

Cicatrización estromal y reinervación corneal por microscopia confocal en LASIK posterior a queratotomía radial de 15 años de evolución

Stromal scaring and corneal re-inervation by using confocal microscopy in Lasik after radial postkeratotomy of 15 years of evolution

Dra. María del Carmen Benítez Merino,^I Dra. Yanet González Sotero,^{II} Dr. Armando Capote Cabrera,^I Dra. Taimí Cárdenas Díaz,^I Dr. Justo Noriega Martínez^I

^I Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". La Habana, Cuba.

^{II} Centro Oftalmológico Pinar del Río. Pinar del Río, Cuba.

RESUMEN

Objetivo: Describir las alteraciones morfológicas de la cicatrización estromal y la reinervación por microscopia confocal en pacientes operados de LASIK posterior a queratotomía radial de 15 años de evolución.

Métodos: Se realizó un estudio observacional, descriptivo y longitudinal prospectivo, en 25 pacientes (50 córneas) operados de queratotomía radial no complicados y reintervenidos con LASIK. Se estudiaron las características de la cicatrización estromal y la regeneración de fibras nerviosas corneales mediante microscopia confocal de la córnea con Confoscan S4. Se emplearon medidas de resumen de estadística descriptiva.

Resultados: La cicatrización estromal se limitó al borde del colgajo. Hubo un aumento de la actividad queratocitaria en el lecho estromal en las primeras semanas del postoperatorio y disminución de la densidad queratocitaria por apoptosis observada hasta el año de evolución. En el preoperatorio de LASIK el número de plexos nerviosos se encontraban normales en más del 80 % de las córneas. En los primeros tres meses posoperatorios existió ausencia de reinervación, su recuperación comenzó entre el sexto y octavo mes, con evidente alteración de la morfología y cantidad de plexos nerviosos por campo de microscopia confocal al año.

Conclusiones: Las características de la cicatrización estromal estudiadas evolucionaron de manera similar a lo descrito en pacientes que no presentaban dicha queratotomía radial como antecedente. La regeneración nerviosa comenzó a partir de los seis meses con la aparición de los nodos nerviosos y un aumento progresivo de la sensibilidad corneal.

Palabras clave: Cicatrización, reinervación, LASIK, microscopia confocal.

ABSTRACT

Objective: To describe the morphological alterations in the stromal scaring and re-inervation by using confocal microscopy in patients operated on with LASIK after radial postkeratotomy of 15 years old evolution.

Methods: A prospective, longitudinal, observational and descriptive study was conducted in 25 patients (50 corneas) operated on by radial keratotomy, with no further complications and re-operated on with Laser in Situ keratomileusis (SHWIND Esiris). The characteristics of the corneal structures and the regeneration of corneal nervous fibers were studied by means of confocal microscopy with Confoscan S4. Summary measures were used.

Results: The stromal scaring was limited on the edge of the flap; there was an increase of the keratocyte activity in the stromal channel during the first weeks of the postoperative period and a decrease of the keratocyte density caused by apoptosis observed up to one year of evolution. Before Lasik, the number of nervous plexuses was normal in more than 80% of the corneas with incisional corneal surgery. In the first 3 postoperative months there was no nervous regeneration; but this process began between 6th and 8th months, with evident alteration of the morphology and quantity of nervous plexuses per field of confocal microscopy a year after surgery.

Conclusion: The evolution of the microscopic characteristics of the cornea, which were studied with microscopy confocal in patients operated on by Lasik after radial keratotomy, was similar to that described in patients who had not undergone this type of surgery. The nervous regeneration began after 6 months when nervous nodes and progressive increase of corneal sensitivity occurred.

Key words: Scaring, reinervation, LASIK, confocal microscopy.

INTRODUCCIÓN

La queratotomía incisional para la corrección de errores refractivos es una de las técnicas más antiguas, en esta son realizadas incisiones radiales desde la periferia de la córnea en dirección a la región paracentral o en sentido inverso, manteniéndose libre de incisiones la zona óptica. Tras varios años de empleo, se constató que la corrección era imprecisa y tuvo como una de las complicaciones ópticas más comunes la hipercorrección progresiva, también la hipocorrección, acompañada de astigmatismo regular e irregular.

Para la corrección de estos defectos residuales se han utilizado lentes de contacto y cirugía refractiva. La respuesta cicatrizal a estos procedimientos refractivos con láser de excímeros es de extrema importancia, porque representa un factor determinante para su seguridad y eficacia, y esta es susceptible de ser estudiada mediante microscopia confocal.¹

En esta técnica es importante estudiar los procesos cicatrizales y reparadores porque se forma una nueva arquitectura, al crear una lamela de tejido corneal donde se incluye el epitelio y parte del estroma anterior, y al hacer la ablación a partir de una determinada profundidad dentro del estroma.² Así, con la microscopia confocal se puede observar y cuantificar en vivo, en cualquier momento del posoperatorio, las características histológicas corneales.

En propósito de este estudio es describir las características morfológicas de la cicatrización estromal y regeneración de las fibras nerviosas corneales en pacientes sometidos a LASIK posterior a queratotomía radial de 15 años de evolución.

MÉTODOS

Se realizó un estudio longitudinal, prospectivo, observacional y descriptivo en el que participaron 25 pacientes (50 córneas) operados de queratotomía radial no complicados, de 15-20 años de evolución, reintervenidos con LASIK (SHWIND Esiris) para corregir errores refractivos residuales comprendidos en el rango de 2,00 a 6,00 dioptrías. Se realizó un colgajo planeado de 150 µm de espesor (microquerátomo automático pendular) y un lecho estromal mayor de 250 µm de espesor. Se contó con la aprobación de los pacientes previo consentimiento informado de la investigación.

A los pacientes seleccionados se les realizó exploración oftalmológica completa. Se estudiaron las características de las poblaciones celulares mediante microscopia confocal de la córnea con Confoscan S4 (NIDEK) de cuarta generación, plataforma Linux y software NAVIS. El cálculo se realizó midiendo la distancia entre las imágenes. Las córneas fueron examinadas antes del LASIK, a la semana, 1 mes, 3 meses, 6 meses y 12 meses del posoperatorio. Cualitativamente describimos las características morfológicas de la cicatrización estromal y la regeneración de fibras nerviosas en estos pacientes.

Para el procesamiento de la información, se creó una base de datos automatizada con Excel 2007. Para las variables cualitativas se emplearon frecuencias absolutas y relativas expresadas en porcentajes y para las variables cuantitativas se determinaron los promedios y desviaciones estándar. Los datos fueron procesados por medio del paquete estadístico SPSS-PC versión 11.5. Además se realizó el procesamiento de datos con prueba t de Student para datos pareados y prueba chi cuadrado de *Persson*.

RESULTADOS

En los cortes radiales preoperatorios se observó el estroma anterior medio con alta reflectividad, queratocitos normales que rodeaban el corte y queratocitos activados en una matriz moderadamente reflectiva (Fig. 1 A). En el posoperatorio se presentaron micropliegues adyacentes a la interfase con pérdida de la transparencia del estroma y queratocitos normales rodeando la cicatriz (Fig. 1 B). En el estroma central hubo un

aumento de la actividad queratocitaria en el lecho estromal en los primeros 7 días tras el LASIK (Fig. 1 C), entre los 2 y 6 meses siguientes la densidad queratocitaria en el lecho estromal (dentro del colgajo) fue menor que en la córnea preoperatoria en el 40 % de los casos (Fig. 1 D). Se observaron fibroblastos fusiformes que se organizaron circunferencialmente en una matriz de alta reflectividad entre 1 y 2 semanas tras el LASIK; la única región donde se observó alguna reacción fibroblástica fue en el borde de la herida quirúrgica, inmediatamente contigua al tapón epitelial.

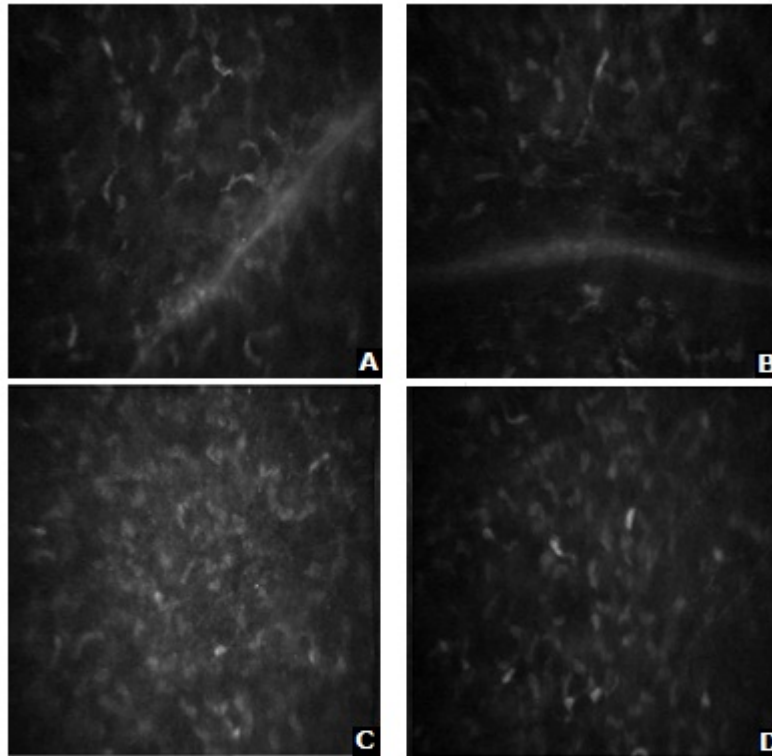


Fig. 1. A: Corte radial preoperatorio con alta reflectividad rodeado de queratocitos normales y queratocitos activados en una matriz moderadamente reflectiva. B: LASIK posterior a queratotomía radial, pérdida de la transparencia del estroma alrededor de micropliegue hiperreflectivo rodeado de queratocitos normales. C: LASIK posterior a queratotomía radial, actividad queratocitaria en el lecho estromal en los primeros siete días del posoperatorio. D: LASIK posterior a queratotomía radial, disminución de la densidad queratocitaria entre los dos y seis meses.

La migración celular hacia el borde del colgajo fue similar a lo observado en las incisiones radiales. Inicialmente las células presentaron una distribución aleatoria, con el tiempo se transformaron en células fusiformes, se alinearon y compactaron; esto sugiere el fenómeno de contracción de la herida (Fig. 2). Estos cambios en el estroma anterior y en la zona contigua a la interfase, contrastan con la población queratocitaria más posterior donde no se aprecia alteración alguna.

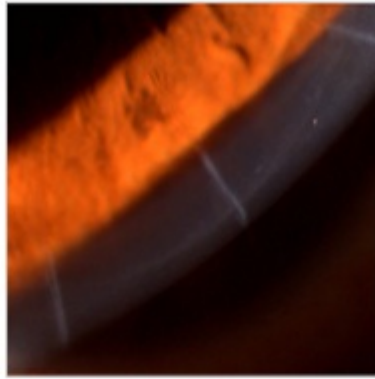


Fig. 2. LASIK posterior a queratotomía radial. La migración celular hacia el borde del colgajo es similar a lo observado en las incisiones radiales.

En el preoperatorio, al analizar el número de plexos nerviosos por campo de microscopia confocal, el 90 % de los pacientes con queratotomía radial de 15 años de evolución presentaron entre 6 o más nodos nerviosos. Estos fueron parámetros normales (Fig. 3).

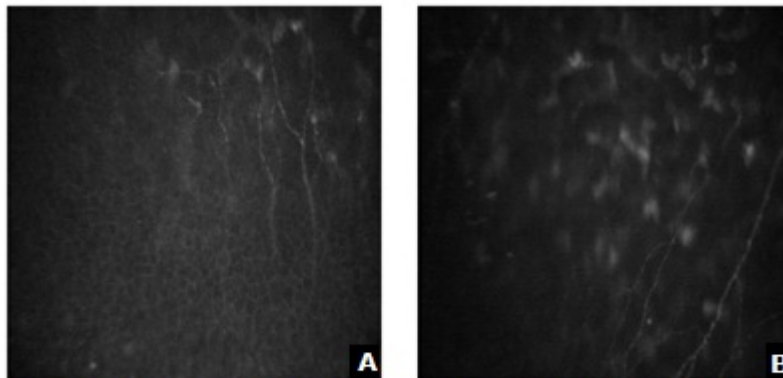


Fig. 3. A y B: Queratotomía radial preoperatorio. Se observan las fibras nerviosas subepiteliales y estromales con morfología y número normal. Distribución paralela en forma de Y.

En los primeros 3 meses posoperatorios hubo ausencia de reinervación en el 100 % de los pacientes con alteración de la sensibilidad corneal. Comenzó su recuperación entre el sexto y octavo mes, con evidente alteración de la morfología y cantidad de plexos nerviosos por campo de microscopia confocal al año tras el LASIK. Este dato fue altamente significativo ($p= 0,000$) (Fig. 4).

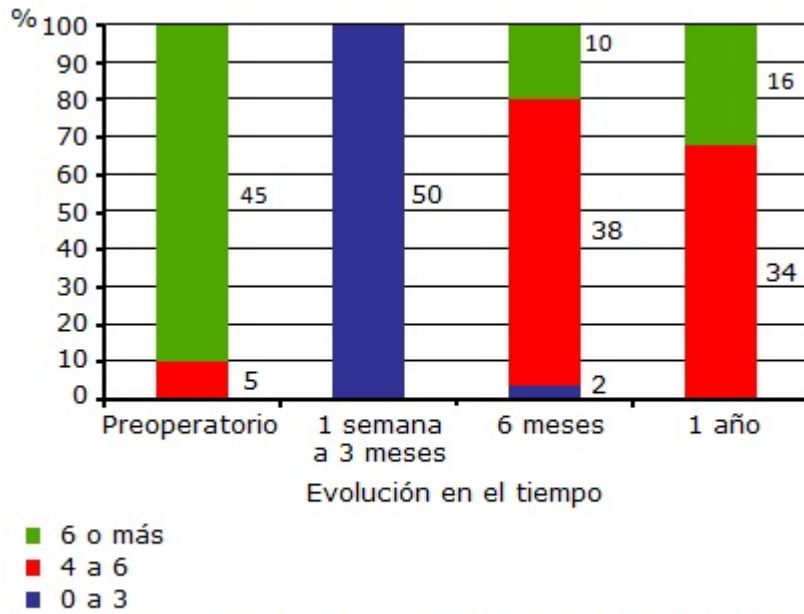


Fig. 4. Número de plexos nerviosos por campo de microscopía confocal.

Las alteraciones morfológicas se describen como no disposición paralela ni oblicua de las fibras nerviosas. Esto dificulta la contabilidad de los nodos nerviosos por campo de microscopía confocal. Se observó disminución del brillo de las fibras nerviosas, así como alteración de sus bifurcaciones. Se pudo describir una distribución en forma de remolinos o torbellinos (Fig. 5). Hubo una recuperación paulatina de la sensibilidad corneal.

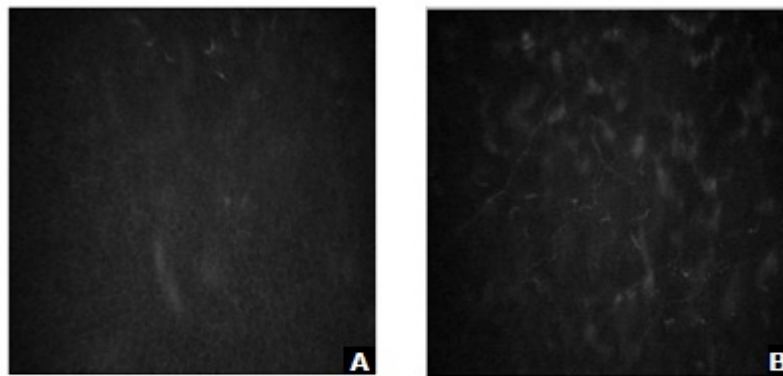


Fig. 5. LASIK posterior a queratotomía radial. A: Ausencia de fibras nerviosas subepiteliales a los tres meses tras el LASIK. B: Regeneración nerviosa con alteraciones morfológicas, observe la distribución en forma de torbellino al año después del LASIK.

DISCUSIÓN

Datos clínicos y anatomopatológicos indican con firmeza que prácticamente no se produce cicatriz estromal tras el LASIK.² La disminución en la densidad de la población queratocitaria se piensa sea debido a un proceso de apoptosis o de necrosis relacionada con la acumulación de células inflamatorias y a la pérdida de

comunicación entre los queratocitos anteriores y las terminaciones nerviosas seccionadas.²

La formación de tejido fibrótico limitado solamente al borde de la herida quirúrgica y no a la córnea central, es un fenómeno que favorece a estas córneas ya tratadas anteriormente con incisiones radiales. El proceso de contracción de la herida quirúrgica que ocurre después del corte del microquerátomo, observado en las imágenes evolutivas del microscopio confocal, explica que la banda circunferencial que corresponde al borde del colgajo de color blanquecino en los primeros tiempos tras el LASIK sufre cambios característicos de anchura, textura y reflectividad.

Mitooka y otros han contado manualmente esta población queratocitaria con el microscopio confocal al año de la intervención y refieren que la densidad celular existente en la zona justamente anterior y posterior al *flap*, y en la zona del estroma más anterior, permanecen disminuidas más allá de los doce meses sin experimentar recuperación alguna; sino al contrario, un progresivo descenso a lo largo del tiempo. Este descenso que ha sido confirmado por *Erie* y otros³ continúa más allá de los tres años.¹ *Moilanen* y otros en su estudio determinaron que la densidad queratocitaria en el estroma anterior disminuyó a los 3 meses y continuó decreciendo por más de 2 años, mientras que no se observaron cambios en los queratocitos del estroma medio ni posterior.⁴

Erie y otros en su serie prospectiva de LASIK reportaron una disminución de la densidad queratocitaria más rápida, 1 mes tras el LASIK. La razón de esta discrepancia se desconoce, pero puede estar relacionado con la diferencia en cuanto al método de realizar los cálculos, análisis de datos y tratamiento refractivo. Se observó que la densidad queratocitaria en el estroma pre-interfase no varió durante el seguimiento de 2 años; sin embargo, se observó una disminución significativa en el estroma post-interfase a partir de los 3 meses.³

La razón por la cual la densidad queratocitaria decrece en el *flap* tras el LASIK es desconocida. Este estudio y otros proponen que estos hallazgos pueden estar relacionados con la denervación del *flap* corneal que lleva a una pérdida de la influencia neurotrófica en los queratocitos. Si esta fuese la razón, entonces se esperaría que la disminución en la densidad celular se manifestara relativamente rápido, en semanas, más que tras varios meses en que los nervios están regenerándose.

Alternativamente, los queratocitos pueden sufrir apoptosis debido a la activación de la vía apoptótica. Sin embargo, esta última hipótesis no se soporta por al menos 2 observaciones independientes. Primero, tras el corte del LASIK se observa apoptosis de la mayor parte de los queratocitos contiguos a esa zona, esta muerte por apoptosis es rápidamente controlada y disminuye. Segundo, los queratocitos dañados necesitan una señal específica para que la apoptosis se manifieste en un periodo largo, porque esta es una reacción de "todo o nada". Es discutible que la señal sea provocada meses después de realizada la herida cuando la mayor parte de la córnea ya está en fase de cicatrización. Sin embargo, los queratocitos anteriores han sido sujeto de excesivo estrés por el procedimiento del excímer láser y se envejecen prematuramente. En concordancia, la habilidad de los queratocitos de protegerse ante eventos nocivos (como la radiación ultravioleta) disminuye tras el procedimiento con el excímer láser, esto hace que esas células sean más propensas a sufrir daño permanente y por tanto mueren. La significación clínica de la gradual pérdida de queratocitos es desconocida, la cual pudiera ser que es necesaria una densidad crítica de queratocitos para mantener la fortaleza y transparencia corneal. Al menos en este y otros estudios previos, este límite no fue excedido y las córneas se mantienen transparentes.

Dawson y otros mostraron que varios meses (mayor o igual a 6 meses) después de realizado el LASIK, los queratocitos migratorios y alterados se volvieron inactivos y se formó una cicatriz hipocelular. Estos hallazgos son destacados también en este estudio y mostraron que los queratocitos activados y migratorios se pierden gradualmente, incluso más rápidamente tras el LASIK. Eso indica que en una fase temprana los queratocitos migratorios y alterados son metabólicamente muy activos y participan en la respuesta curativa. Estos entonces retornan lentamente a su fenotipo inactivo normal, sin embargo contienen un elevado número de vacuolas intracelulares.⁴ *Ivarsen* en su investigación concluyó que tras el LASIK, la regeneración es restringida al lecho estromal residual.⁵

La inervación de la córnea procede de la rama oftálmica del nervio trigémino y provee a esta estructura de una sensibilidad extrema. Esto permite preservar las funciones y la estructura normal para estimular la secreción lagrimal, mantener un balance fisiológico y evitar estímulos nocivos.^{6,7}

Las fibras nerviosas de los plexos sub-basal y subepitelial son claramente visibles en córneas normales, porque contrastan sobre un fondo oscuro. Son fibras nerviosas finas, brillantes, distribuidas de manera paralela u oblicua y con diversas bifurcaciones que se conectan entre sí. El grosor medio de cada fibra sub-basal está entre 2 y 4 mm y el de las fibras subepiteliales entre 3 y 7 mm.^{6,7}

Estas funciones básicas se ven afectadas cuando se pierde la continuidad de estos nervios por procedimientos quirúrgicos. En el corte del microquerátomo, los nodos de las fibras nerviosas sub-basales y los nervios del estroma superficial son cortados. Así, los nervios del estroma corneal quedan expuestos a la fotoablación del excímer láser.^{8,9} Como se observa en los resultados del estudio, la inervación no se afectó significativamente a largo plazo tras las incisiones radiales, a diferencia de lo ocurrido tras el corte con el microquerátomo en el LASIK.

Moilanen y otros reportan que se produjo una gradual, pero incompleta regeneración del plexo nervioso sub-basal a los 2 años de realizado el LASIK. Esto está en concordancia con anteriores estudios realizados por *Calvillo* y *Erie*. No obstante, *Patel* y *McGhee* mostraron que existe un patrón en torbellino (*vortex*) en el ápex corneal. Estudios sobre reinervación en injertos corneales indican que incluso, si la inervación del epitelio es restaurada, solo tiene lugar una mínima regeneración nerviosa en el estroma.^{7,8}

Al concluir destacamos cómo la cicatrización estromal se limitó al borde del colgajo, con aumento de la actividad queratocitaria en el lecho estromal en las primeras semanas del posoperatorio y disminución de la densidad queratocitaria por apoptosis observada hasta el año de evolución. La regeneración nerviosa comenzó a partir de los seis meses con la aparición de los nodos nerviosos, aunque con alteraciones evidentes de su morfología. Esto produjo un aumento paulatino de la recuperación de la sensibilidad corneal al año después del LASIK.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Javaloy J, Vidal MT, Ruiz Moreno JM, Alió JL. Microscopía Confocal de la córnea en la cirugía fotorrefractiva. Arch Soc Esp Oftalmol. 2005;80(9):87-99.
2. Azar DT. Cirugía refractiva. 2da ed. España: Elsevier; 2008.

3. Erie JC, Patel SV, McLaren JW, Ramirez M, Hodge DO, Maquire LJ, et al. Effect of myopic laser in situ keratomileusis on epithelial and stromal thickness: a confocal microscopy study. *Ophthalmology*. 2002; 109(8): 1447-52.
4. Moilanen JA, Holopainen JM, Vesaluoma MH, Tervo TM. Corneal recovery after LASIK for high myopia: a 2-year prospective confocal microscopic study. *Br J Ophthalmol*. 2008; 92(10): 1397402.
5. Ivarsen A, Fledelius W, Hjortdal J. Three-Year Changes in Epithelial and Stromal Thickness after PRK or LASIK for High Myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009; 50(5): 2061-6.
6. Mastropasqua L, Nubile M. Normal Corneal Morphology. En: Mastropasqua L. *Confocal Microscopy of the cornea*. Italy: University G.D Annungio Slack Incorporating; 2002.
7. Netto AL, Fioravanti GA, Fioravanti TA, Andrade MR. Ceratectomia fotorrefrativa (PRK) com mitomicina C a 0,02% para correção de grau acentuado de astigmatismo hipermetrópico composto secundário a cirurgia de ceratotomia radial. *Rev Bras Oftalmol*. 2009; 62(3): 700-5.
8. Moilanen JAO, Holopainen JM, Vesaluoma MH, Tervo TM. Corneal recovery after LASIK for high myopia: a 2-year prospective confocal microscopic study. *Br J Ophthalmol*. 2008; 92: 1397402.
9. Pacheco Del Valle C, Baca-Lozano O, Velasco-Ramos R. Reinervación corneal y dinámica de queratocitos posterior a queratoplastía penetrante. Reporte de casos. *Rev Mex Oftalmol*. 2008; 82(4): 263-6.

Recibido: 30 de junio de 2011.

Aprobado: 11 de noviembre de 2011.

Dra. *María del Carmen Benítez Merino*. Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". Ave. 76 No. 3104 entre 31 y 41 Marianao, La Habana, Cuba. Correo electrónico: mariac.benitez@infomed.sld.cu