados. A los días 1 y 3 con SEM, las microvellosidades mostraron daño morfológico, así como zonas de membrana basal expuesta, Con TEM se observaron remanentes de células dañadas incluyendo fragmentos de membrana basal debajo de la superficie del epitelio. Al día 5 hubo numerosas células en descamación y las células pequeñas tuvieron microvellosidades cortas con SEM. Con TEM se observó un epitelio corneal plano sin microvellosidades.

Con un minuto de exposición se observó con SEM daño mas profundo en las microvellosidades y desprendimiento celular en algunas zonas. Con reepitelización lenta a los 5 días, al día 5 el epitelio tuvo una apariencia normal

pero el daño a las microvellosidades y las fracturas focales de las uniones intercelulares podían seguirse observándose con alta magnificación. Dos minutos de exposición al alcohol causaron daño profundo e irreversible durante los 5 días de observación. Con SEM el epitelio estaba tan severamente deformado que la configuración celular apenas era distinguible, las microvellosidades no fueron reconocibles con una marcada disrupción de las uniones intercelulares.⁶

Se ha observado erosión epitelial punteada difusa e irregularidades de superficie durante el periodo postoperatorio temprano en pacientes con LASEK, parece ser relacionado al efecto tóxico del etanol en las células superficiales y probablemente relacionado al proceso de curación de herida epitelial anormal desde células basales dañadas por disrupción de fibras de anclaje. Estas prolongadas anomalías epiteliales son diferentes del patrón de curación epitelial en QFR, ya que en este el epitelio desnudo es cerrado dentro de 4 a 6 días, y no son vistas erosiones superficiales epiteliales posteriormente. Se ha reportado que después de QFR, las fibras de anclaje y lámina basal no se normalizan completamente hasta después de 15 meses en corneas humanas. En corneas humanas tratadas por LASEK es desconocido como y cuando el epitelio basal restaura su actividad funcional e integridad estructural⁷. En corneas humanas tratadas con LASEK, se desconoce como y cuando el epitelio basal restaura su actividad funcional y su integridad⁷.

Por otra parte, cuando se da atención a la biología del proceso de curación de herida, usualmente consiste en evaluaciones clínicas por microscopía confocal o en estudios histopatológicos de la curación de herida corneal en animales, y por lo general se enfocan en observar el comportamiento biológico del estroma corneal y no del epitelial, después de procedimientos refractivos⁸.

Se encontraron solo 3 tipos de procesos de curación de herida constantes, en hallazgos histopatológicos con periodo de seguimiento largo y en estudio por microscopia confocal previo, de los cuales solo nos interesan los 2 primeros tipos, ya que incluyen al epitelio y el tercer tipo solo al estroma.

El primero consiste en una modificación posquirúrgica epitelial que resultó en cambios de elongación de hipertrofia de las células de la capa basal del epitelio o hiperplasia del epitelio sobre la superficie de la córnea que fue afectada por la cirugía refractiva. Con microscopia confocal solo se registraron estos cambios utilizando mediciones del grosor del epitelio corneal registrándose un aumento de éste. En estudios con microscopias de luz, y TEM en corneas post LASIK se encontró hiperplasia focal leve (<80 micras) únicamente sobre los márgenes del flap, mientras que áreas de hipertrofia focal de células basales estuvieron siempre presentes en la superficie del flap en los valles producidos por las ondulaciones de la capa de Bowman subyacente y a nivel de los márgenes de la herida del flap donde llenaron las aberturas producidas por la aproximación incompleta de la rupturas de la capsula de Bowman. En córneas operadas con QFR se encontraron áreas de hipertrofia focal de células basales e hiperplasia epitelial siempre presentes en sobre la zona tratada con eximer láser, más frecuentemente en valles creados por una gruesa cicatriz estromal.

La segunda forma de curación resultó en la producción de una cicatriz fibrótica hiper celular estromal de localización anterior adyacente a la superficie del epitelio. Clínicamente se observa como un área grisácea, se desarrolla en el tejido subepitelial. En corneas operadas de QFR se presentó un patrón en forma de red de *haze* subepitelial sobre las porciones centrales de la córnea⁹.

Estudios realizados con microscopía confocal y evaluaciones histopatológicas, durante el periodo inmediato posterior a la cirugía refractiva y 6 meses después, demostraron que la cirugía por LASIK resulta en daño epitelial y estromal corneal que es inmediatamente seguida de apoptosis de queratocitos alrededor de la incisión lamelar. Esto es seguido por infiltración transitoria de células inflamatorias agudas y crónicas, proliferación y migración de las células epiteliales y queratocitos sobrevivientes; reformación de complejos de unión de células epiteliales y finalmente diferenciación de queratocitos en su forma activada o en células tipo miofibroblastos que llevan a cabo síntesis, depósito y degradación de productos de curación y contracción de herida estromal. Aunque en este estudio son pocas las corneas evaluadas a las que se les realizó el procedimiento de QFR, los hallazgos patológicos en éstas córneas son consistentes con los hallazgos en los casos de LASIK, lo que sugiere que existen respuestas de curación de herida similares después de las diferentes técnicas quirúrgicas¹⁰⁻¹¹.

En la literatura se ha observado que el tiempo promedio normal de reepitelización fue 3.47 ± 1.19 días con QFR y 3.10 ± 0.88 días con LASEK con una remoción de epitelio de 38.5 ± 2.28 mm² con QFR y 56.8 ± 3.45 mm² con LASEK, con un rango de epitelización/día de 12.3 ± 4.6 mm²/día con QFR y 18.2 ± 5.2 mm²/día con LASEK, teniendo este último el que tiene un rango de reepilezación mas rápido tomando en cuenta el área de remoción de cada técnica¹². En comparación en este estudio se encontró una velocidad de reepitelización menor en comparación con lo antes mencionado, quizá por que los autores se refieren al tiempo que tardan las células basales epiteliales en cubrir el defecto quirúrgico además de que el uso de esteroide seguramente aumentó el tiempo de reepitelización. Aparentemente la cirugía con LASEK

tiene más ventajas debido a que tiene mayores posibilidades de una reepitelización mas rápida siempre y cuando exista un ambiente favorable para la regeneración epitelial, como una cama suave de células estromales, un flap epitelial protector y menos inflamación¹⁰. En contraste con la remoción epitelial con alcohol, la remoción mecánica epitelial (QFR) puede causar una cama rugosa estromal que puede estorbar la repitelización. Con esta técnica se han notado defectos en capa de Bowman, irregularidades en el estroma anterior e islas retenidas de epitelio¹³⁻¹⁴.

Se ha reportado un área en el primer día posquirúrgico de LASEK de 1.0 mm² en comparación con QFR que es de 16.0 mm² para el tercer día después de la cirugía la media de área de desepitelización fue de 4.0 mm² en LASEK y de 0.0 mm² en QFR, este incremento de 1.0 a 4.0 mm² se le ha denominado como fenómeno degradación epitelial temprana posquirúrgica de LASEK. Lo observado en este estudio en cuanto al tiempo de reepitelización fue similar a lo reportado, de 1.5mm diarios, en promedio siendo estos no constantes, teniendo un aumento de la velocidad después del 4to día PO esto se puede deber a que después del 4to día PO ya se observa una capa de células sobre el estroma anterior sobre las cuales es mas fácil que migren las células basales epiteliales acelerando el proceso de reepitelización a partir del 4to día. Es posible que los flaps epiteliales expuestos a alcohol durante la cirugía de LASEK pierdan su integridad celular por lo tanto son incapaces de adherirse y recuperarse de la misma manera que las células nuevas del QFR. Sin embargo no se reportan diferencias en el tiempo de repitelización de ambas técnicas¹⁵.

No se ha encontrado diferencia estadísticamente significativa entre las densidades de células basales de corneas normales y corneas post operadas de QFR y corneas normales y corneas postoperadas de LASEK¹⁶.

Madhavan et al reporto en córneas humanas in vitro una repitelización en QFR de 92 horas (3.8 días) con ± 10 horas y en LASEK un cierre epitelial de 120 ± 10 horas (5 días), en su estudio demuestra migración celular desde la periferia corneal hacia el centro ya sea llenando el defecto en QFR y en LASEK la células comienzan a migrar por abajo del flap, mediante cortes histológicos¹⁷, en el presente estudio nosotros clínicamente en QFR encontramos un cierre clínico a los 7 días en LASEK es difícil de valorar ya que los pacientes usaron lentes de contacto hasta el día 5 y fueron retirados por que el flap epitelial se podía perder. En cuanto a la microscopia tuvimos resultados similares en cuanto a la desaparición del defecto en QFR sin embargo en LASEK pese a que el defecto siempre estuvo cerrado en mayor o menor medida es difícil de hablar de cierre pero para el día 5 encontramos que todas células del flap habían desaparecido y fueron sustituidas por células prebasales.

En la literatura médica no encontré trabajos similares comprando ambas técnicas y pocos trabajos que hablen de microscopia confocal en estas técnicas por separado, los cuales no son descriptivos.

Es el primer trabajo que habla de un conteo celular de membrana basal en cuanto a QFR el aumento se ve sostenido los primeros días con un promedio de 25 cel. X 0.0192mm^2 . del día 4 al día 5 y fue disminuyendo a 8 cel. X 0.0192mm^2 a partir del día 12 los que nos habla de una proliferación rápida para después madurar formar uniones entre células, para el día 25 ya igualaron al control en cantidad sin poder comprobar que la calidad sea la misma. En LASEK el conteo fue mucho mas constante y mayor que QFR pese a que fueron menos pacientes lo único que cambio fueron las características celulares y el tamaño, sin embargo los conteos no llegaron a igualar el control, pero al día 25 no hubo diferencias estadísticamente significativas, lo que nos habla más de movimiento celular que de

multiplicación. La hipertrofia en LASEK el primer día puede ser explicada debido al uso de alcohol al hacer el flap posteriormente la hipertrofia de la membrana basal podría estar dada por el menor grado de multiplicación celular por lo que las células deben de compensar el espacio, además al haber mas células es posible que el estímulo para multiplicación celular este disminuido, lo cual a su vez podría ayudar a explicar porque en LASEK hay menos HAZE que en QFR. En este trabajo se necesita mayor seguimiento de los pacientes, así como seguimiento diario y no separado por tantos días para poder dar más validez a las conclusiones, se hizo de esa manera para que los pacientes pudieran acudir a las citas para toma de microscopias, además se necesitan más estudios, que sean de mayor tiempo de seguimiento para descartar o afirmar estas hipótesis.

CONCLUSIÓN

El epitelio corneal operado de QFR y LASEK a los 25 días solamente comienza a parecerse al epitelio de control, sin embargo éste todavía no es un epitelio de características normales.

El patrón de epitelización es diferente entre ambas técnicas pero en ambos casos se observan tiempos similares de repitelización así como un mayor numero de células en los pacientes posoperados de LASEK, en comparación con los pacientes posoperados de QFR. En ambos casos la córnea se mantiene transparente a pesar de que al mismo tiempo existe gran actividad epitelial debido a la regeneración de éste.

REFERENCIAS

- 1) Lee JB, Javier JA, Chang JH, Chen CC, Kato T, Azar DT. Confocal and electron microscopic studies of laser subepithelial keratomileusis (LASEK) in the white leghorn chick eye. *Arch Ophthalmol*. 2002 Dec;120(12):1700-6.
- 2) Yanoff M, Duker SJ: Eximer Laser Photorefractive Keratectomy. En: *Ophthalmology*, Ed Mosby St. Louis MO. Second Edition 2004: 148-163.
- 3) Gabler B, Von Mohrenfels W, Lohmann CP. LASEK: A histological study to investigate the vitality of corneal epithelial cells after alcohol exposure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001; 42 (suppl):S560
- 4) Azar DT, Ang RT, Lee JB, et al. Laser subepithelial keratomileusis : electron microscopy and visual outcomes of flap photorefractive keratectomy. *Curr Opin Ophthalmol*. 2001; 12: 323-328.
- 5) Chen CC, Chang Jin-Hong, Lee JB, Javier J, Azar DT. Human corneal epithelial cell viability and morphology after dilute alcohol exposure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002; 43: 2593- 2602.
- 6) So YK, Woo JS, Young WL, et al. Twenty percent alcohol toxicity on rabbit corneal epithelial cells. *Cornea* 2002; 21 (4) 388-392
- 7) Fountain TR, de la Cruz Z, Green WR, et al. Reassembly of corneal epithelial adhesion structures after eximer laser keratectomy in humans. *Arch Ophthalmol* 1994; 112: 967-972.
- 8) Dawson DG, Edelhauser HF, Grossniklaus HE. Long-term histopathologic findings in human corneal wounds after refractive surgical procedures. *Am J Ophthalmol*. 2005 Jan;139(1):168-78.
- 9) Vesaluoma M, Perez-Santola J, Petroll WM, et al. Corneal stromal changes induced by miopic LASIK . *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000; 41: 369-376
- 10) Dillon EC, Eagle RC, Laibson PR. Compensatory epithelial hyperplasia in human corneal disease . *Ophthalmic Surg*. 1992; 23: 729-732.
- 11) Lee HK, Lee KS, Kim JK et al. Epithelial Healing and Clinical Outcomes on Excimer Laser Photorefractive Surgery Following Three Epithelial Removal Techniques: Mechanical, Alcohol and Excimer laser. . *Am J Ophthalmol*. 2005 139 (1): 56-63.
- 12) Shah S, Sarhan ARS, Doyle SJ, et al. The epithelial flap for photorefractive keratectomy. *Bj Ophthalmol*. 2001; 85: 393-396.
- 13) Al-Abdulla NA, Jabbur NS, O'Brien TP. Astigmatism outcomes following spherical photorefractive ketatectomy for myopia. *J Refractive Surg*. 1998; 14: 610-614.
- 14) Campos M, Hertzog L, Wang XW, et al. Corneal surface after deepithelization using a sharp and dull instrument. *Ophthalmic Surg*. 1992; 23: 618-621.
- 15) Pirouzian, A, Thornton JA, et al. A Randomized Prospective Clinical Trial Comparing Laser Subepithelial Keratomielusis and Photorefractive Keratectomy. *Arch Ophthalmol*. 2004 122 (1) Jan . 11-16
- 16) Harrison DA, Joss CB, Ambrosio RJ, et al. Morphology of corneal Basal epithelial cells by in vivo Stilt-scanning confocal microscopy. *Cornea*. Abril 2003 22(3): 246-248.
- 17) Rajan MS, Watters W, Patmore A, Marshall J. In vitro human corneal model to investigate stromal epithelial interactions following refractive

surgery.

J Cataract Refract Surg. 2005 Sep;31(9):1789-801

- 18) Jalbert, F Stapleton, E Papas, D F Sweeney and M Coroneo. In vivo confocal microscopy of the human cornea. *Br. J. Ophthalmol.* 2003;87;225-236