



# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1. MORFOLOGÍA DE LA CÓRNEA**

### **1.1.1. MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA**

La córnea es la porción anterior, transparente de la cubierta externa del ojo. Es esférica, pero parece algo elíptica anteriormente, debido a que el limbo es más prominente en sentido vertical. En el hombre mide alrededor de 12.5 mm (eje horizontal) x 11.5 mm (eje vertical) y tiene un espesor central promedio de 0.52 mm y de 0.65 mm en la periferia. Su tercio central, denominado zona óptica, es casi esférico con un radio de curvatura promedio de 7.8 mm. La córnea periférica es menos curva, pero también variable. La superficie corneal posterior es casi esférica y se ha calculado que su radio de curvatura aproximada es de 6.8 mm. Con estas cifras, el poder de refracción de la superficie anterior de la cornea es de + 48.8 dioptrías y el de la superficie posterior de 65.8 D. Por tanto, el poder de refracción neto de la córnea es de 43 dioptrías o el 70% del poder de refracción total del ojo. (Arffa, 1992).

### **1.1.2. MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA**

Está formada por cinco capas: epitelio y membrana basal, membrana de Bowman, estroma, membrana de Descemet y endotelio. En condiciones normales carece de vasos sanguíneos y linfáticos.

#### **1.1.2.1. Epitelio**

El epitelio corneal es un epitelio escamoso estratificado no queratinizado, compuesto de 5 a 7 capas de células. Tiene un grosor de 50 micras lo que representa el 10% del espesor total de la córnea. En la periferia corneal, la membrana de Bowman se interrumpe y el epitelio aumenta su grosor, estando compuesto aquí por 8 a 10 capas de células.

Existen en el epitelio corneal dos tipos de células: epiteliales y no epiteliales. Entre éstas últimas se encuentran las células de Langerhans, algunos melanocitos (especialmente en la zona periférica) y linfocitos (Arffa, 1992).

#### **1.1.2.1.1. Células epiteliales**

Están organizadas en tres zonas: superficial (en contacto con la película lagrimal), intermedia y basal.

Las células superficiales son las más diferenciadas del epitelio corneal, tienen un aspecto alargado y aplanado y se distribuyen en dos o tres capas. En la capa más superficial predominan las células muy maduras, sin núcleos y con modificaciones morfológicas en su membrana que les permiten asumir su función de barrera (Doughty, 1990). Ultraestructuralmente podemos apreciar que la membrana de la parte apical está tapizada en su superficie por microvellosidades y micropilis, sostenidos por filamentos de actina. Estas microvellosidades sirven de punto de anclaje a la capa de mucina de la película lagrimal gracias a la presencia de un complejo glicoproteico: el glicocáliz.

En la membrana citoplasmática de las caras laterales y basal de las células superficiales destacan los complejos de unión intercelulares, que son de tres tipos:

- Los desmosomas, uniones adherentes que garantizan la cohesión mecánica entre las células al tiempo que sirven de punto de anclaje al citoesqueleto.
- Las uniones estrechas (tight junctions), que aseguran la cohesión celular pero sobre todo representan un sistema estanco que impide el paso libre de moléculas, jugando un papel fundamental en la función de permeabilidad selectiva del epitelio.
- Las uniones comunicantes (gap junctions), que permiten el paso de pequeñas moléculas de una célula a otra. Están distribuidas al azar sobre las caras basal y laterales y permiten el acoplamiento metabólico y eléctrico entre las células al permitir el paso de iones y de pequeñas moléculas hidrofílicas (Kantelip, 1993).

Las células intermedias o alares están dispuestas en dos o tres capas en la parte central de la córnea y en cuatro o cinco en la periferia, representando un estado de transición entre las células basales y las superficiales. Son células poligonales con un núcleo dispuesto paralelamente a la superficie. Recubriendo su membrana citoplasmática aparecen numerosos desmosomas que unen firmemente estas células entre sí y con las células basales y superficiales. En las caras laterales de las membranas aparecen también uniones comunicantes (ögap junctionsö) (Kantelip, 1993).

Las células basales forman una monocapa de células columnares que asienta sobre una membrana basal que separa el epitelio de la capa de Bowman. Son las únicas del epitelio corneal capaces de dividirse. Las células hijas migran hacia la superficie para formar las células intermedias ya descritas. Así, las células basales se van transformando progresivamente en intermedias y posteriormente en superficiales con un tiempo aproximado de tránsito de 7 días. La mayor parte de divisiones mitóticas ocurren en una zona anular que se extiende hasta 2 mm desde el limbo (Dua et al, 1994). El citoplasma de las células basales contiene un citoesqueleto con abundantes filamentos de actina que juegan un papel importante en la migración celular, microtúbulos y filamentos de queratina. Están unidas entre sí por desmosomas y a la membrana basal por hemidesmosomas. También encontramos uniones comunicantes (ögap junctionsö) en las caras apical y laterales.

#### **1.1.2.1.2. Membrana basal**

Situada entre el epitelio y la capa de Bowman y sintetizada por las células basales epiteliales, sus principales funciones son: servir de guía para la migración celular, de soporte para la adhesión celular, de membrana semipermeable y mantener la arquitectura de los tejidos. Su grosor en condiciones normales es de 80 nm, aunque puede aumentar con la edad y en determinadas situaciones patológicas como la diabetes o la distrofia en huellas dactilares (Anhalt et al, 1987).

Con el microscopio electrónico puede observarse en ella una capa superficial menos densa electrónicamente, la lámina lúcida, y otra profunda denominada lámina densa. Bioquímicamente, está constituida por colágeno IV y proteoglicanos asociados a varias proteínas: laminina, fibronectina y osteonectina. El colágeno IV puede desempeñar un papel importante en las patologías inflamatorias al actuar como agente quimiotáctico para los leucocitos polimorfonucleares (Havenith et al, 1987). La fibronectina, una glicoproteína fibrilar, ha sido encontrada por algunos autores en humanos de avanzada edad (Kohno et al, 1987). La laminina es una glicoproteína con una estructura molecular particular que le permite conectar distintos constituyentes de la membrana, y ha sido aislada únicamente en las membranas basales (Kohno et al, 1987).

Parece que tanto la fibronectina como la laminina tienen una distribución similar en la membrana basal. Sus funciones son también parecidas: permitir las interconexiones de los diferentes compartimentos de la matriz extracelular y las uniones celulares.

#### **1.1.2.1.2.1. Mecanismos de adhesión del epitelio corneal**

Dos mecanismos principales permiten la adhesión de las células del epitelio corneal entre sí y con las capas subyacentes. El primero se realiza por la interacción molecular de un receptor con un ligando situado a nivel de la membrana o de la matriz extracelular. En él están implicadas tres familias de moléculas: las N-CAM o moléculas de adhesión, que sirven de mediadores en las uniones calcio-independientes; las cadherinas, mediadoras de las adhesiones calcio-dependientes (Rigal, 1993), y las integrinas (Päällysao, 1992), glicoproteínas formadas por dos tipos de subunidades,  $\alpha$  y  $\beta$ , que pueden encontrarse a distintos niveles en las membranas de las células basales e intermedias.

El segundo mecanismo concierne sobre todo a la adhesión del epitelio al estroma gracias a un grupo de estructuras que son denominadas en su conjunto el complejo de adhesión y que comprende:

- Los filamentos de queratina asociados a los hemidesmosomas
- Los hemidesmosomas
- Las fibras de anclaje
- Las placas de anclaje

Los hemidesmosomas corresponden a la mitad de un desmosoma y, al igual que éstos, permiten la conexión de filamentos de queratina intracitoplásmica. Tienen dos componentes: el antígeno del penfigoide bulloso (Anhalt, 1987) y la integrina (dímero  $\alpha 6\text{-}\beta 4$ ), que permite la interconexión entre la placa del hemidesmosoma intracitoplasmático y los filamentos de anclaje extracitoplasmáticos.

Los filamentos de anclaje atraviesan la membrana basal y unen los hemidesmosomas a las fibras de anclaje, fibras de colágeno de estriación transversal presentes en la membrana basal de todos los epitelios pavimentosos estratificados. Se insertan en la capa más profunda de la membrana basal formando una red que se incluye en el estroma anterior hasta una profundidad máxima de 2  $\mu\text{m}$ . Algunas de ellas se agrupan en profundidad en torno a unos acúmulos de sustancia llamadas placas de anclaje compuestas de colágeno IV y VII. Estas placas pueden corresponder a islotes de membrana basal inmersos en el estroma (Gipson, 1987).

#### **1.1.2.2. Membrana de Bowman**

Situada entre la membrana basal epitelial y el estroma, mide entre 8 y 14  $\mu\text{m}$  en la parte central de la córnea. Probablemente sintetizada por las células basales epiteliales, estas células no son capaces de regenerarla, de manera que en caso de rotura va a aparecer un tejido cicatricial que originará opacidades permanentes. Es una capa acelular compuesta de fibras de colágeno I, III, V y VII que presentan una estriación transversal y que se encuentran repartidas al azar en una sustancia fundamental constituida por mucoproteínas de composición bioquímica similar a la del estroma (Tamura, 1991).

La membrana de Bowman ha cobrado un interés añadido con el desarrollo de la cirugía fotorrefractiva, siendo un punto muy controvertido el papel que en la cicatrización corneal juega su ablación o integridad. Sabemos que en la queratectomía fotorrefractiva, la membrana de Bowman es fotoablacionada y que la desaparición de la misma no parece jugar un papel importante en el resultado postquirúrgico. Aunque lo que sí parece cierto es que su ablación conlleva que los queratocitos del estroma anterior se pongan en contacto con las células epiteliales, o lo que es lo mismo, con las citoquinas epiteliales. De estas citoquinas, la Interleukina-I y el Fas - ligando parecen estar implicadas en procesos de apoptosis (Wilson, 1996; Mohan, 1997).

Durante la PRK, la tasa de ablación para la membrana de Bowman y el estroma corneal es diferente (2.5 veces menor para la primera), hecho este que debe tenerse en cuenta a la hora de realizar los planes quirúrgicos (Séller, 1990; Ludwig, 1991).

### **1.1.2.3. Estroma**

Constituye aproximadamente el 90 % del espesor de la córnea, y consta fundamentalmente de fibras de colágeno, células del estroma y sustancia fundamental. El 78 % es agua. Las fibras de colágeno corresponden al 80 % del peso seco de la córnea, la sustancia fundamental al 15 % y los elementos celulares tan sólo un 5%.

Las fibrillas de colágeno se disponen en 200 a 300 láminas que se entrelazan y cruzan entre sí de forma bastante regular formando ángulos de menos de 90° en el estroma anterior y ángulos casi rectos en el estroma posterior. Las láminas discurren paralelas entre sí y a la superficie de la córnea, recorriendo cada una de ellas toda la longitud de la misma. Esta disposición regular en capas de las fibrillas, confiere a la córnea su transparencia y facilita su disección lamelar. El colágeno tipo I es el predominante, aunque también pueden encontrarse los tipos III, V y tipo VI.

La sustancia fundamental que rodea las fibrillas de colágeno es rica en glucosaminoglicanos (GAG). El queratán sulfato y el condroitín sulfato son los GAG fundamentales del estroma, en una proporción de aproximadamente 3:1. La sustancia

fundamental parece desempeñar un papel para mantener la disposición regular de las fibras de colágeno. En caso de edema agudo del estroma, el tamaño de las fibrillas de colágeno no cambia, pero sí lo hacen el volumen de la sustancia fundamental y el espacio entre las fibrillas (Smolin, 1994). También se han encontrado otros GAC, más asociados al tejido cicatricial, como el dermatán sulfato y el heparán sulfato. Además de funciones hidrodinámicas, los GAC están implicados en variadas actividades celulares y tisulares del estroma como la formación de fibrillas de colágeno en los procesos de reparación.

El queratocito es la célula que predomina en el estroma. Se trata de una célula grande y plana con varias prolongaciones grandes que se extienden más allá del cuerpo celular de forma estrellada. Se observan los cuerpos celulares entre las láminas de colágeno agrupadas y sus prolongaciones suelen extenderse dentro o entre el mismo plano lamelar. Ocasionalmente, los extremos de las prolongaciones tocan las células vecinas. Su citoplasma contiene microorganelas, microtúbulos, algunos lisosomas, partículas de glucógeno, partículas lipídicas y diversos cuerpos de inclusión.

En respuesta a la lesión del estroma, los queratocitos emigran a la zona de la herida y se transforman en fibroblastos. Estas células transformadas presentan un aumento de retículo endoplasmático rugoso y de los complejos de Golgi y una disminución de las prolongaciones citoplasmáticas. Contribuyen a la cicatriz mediante proliferación y formación de colágeno. El queratocito puede producir abundante lámina basal en la distrofia endotelial y en otros procesos patológicos pueden aparecer inclusiones. Los queratocitos acumulan productos metabólicos en numerosos trastornos, por ejemplo, en la cistinosis, el mieloma múltiple y en las enfermedades por almacenamiento lisosómico como las mucopolisacaridosis y las esfingolipidosis (Arffa, 1992). Los procesos de cicatrización estromal precisan una adecuada interacción entre los queratocitos y las células epiteliales. Sólo una vez que se ha producido el recubrimiento del defecto del epitelio, las citoquinas liberadas por sus células inducen a la división, migración y transformación de los queratocitos, cuya actividad mitótica alcanza un pico entre los 3 y los 6 días tras la lesión.

La falta de transparencia en el tejido estromal cicatricial regenerado se debe al incremento en la densidad y grado de activación queratocitaria, a la composición y disposición anormal de las fibras de colágeno y a la alteración en la composición porcentual de los diferentes GAC que aparecen en el estroma (matriz extracelular anómala) ( Cintron et al, 1990; Sudar Raj et al, 1990).

#### **1.1.2.4. Membrana de Descemet**

Tiene un espesor de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  en el adulto y se trata de una lámina basal gruesa producida por el endotelio. La línea de Schwalbe señala el límite periférico de esta capa. Al microscopio electrónico observamos que está formada por dos zonas: una anterior en bandas y una posterior homogénea. Contiene colágeno tipo IV y fibronectina. Periféricamente aparecen en el ojo normal, principalmente en individuos de edad avanzada, engrosamientos localizados en la membrana de Descemet que reciben el nombre de cuerpos de Hassall-Henle.

A diferencia de la capa de Bowman, la membrana de Descemet se desprende del estroma con facilidad, regenerándose con rapidez tras la lesión. Cuando se estimulan las células endoteliales por una inflamación, un traumatismo o alteraciones genéticas, puede producir un exceso de lámina basal anormal, dando lugar a un engrosamiento de la membrana de Descemet y a la formación de un acúmulo de morfología verrucosa en esta capa (Arffa, 1992).

#### **1.1.2.5. Endotelio**

Posteriormente a la membrana de Descemet se encuentra una única capa de células planas hexagonales. La microscopía electrónica permite observar las células normales de superficie plana con bordes netamente delimitados. Las células endoteliales, de morfología cuboidea y de una altura aproximada de 10  $\mu\text{m}$  al nacer, se aplanan con la edad hasta aproximadamente 4  $\mu\text{m}$  en los adultos. La densidad celular disminuye desde 3500-4000 células/ $\text{mm}^2$  al nacer hasta 2500-3000 células/ $\text{mm}^2$  en la córnea adulta.

Las células endoteliales humanas muestran gran actividad metabólica, como indica la presencia de numerosas mitocondrias, grandes retículos endoplasmáticos liso y rugoso y un aparato de Golgi bien desarrollado y ribosomas libres. Existe una complicada interdigitación de las paredes laterales de las células adyacentes y múltiples complejos de unión, entre ellos zonulae occludens, maculae occludens y desmosomas.

Hay alguna resistencia al paso intercelular de sustancias, que se debe a la complicada interdigitación de los bordes celulares, que aumentan la distancia que deben recorrer las sustancias, y a las uniones celulares oclusivas localizadas, pero lo cierto es que pueden penetrar moléculas incluso grandes. Ocasionalmente se pueden observar microvellosidades, que suelen indicar algún estado patológico.

La célula endotelial puede mostrar un gran cambio en respuesta a la estimulación patológica. Puede haber respuesta a lesiones corneales incluso pequeñas: las células endoteliales situadas en la zona posterior a la lesión del epitelio corneal pueden hincharse y desarrollar numerosas protrusiones inmediatamente tras la lesión. Después del traumatismo endotelial, las células se deslizan sobre la zona lesionada, actuando como un elemento reparador, que fabrica nueva membrana de Descemet allí donde no existe.

Mientras la mayoría de autores no muestran variaciones endoteliales tras la cirugía refractiva con láser excimer (Pérez-Santonja et al, 1994; Spadea et al, 1996; Trocme et al, 1996; Stulting et al, 1996), otros demuestran que puede existir una disminución en la densidad celular durante la propia ablación o en un periodo temprano (Isager et al, 1998). Quantock y colaboradores en 1999, demostraron en ablaciones realizadas en conejos, que tres días tras la PRK las células endoteliales aparecían redondeadas e hinchadas a la microscopía electrónica, aunque estos cambios eran reversibles. Estos se relacionaban con la cantidad de tejido ablacionado y por lo tanto con la duración del tratamiento. Todo esto se cree producido por el efecto mecánico y acústico del láser empleado.

### 1.1.3. INERVACIÓN CORNEAL

La primera rama del nervio trigémino proporciona inervación sensorial al globo ocular. El nervio oftálmico se origina en el ganglio de Gasser y se divide en tres ramas terminales: los nervios lagrimal, frontal y nasociliar.

Dos grupos de ramas del nervio nasociliar inervan el ojo: el primer grupo alcanza el ganglio ciliar por medio de un tronco único, la llamada rama sensitiva de ganglio ciliar. De este ganglio nacen unos 6 nervios ciliares cortos. El segundo grupo de ramas lo constituyen los nervios ciliares largos que alcanzan directamente el polo posterior del ojo sin atravesar dicho ganglio. Estos nervios atraviesan la esclera cerca del canal escleral del nervio óptico y a partir de aquí discurren agrupados en 20-30 troncos nerviosos hacia delante por el espacio supracoroideo. Cerca del músculo ciliar se forma un plexo nervioso circular que proporciona inervación a la esclera anterior, la episclera, ángulo camerular, área irido-ciliar y la conjuntiva. Algunas de estas fibras se unen para formar en el área próxima al limbo un plexo del cual se originarán los troncos nerviosos que inervarán la córnea (Draeger, 1984).

Las ramas destinadas a inervar la córnea se agrupan en 70-80 haces que penetran profundamente en el estroma de forma radial y que originarán el plexo estromal. Estas fibras preterminales forman un primer plexo (plexo anularis, Ranvier 1881; plexo marginalis, Attias, 1912) cuyas ramas se distribuyen fundamentalmente por todo el tercio medio del estroma dando lugar al plexo fundamental (Cajal, 1909; Attias, 1912; Reisner 1935). De este plexo salen fibras que atravesando las mallas conjuntivas en dirección a la superficie forman el plexo subepitelial por su localización en el estroma debajo de la membrana de Bowman (Cajal, 1909; Zander y Wedel, 1951).

Una vez dentro del estroma, a 1 mm de su entrada desde el limbo, todos los axones mielínicos pierden sus múltiples capas de mielina quedando cubiertas únicamente por las células de Schwann; así, todo el plexo del interior de la córnea está formado por finas fibras amielínicas. Las fibras quedan desprovistas de las células de Schwann al atravesar la membrana de Bowman (Nageotte y Guyon, 1911; Zander y Wedel, 1951; Whitear, 1960; Hogan et al, 1971).

Algunas de las fibras nerviosas terminan en el estroma, mientras que la mayor parte de ellas atraviesa la membrana de Bowman y bien dividiéndose o sin hacerlo van a terminar en el epitelio (Zander y Weddell, 1951; Abraham, 1955, Whitear, 1960; Matsuda, 1968; Hoyes y Barber, 1976; Schimmelpfening, 1982).

Las fibras nerviosas, aisladas o formando grupos de 3 o 10 (Matsuda, 1968), atraviesan perpendicularmente la membrana de Bowman en zonas especiales de ésta y ascienden a las capas más superficiales, bien ramificándose en la capa de células basales (Whitear, 1960; Robertson y Winkleman, 1970), o sin ramificarse (Matsuda, 1968). Así, los axones intraepiteliales se distribuyen de dos formas: tríos ramificados y orientados que discurren paralelamente a la base del epitelio denominados fibras de pincel y terminales axónicos no orientados que discurren anteriormente de forma oblicua y vertical.

## **1.2. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA CIRUGÍA REFRACTIVA**

El desarrollo progresivo y creciente de la cirugía refractiva es la consecuencia del deseo de la actual oftalmología de conducir a nuestros pacientes a la emetropía evitando el uso de los incómodos métodos convencionales de corrección de los defectos de refracción.

La importante limitación en la calidad de vida que las gafas o las lentes de contacto imponen a sus usuarios ha motivado a los oftalmólogos a lo largo de las últimas décadas a investigar acerca de un buen número de técnicas quirúrgicas que permitan evitarlas. Tanto la estabilidad y predictibilidad de estas técnicas como la aparición de complicaciones está condicionado por un buen número de factores morfológicos y funcionales.

Los principales elementos refractivos en lo que llamamos el dioptrio ocular son la córnea, el cristalino y la longitud axial del globo, siendo la cara anterior de la córnea la superficie refractiva más importante, responsable de más de las dos terceras partes de la potencia dióptrica global del ojo.

Las diferentes técnicas de cirugía refractiva pueden ser clasificadas, atendiendo al elemento refractivo sobre el que actúan: la longitud del globo ocular, sobre la córnea o procedimientos intraoculares.

### **1.2.1. PROCEDIMIENTOS SOBRE LA LONGITUD DEL GLOBO OCULAR**

Las denominadas técnicas de refuerzo escleral han constituido un intento de la cirugía refractiva para controlar la miopía modificando la longitud axial. Shevelev en 1930, Malbran en 1954 , Borley en 1958 y Thompson en 1992, han sido algunos de los cirujanos que las han practicado.

Como el objeto final de estas técnicas de refuerzo no es la corrección de defectos refractivos sino la detención de su progresión natural, podemos considerar que no son en sentido estricto técnicas de cirugía refractiva.

El efecto deseado se intenta conseguir mediante la colocación de unas bandas sobre la esclera posterior, ya sea en forma de boomerangö, de X o Y, que pueden ser elaboradas con esclera donante, esponjas de colágeno, duramadre modificada y algunos materiales sintéticos. En la actualidad es una técnica poco aceptada por su escasa predictibilidad y agresividad.

### **1.2.2. PROCEDIMIENTOS SOBRE LA CÓRNEA**

Dos razones hacen de la córnea el principal objetivo de las técnicas de cirugía refractiva aparecidas en las últimas décadas: su accesibilidad y su importancia en el poder dióptrico total de ojo.

### **1.2.2.1. Queratomileusis**

En 1964, José Ignacio Barraquer describió la técnica de la queratomileusis, un tipo de queratoplastia lamelar refractiva. En ella, se extrae una lámina de unas 240  $\mu\text{m}$  de la córnea anterior del paciente con un microqueratomo, se congela y talla en un dispositivo denominado criolato para conseguir aplanar su perfil anterior. Por último, el injerto autólogo es suturado de nuevo en su lugar (Barraquer, 1964).

Aunque la técnica se consideraba hace sólo unos años como el procedimiento de elección para el tratamiento de la miopía alta hasta 15 dioptrías, la dificultad en la ejecución y la impredecibilidad de sus resultados impidieron su popularización.

### **1.2.2.2. Queratomileusis In Situ**

Esta técnica implica la práctica de dos cortes sobre la córnea: el primero de ellos es una queratectomía lamelar que expone el estroma corneal y el segundo un corte refractivo sobre el estroma expuesto (Barraquer 1964; Ruiz 1986).

La lámina de tejido corneal obtenida tras el primer corte tenía un grosor de entre 120-160 micras y era recolocada posteriormente mediante suturas. El factor limitante en la predictibilidad de este procedimiento era necesidad de la realización de dos queratectomías con el microqueratomo, siendo difícil el centrado correcto y la precisión en la eliminación de tejido durante el corte refractivo. Esta técnica se ha denominado con posterioridad como la *ALKö (Automated Lamellar Keratoplasty)*.

### **1.2.2.3. Queratofaquia**

La idea de implantar en el interior del estroma corneal de los ojos miopes un lenticulo sintético que modifique el índice de refracción o la curvatura anterior de la córnea tiene ya casi dos décadas (Taylor et al, 1981).

La polisulfona empleada tenía un índice de refracción elevado (1.633) y era insertada en un bolsillo quirúrgico intraestromal (Lane et al, 1983), aunque fue

pronto abandonada por inducir necrosis aséptica de la córnea. La aparición de nuevos materiales más biocompatibles y con una mayor permeabilidad al oxígeno como el hidrogel y el uso de los modernos microqueratomos han relanzado esta técnica que intenta demostrar aún su idoneidad en términos de una adecuada relación beneficio/riesgo (Ismail, 2002).

#### **1.2.2.4. Epiqueratofaquia**

La epiqueratofaquia, epiqueratoplastia o epiqueratomileusis empleaba un lentículo corneal extraído del ojo de un cadáver que era posteriormente rehidratado y suturado sobre la superficie anterior de una córnea receptora desepitelizada con puntos sueltos. El procedimiento fue empleado por primera vez para el tratamiento de la afaquia (Kaufman, 1980) y posteriormente (Werblin y Klyce, 1982) para la corrección de la miopía, aunque su sistematización como técnica refractiva para el tratamiento de la miopía fue algo posterior (Kaufman y McDonald, 1986). La gran ventaja de la epiqueratofaquia es que evita la sección penetrante del receptor y permite la extracción del implante, si fuera necesario.

Sus inconvenientes principales son:

- Predictibilidad escasa como procedimiento refractivo.
- El poder dióptrico de la corrección se veía en ocasiones neutralizado por un proceso de reacción del epitelio corneal del receptor contra el del donante.

#### **1.2.2.5. Queratotomía Radial**

La primera técnica de cirugía corneal refractiva de gran difusión mundial tuvo comienzos difíciles. A mitades del pasado siglo, Sato realizó cortes radiales en las superficies anterior y posterior de la córnea con fines refractivos con el lógico desarrollo, en la mayoría de los casos, de una descompensación endotelial y una queratopatía bullosa (Sato, 1953).

Pero no fue hasta principios de la década de los 70 cuando Fyodorov describió en Rusia la primera técnica efectiva y segura para reducir la miopía con la queratotomía radial. El autor postulaba que la corrección del defecto miópico era debida a la sección del òligamento circular de la córnea. Posteriormente Leo Bores fue quien llevó a la gran expansión de la técnica al introducirla en Estados Unidos (Bores, 1978).

La técnica pretende debilitar la zona corneal paracentral y periférica consiguiendo una protusión y, consecuentemente, obtener un aplanamiento de la zona óptica central. Ello se consigue mediante la realización de cortes radiales en la superficie corneal del 90% del espesor de la zona óptica paracentral (Rowsey y Balyeat, 1982; Arrowsmith y Mark, 1985; Waring, 1992).

Algunos cambios introducidos en la técnica recientemente han sido el diseño del cuchillete de doble corte (ida-vuelta) y el desarrollo de una cirugía incisional mínima para la corrección de miopías bajas: la mini-queratotomía radial (Lindstrom, 1995). El estudio multicéntrico PERK, diseñado en Estados Unidos presentó los resultados refractivos a los 10 años tras la cirugía, mostrando un buenos resultados iniciales en la baja miopía, pero también una progresiva tendencia a la hipermetropización con el paso de los años en alrededor del 10% de los casos (Waring et al, 1994).

Los inconvenientes de este procedimiento son :

- Riesgo de perforación corneal (microperforación y macroperforación) debido a que se exige una profundidad de corte mínima del 90% del espesor corneal.
- Disminución de la resistencia mecánica de la córnea.
- Hipermetropización progresiva.
- La forma de conseguir un efecto corrector más intenso es incrementar el número de las incisiones y reducir la zona óptica incluso hasta 3 mm, con el consiguiente deslumbramiento al penetrar las incisiones en el área pupilar corneal.
- Visión fluctuante.
- Limitación marcada en el rango dióptrico a corregir.

### **1.2.2.6. Anillos corneales intraestromales**

Dicha técnica se fundamenta en crear una elevación en la periferia de la superficie corneal anterior para provocar en el centro una concavidad relativa de mayor o menor magnitud (Fleming et al, 1987). Esto se consigue mediante la inserción de dos anillos de polimetilmetacrilato (PMMA) transparente de 6 - 7 mm de diámetro en un bolsillo intraestromal creado quirúrgicamente en la media periferia de la córnea.

La técnica tiene las ventajas de ser reversible y no afectar al centro óptico de la córnea, pero es capaz de corregir sólo miopías bajas y con una predictibilidad limitada. Aunque hay publicaciones recientes sobre el uso de anillos intracorneales para corregir la miopía (Schanzkin et al, 2001), es el tratamiento de ectasias corneales y queratoconos (Colin et al, 2001) la indicación para la que la técnica está mostrando más utilidad.

Como ventaja adicional, Holladay propone que los anillos mejoran el perfil óptico de la córnea, al favorecer la forma *prolata* frente a la *oblata* que induce la realización de la ablación fotorrefractiva (Holladay, 2002).

### **1.2.2.7. Queratectomía fotorrefractiva con láser excímer**

Esta técnica, conocida desde hace casi dos décadas como PRK (*photorefractive keratectomy*), se basa en el tallado de un lentículo de tejido estromal en la parte más anterior y central de la córnea (Puliafito et al, 1985; Marshall et al, 1985, 1986; McDonall et al, 1989). El láser excímer realiza una vaporización del tejido corneal con efectos refractivos precisos y homogéneos y con un daño mínimo para el tejido adyacente. Las bases físicas de la fotoablación son explicadas más adelante.

### **1.2.2.8. Queratomileusis In Situ asistida por láser excimer (LASIK)**

Esta técnica realiza una queratectomía primaria con el microqueratomo obteniendo un disco corneal de unas 130 - 180 micras de espesor y de 8,5 mm de diámetro aproximadamente (Pérez-Santonja et al, 1997, 1998). El corte refractivo se hace sobre el estroma corneal mediante el láser excimer y el casquete corneal se recoloca sobre la córnea sin sutura. Se crea así una superficie corneal nueva con una variación del radio de curvatura que es capaz de corregir el error refractivo (Burato et al, 1992).

Sus ventajas más importantes derivan precisamente de mantener el epitelio y la membrana de Bowman intactas. La reparación es más rápida, no se presentan en superficie cambios morfológicos que afecten al espesor, y la consecuencia directa es:

- Reducción del dolor postoperatorio.
- Mayor rapidez de recuperación de la agudeza visual.
- Mayor estabilidad y predictibilidad del resultado funcional.
- Reducción del tratamiento postoperatorio.
- Aparición de nubécula corneal (haze) prácticamente sin incidencia.

El LASIK ha demostrado unos buenos resultados en la corrección de miopías moderadas con mínimo o ningún dolor en el postoperatorio y una rehabilitación visual mucho más rápida comparada con la PRK. Existen riesgos de potenciales complicaciones, tanto con el LASIK como con la PRK (Güell y Müller, 1996). Con la aparición de los nuevos microqueratomo y la mejora de los algoritmos del láser, las indicaciones para la técnica de LASIK han sido ampliadas hasta la baja miopía, la hipermetropía baja y moderada y el astigmatismo bajo y moderado (Gris et al, 1996; Farah et al, 1998).

### **1.2.2.9. Queratomileusis subepitelial asistida mediante láser excimer (LASEK)**

La queratomileusis subepitelial asistida mediante láser excimer es una técnica que realiza la ablación del estroma tras crear una lámina de tejido epitelial. En este caso no se necesita microqueratomo sino que tras aplicar una solución de alcohol a la cornea, esta se desepiteliza manualmente, retirando el epitelio para luego colocarlo de nuevo sobre la superficie ablacionada. Se trata básicamente de una modificación a la técnica de queratectomía fotorefractiva pero preservando el epitelio (Litwak et al, 2002; Shahinian, 2002; Anderson et al, 2002). En estos momentos, se están realizando diversos estudios para esclarecer las ventajas y los inconvenientes de esta técnica.

La indicación que aparece como más lógica es la fotoablación refractiva sobre aquellas corneas con grosor insuficiente en las que la realización de un procedimiento LASIK convencional podría acarrear un elevado riesgo de ectasia posterior. Al colocar de nuevo el epitelio en su lugar, el postoperatorio debe ser más rápido, menos doloroso y la formación de haze más infrecuente comparado con la PRK. Se ha sugerido también que la técnica podría mejorar la predictibilidad del LASIK sobre miopías bajas y muy bajas al evitar el efecto refractivo e inductor de aberraciones que cualquier corte lamelar induce sobre la córnea (Alió et al, 2002).

### **1.2.2.10. Otros tipos de láser**

Aunque se han estudiado láseres como el Erbio-YAG (Bende et al, 1989) y los láseres de pulsos ultracortos del orden de nanosegundos, picosegundos y femtosegundos (Stern et al, 1989) con longitud de onda dentro del espectro de la radiación visible e infrarroja (532 y 625 nm.), estos no se han podido presentar como alternativa al láser excimer de fluoruro de argón a 193 nm al no haber conseguido llegar a las prestaciones que este último ofrece en cirugía corneal.

A pesar de que la realización de cortes lamelares de alta precisión con láseres de femtosegundo han introducido grandes esperanzas en la comunidad oftalmológica en lo referente a la predictibilidad del espesor del corte y la ausencia de complicaciones

derivadas del uso del microqueratomo, problemas como la falta de transparencia en la interfase han limitado hasta el momento el uso de dicha técnica.

#### **1.2.2.11. Otras técnicas de modelado de la arquitectura corneal**

Además de los expuestos, han sido empleados otros procedimientos refractivos cuyo objetivo ha sido la modificación estructural de la córnea para la corrección fundamentalmente de la hipermetropía. Así la termoqueratoplastia con láser de holmio y la más novedosa termoqueratoplastia conductiva han sido empleadas para la corrección de este defecto con la principal limitación de la estabilidad en el tiempo de sus resultados (Attia, 2000). En el 2002 ha sido publicado un estudio realizado por McDonald y colaboradores sobre 355 ojos en el que se demuestra que la queratoplastia conductiva es tan segura, eficaz y predecible como otras técnicas empleadas para bajas y moderadas hipermetropías en pacientes mayores de 40 años.

### **1.2.3. PROCEDIMIENTOS INTRAOCULARES**

#### **1.2.3.1. Extracción de cristalino transparente**

Defendida en los últimos años por diferentes autores, se ha presentado como otra alternativa quirúrgica para solucionar el problema óptico de la miopía (Burato, 1991; Colin .y Robinet, 1994). Esta técnica consiste en la extracción del cristalino transparente e implante de una lente intraocular de cámara posterior.

El primero en concebir una intervención de cirugía refractiva basada en la extracción del cristalino no cataratoso a los grandes miopes fue Herman Boerhaave en el siglo XVIII. En 1980 Fukala realizó las primeras intervenciones y Verzella reinició una tendencia que todavía hoy se encuentra en auge. Las técnicas de extracción han evolucionado notablemente desde el principio de siglo, desde la extracción intracapsular pasando por las técnicas de extracción extracapsular del cristalino (Menezo et al, 1988) y la facoemulsificación con o sin implante de lente intraocular (Colin y Robinet, 1994)).

En general podemos decir que esta opción quirúrgica es motivo de controversia, debido fundamentalmente al riesgo quirúrgico y a las complicaciones del polo posterior (Menezo et al, 1988; Palomares et al, 1991; Alió y Ruiz-Moreno, 1991; Ruiz-Moreno et al, 1999).

### **1.2.3.2. Implante de lentes intraoculares en ojos fágicos**

Benedetti Strampelli en 1954 diseña la primera lente bicóncava que se implanta en cámara anterior para la corrección de la miopía. Sin embargo, esta técnica se abandonó porque el diseño de las lentes era inadecuado, el material escasamente biocompatible y los sistemas de esterilización rudimentarios.

Fue Fechner y Worst en 1990 quienes propusieron de nuevo este método con una modificación de su lente de fijación iridiana y posteriormente Baikoff con una modificación de la lente de cámara anterior y soporte angular de Kelman. A dicho perfeccionamiento han contribuido partidarios de este tipo de implante refractivo como Choyce, Fyodorov y Kauffman. Esto ha determinado la aparición de nuevos diseños más anatómicos y realizados con materiales mucho más tolerables.

Existen dos tipos básicos de lentes fágicas de cámara anterior:

- Lentes de apoyo angular (tipo Baikoff): son lentes que se apoyan en el ángulo de la cámara anterior (Baikoff 1991). También aquí se incluyen diseños derivados de estas, como la ZSAL-4 diseñada por Alió y Pérez -Santonja (Alió et al, 1999, 2000).
- Lentes de anclaje iridiano (tipo Worst-Fechner): son lentes que se fijan en la porción media-periférica del iris mediante un pinzamiento del mismo (Worst et al, 1990).

Pero estas lentes no están exentas de problemas como son en el daño endotelial (Mimouni et al, 1991; Pérez-Santonja et al, 1996), el síndrome GHU (glaucoma, hipema, uveítis), la hipertensión ocular inducida por esteroides y la ruptura crónica de la barrera hematoacuosa (Alió et al, 1993, 1999; Pérez-Santonja et al, 1996). Otras

complicaciones son el desprendimiento de retina (Alió et al, 1993; Ruiz-Moreno et al, 1999), el edema corneal y la neovascularización corneal estromal (Marco et al, 1995). Más infrecuentes son la neuropatía óptica isquémica (Pérez-Santonja et al, 1993) y la endoftalmitis (Pérez-Santonja et al, 1999). No obstante, esta técnica es para algunos autores la técnica de elección para las miopías altas .

En la actualidad se están implantando lentes epilenticulares (lentes epicapsulares) diseñadas por Fyodorov , y que se ofrecen en varios materiales, como el colágeno y la silicona (Zaldivar et al, 1998; Brauweiler et al, 1999, Arne y Lesueur, 2000), o el metacrilato diseñada por J. Barraquer en 1999. La idea es la de alejarse lo más posible del endotelio y su implante se fundamenta en la existencia de un espacio mayor en el ojo del gran miope entre la cara posterior del iris y la cápsula anterior del cristalino, de modo que teóricamente la lente intraocular permanecería flotando en el humor acuoso de la cámara posterior. Las posibles complicaciones sobre las estructuras del segmento anterior y posterior del globo ocular aún están por ver, especialmente al ser los jóvenes los que mas demandan estas técnicas. Hasta el día de hoy, el mayor problema ha sido la formación de catarata (Brauweiler et al, 1999; Alió et al, 2000).

### **1.3. LA CIRUGÍA FOTORREFRACTIVA: EL LÁSER EXCÍMER.**

El uso de los láseres ha supuesto una innovación revolucionaria en la oftalmología de las últimas décadas. El término *excimer* es una combinación de *excited* y *dimer*, en referencia a que la luz láser está producida por un gas noble (Argón) y un halógeno (Flúor). Una mezcla de ambos gases es excitada hasta un nivel energético superior mediante una descarga eléctrica, resultando de ello un compuesto inestable (ArF) cuya disociación emite una luz ultravioleta de 193 nm de longitud de onda.

El ArF excímer láser había sido ya utilizado en la industria de los chips para computadoras en Silicon Valley (California) a principios de los 80 pero fue Stephen Trokel en 1983 el primero en opinar que un láser excímer ArF podría ser capaz de

eliminar tejido corneal con una precisión submicrométrica para corregir errores refractivos sin producir daño térmico a los tejidos circundantes. En 1985 fue operado en Alemania el primer ojo humano sin visión con el excímer láser y en 1988, McDonall y colaboradores realizaron la primera queratectomía fotorrefractiva en un ojo humano con visión. La FDA (Food and Drug Administration) americana aprobó el uso de la PRK en 1995, habiendo sido utilizado este método de forma preferencial para el tratamiento de la baja miopía durante gran parte de la pasada década.

Durante la ablación con láser excímer para la miopía, tanto utilizando la PRK como el LASIK, se produce un aplanamiento de la córnea al eliminar un lentículo de tejido desde capas más superficiales a más profundas del estroma central de la córnea.

La luz UV de 193 nm produce un fotoablación del tejido corneal al realizar una disrupción de las macromoléculas de colágeno (Trokel et al, 1983). Cada pulso de láser excímer tiene la suficiente energía para cortar las uniones moleculares carbono-carbono, con el resultado de la eliminación por vaporización de fibras de colágeno con mínimo daño térmico en los tejidos colaterales. Se ha estimado que cada pulso de láser excímer produce daños colaterales en únicamente alrededor de 0.07  $\mu\text{m}$  del tejido estromal adyacente (Marshall et al, 1985; Puliafito et al, 1985).

La tasa de ablación de tejido corneal en cada pulso de láser excímer es de aproximadamente 0.25  $\mu\text{m}$ , siendo 1000 veces más preciso que cualquier otro láser oftálmico. Cada pulso suele tener una duración de unos 12 nanosegundos y la energía utilizada en cada uno de ellos varía entre 100 y 250  $\text{mJ}/\text{cm}^2$  en función del modelo de láser utilizado.

El número de pulsos aplicado a la superficie estromal determina la profundidad de la ablación practicada. Así un tratamiento típico con láser excímer elimina entre 20 y 150  $\mu\text{m}$  de tejido estromal dependiendo de la cantidad de miopía que se pretenda corregir. El número de pulsos y la geometría de la remoción de tejido para remodelar la arquitectura corneal son determinados por una fórmula computerizada

para cada refracción llamada algoritmo. Todos los modelos de láser excímer aplican algoritmos basados en la fórmula de Munnerlyn (Munnerlyn et al, 1983).

$$\text{Profundidad de la ablación} = \frac{(\text{Zona óptica en mm})^2 \times \text{cambio refractivo}}{3} \times (n-1)$$

n = índice refracción corneal (1,376)

### 1.3.1. CARACTERÍSTICAS DE LA LUZ LÁSER APLICADA A LA CIRUGÍA REFRACTIVA

Para poder comprender el papel del láser en la queratectomía fotorrefractiva es necesario conocer los principios básicos que sustentan los láser. Vamos a hablar de las características más relevantes del láser excímer de argón fluor.

- Monocromaticidad: determina la proporción de energía láser que va a ser absorbida o transmitida por el tejido. Hace referencia al hecho de que la luz de una única longitud de onda constituye un color determinado en el espectro visible.
- Direccionalidad: la luz láser es una luz colimada que posee escasa dispersión en direcciones diferentes una vez que abandona la cavidad donde se genera.
- Brillo: es una expresión de la energía que la radiación láser contiene. La energía radiada se mide en julios y al ser absorbida por la superficie corneal es la responsable de la ablación del tejido.
- Coherencia: ocurre cuando las ondas luminosas están en fase y existe una correlación constante entre el pico y el valle de las ondas.

- Estructura del ómodo: la distribución de la energía a través del haz se llama ómodo transverso y a lo largo del haz ómodo longitudinal. Los láser excimer producen una radiación multimodo.

### 1.3.2. INTERACCIÓN DE LA LUZ LÁSER CON LA CÓRNEA.

Existen cuatro tipos diferentes de interacción dependiendo de las características del tejido y del láser.

- Transmisión: ocurre entre las longitudes de onda de 300 y 1600 nm. Así el láser de argón y el YAG de neodimio atraviesan la córnea sin dificultad.
- Dispersión: La luz láser puede ser dispersada por los tejidos, de manera especial si la radiación se distribuye por una gran extensión. Cuando se da esta circunstancia pueden verse aumentados los efectos térmicos dañinos a la vez que disminuye la eficiencia del mismo.
- Reflexión: la reflexión de la luz láser en la cornea apenas existe.
- Absorción: a mayor absorción existe menor penetración y por lo tanto una mayor capacidad de ablación de la superficie corneal con poco daño térmico al tejido colindante. El láser excimer posee una escasa penetración lo que lo hace ideal para este tipo de cirugía. Cuando la luz es absorbida por la córnea, existen tres tipos de efectos que se pueden constatar, el fototérmico, la fotodisrupción y el fotoquímico.
  - Efecto fototérmico: se produce cuando la energía absorbida genera vibraciones en las moléculas. Estas inducen un aumento de la temperatura y rompen los enlaces débiles de hidrógeno ocasionando la desnaturalización proteica. Existen a su vez dos efectos térmicos; Fotocoagulación; Fotovaporización

- Efecto fotodisrupción: se produce ionización con irradiaciones muy elevadas cuya duración es inferior a los 20 nseg.
- Efecto fotoquímico: existen a su vez dos tipos; Fotorradiación y Fotoablación. Esta se fundamenta en la baja penetración de los fotones de láser excimer, la disipación de la mayoría de la energía en un volumen de tejido mínimo, la escisión con cada pulso de unas pocas capas moleculares, y la ablación de una cantidad exacta de tejido en cada pulso.

### **1.3.3. VARIABLES QUE CONTROLAN EL EFECTO DEL LÁSER EXCIMER SOBRE LA CORNEA.**

Tres tipos de variables controlan el efecto del láser sobre la cornea: 1) las que dependen del láser excimer; 2) las que el cirujano puede controlar; 3) las que determinan la interacción entre el láser y la cornea y que dependen del ambiente.

#### **1.3.3.1. Variables dependientes del láser**

- Longitud de onda: Puliafito en 1985 y Marshall en 1986 demostraron que utilizando una longitud de onda de 193 nm se obtenían ablaciones uniformes de la superficie corneal (Puliafito et al, 1985; Marshall et al, 1986). Como las proteínas y los proteoglicanos de la cornea poseen una absorción máxima a los 190 nm, se explica el hecho de que sea el argon-fluor el ideal para la cirugía refractiva corneal.
- Duración del pulso: viene condicionada por la vida de la molécula de dímero en su estado de activación que para el argón-flúor es de 10 a 20 nanosegundos. A mayor longitud de onda se requiere una menor duración del pulso para obtener el efecto ablativo deseado y minimizar los efectos térmicos.
- Energía del pulso: la energía total liberada en un pulso no es muy grande, obteniéndose potencias de ablación adecuadas y de escasísima duración.

- Homogeneidad del haz: La radiación láser de 193nm, cuando emerge de la cavidad de resonancia no presenta una densidad homogénea sino que concentra su energía en el centro. Los perfiles de la radiación pueden variar entre pulsos y se hacen menos uniformes a medida que se van degradando los gases del medio activo. Por ello, y para perfeccionar la homogeneidad del haz, se pueden utilizar máscaras que obturen los bordes menos homogéneos del haz o mover el haz continuamente sobre la superficie corneal para que no impacte siempre sobre la misma zona.

### 1.3.3.2. Variables ajustables por el cirujano

- Número de pulsos: determina directamente la cantidad de tejido ablacionado, habitualmente a razón de 0.25µ por pulso.
- Exposición de la radiación (fluencia): la fluencia es el flujo de energía que alcanza la superficie de la cornea. La ablación se verifica a partir de un umbral de fluencia entre 50 ó 70 mJ / cm<sup>2</sup>. A mayor fluencia, mayor escisión de tejido. La fluencia óptima en la que con la mínima exposición se logra ablacionar mas efectivamente se halla entre 150 ó 250 mJ / cm<sup>2</sup>.
- Repetición del pulso: al menos con los láseres antiguos, que carecían de sistemas de rastreo ocular fiables, el láser debía realizarse en el menor tiempo posible para evitar que el paciente moviera la cabeza durante el procedimiento. Según esto, las frecuencias de repetición más altas eran las ideales pero hay limitaciones. Con frecuencias superiores a 60 Hz existe efecto térmico dañino ya que la temperatura puede elevarse por encima de los 10° en el tejido adyacente. Además, los pulsos rápidos pueden condicionar que los fragmentos liberados se acumulen entorpeciendo el proceso al disminuir la eficacia. Por ello se utilizan repeticiones de pulso entre 5 y 30 Hz para los excímer de campo amplio.
- Configuración del haz del láser: desde que el láser emerge de la cavidad de resonancia hasta que entra en contacto con la córnea, la radiación debe ser

modulada y configurada mediante el concurso de un complejo sistema de liberación compuesto por espejos, máscaras, motores, computadoras y detectores.

### Modelación del haz mediante máscaras y lentes

Los láseres se clasifican según el sistema de liberación de haz que emplean en: haz de campo amplio, de hendidura scanning y de punto flotante, presentando cada uno de ellos determinadas ventajas e inconvenientes particulares.

- El láser de haz de campo amplio proyecta todo el haz en la superficie estromal de forma simultánea y utiliza un diafragma de apertura variable. La ventaja más destacable de este sistema es su rapidez e independencia del eye tracking. El principal inconveniente es la imprecisión en la homogeneidad del haz proyectado sobre una superficie tan amplia. Esto aumenta la incidencia de islas centrales.
- El sistema de haz de hendidura es más versátil que el anterior para conseguir diferentes patrones de ablación. En él la luz láser es liberada con forma de hendidura que barre la superficie de la cornea. El menor tamaño del haz proyectado aumenta la homogeneidad disminuyendo consiguientemente la incidencia de islas centrales. En cambio, la duración del tratamiento es mayor y necesitan de sistemas de eye tracking.
- El sistema de punto flotante consigue la mayor homogeneidad del haz eliminando la incidencia de islas centrales y permitiendo el diseño de diferentes patrones de ablación. Necesita de eye tracking y la velocidad de ablación es algo más lenta.

El eye tracker es un sistema de seguimiento del movimiento del ojo durante la cirugía. Puede ser activo si el haz del láser sigue el movimiento del ojo o bien pasivo, si el láser se bloquea cuando el ojo se mueve por fuera de un área determinada.

### 1.3.3.3. Variables dependientes del ambiente

- Partículas ambientales: muchas partículas presentes en la atmósfera de una habitación cerrada absorben la luz láser de 193 nm pudiendo alterar los resultados.
- Fragmentos corneales expulsados: pueden absorber energía alterando los cálculos previos.
- Hidratación corneal: los fluidos absorben energía por lo que la superficie corneal debe estar lo más seca posible.

### 1.3.4. PATRONES DE ABLACIÓN CORNEAL

Se sabe por la fórmula de Munnerlyn que la profundidad de la ablación es directamente proporcional al cuadrado del diámetro del disco que esculpimos en la cornea.

La ablación con una sola zona óptica, requiere profundizar significativamente en el estroma si queremos hacer un tratamiento de altos defectos refractivos. Esto causa haze y aberraciones ópticas en el escalón, sobre todo en condiciones mesópicas y escotópicas. Por ello la ablación monozonal, ampliamente utilizada en los primeros tiempos del láser, ha dado paso a diferentes patrones que mejoran las propiedades ópticas de las corneas intervenidas.

La ablación multizona persigue reducir la profundidad de la ablación maximizando la zona óptica para reducir la visión de halos nocturnos y la regresión postoperatoria. Procura así mismo una transición más suave y una superficie corneal más uniforme. Se programa para corregir el 100% de la ametropía la zona central y las dos zonas restantes un 70 y 30% respectivamente. Todo ello en un solo paso.

Con las ablaciones guiadas por topografía corneal, se pretende conseguir resultados refractivos buenos, sobre todo en el caso de astigmatismos irregulares o asimétricos cuyas correcciones eran imposibles con los antiguos sistemas de láser. Con el sistema Topolink, se intenta ablacionar la cornea según los mapas topográficos personalizados para cada paciente. Con el perfeccionamiento de los aberrómetros y de los láseres en general, se ha dado comienzo a la cirugía refractiva que no sólo tiene como objetivo el conseguir la emetropía, sino la mejora de la calidad óptica de la cornea ablacionada al eliminar las aberraciones de la misma. Se trata de los sistemas de ablación guiados por frente de ondas.

#### **1.4. INTRODUCCIÓN A LOS MÉTODOS DE VALORACIÓN PREOPERATORIA Y DE LOS RESULTADOS EN CIRUGÍA REFRACTIVA**

##### **1.4.1. MÉTODOS SUBJETIVOS**

###### **1.4.1.1. La agudeza visual y su medida**

El grado de la capacidad visual viene habitualmente representado por la agudeza visual. No se basa en el objeto más pequeño que el ojo puede reconocer, sino en la mínima distancia existente entre dos puntos que el ojo puede distinguir como tales.

La medición de la agudeza visual, junto con la información de la refracción son los componentes esenciales para determinar el estado y corrección refractiva del paciente. En la práctica clínica se debe medir en cada visita, pues es la medida principal de su capacidad funcional.

Existen diferentes maneras de clasificar la agudeza visual según diversos autores, pero fue Snellen en 1862 quien primero introdujo un sistema para su medida: el test de Snellen que ha permanecido en uso como método fundamental hasta la actualidad. Desde que publicó su original test, se han producido muchos

cambios para mejorar su presentación y adaptarlo a grupos especiales de población para los que no es apropiado (niños, analfabetos, ambliopes ).

El test de Snellen es la medición de la mínima figura legible. El resultado se anota como fracción de Snellen que es la recíproca del ángulo mínimo de resolución.

Fracción de Snellen = Distancia observador / distancia a la que el optotipo tiene 5 minutos de arco

El test utilizado se llama optotipo. El optotipo de Snellen tiene unas dimensiones de 5 veces el mínimo detalle a reconocer; si el observador es capaz de resolver el detalle de una figura de este test, su mínimo ángulo de resolución es un minuto de arco y la AV es 20/20 o unidad.

Algunos optotipos pueden ser mas difíciles de reconocer que otros. Si la persona es analfabeta se utiliza la E de Snellen si no, se utilizan los test de letras y números. Dentro del alfabeto hay letras que son más difíciles de reconocer debido a su diseño. Varios estudios han establecido un diseño estandar para los optotipos de letras y fue Sloan en 1968 quien recomendó 10 tipos de letras para su medición (z,n,h,r,v,k,d,c,o y s) ya que poseen el mismo número de contornos verticales, horizontales y oblicuos.

Existen varios factores que influyen en dicha agudeza visual:

- Límites anatómicos: número, distribución y posición de los fotorreceptores , ya que determina el mínimo ángulo de resolución del individuo.
- Circulo de confusión: el circulo de mínima confusión es aquel que la luz en la imagen de un punto está uniformemente distribuida a lo largo del circulo que forma la imagen. A menor circulo de confusión mejor resolución del ojo. Depende del estado de refracción y tamaño pupilar.
- Aberración de las lentes: esférica y cromática.

- Iluminación del test: hacer el examen de AV con iluminación media (400-500 candelas).
- Contraste: un detalle negro sobre fondo blanco es más fácil de distinguir que sobre fondo gris. Test de sensibilidad de contraste.
- Tiempo: hay que dar tiempo al paciente, sobre todo en sujetos ambliopes.
- Edad: la máxima visión se alcanza a los 10 años y comienza a disminuir a los 45 años.
- Error refractivo: Miopía, astigmatismo e hipermetropía.

#### **1.4.1.2. La función de sensibilidad de contraste. Trascendencia en la cirugía corneal fotorrefractiva**

Con los años, han ocurrido muchos avances en el diagnóstico y tratamiento de los errores refractivos. Los cirujanos saben que la agudeza visual medida con la tabla de Snellen no es suficiente, ya que cuando se intenta medir la verdadera calidad de la visión, la prueba de la sensibilidad al contraste es más exacta.

Con frecuencia, tras realizar un LASIK exitoso que produce una agudeza visual no corregida excelente, el paciente puede tener quejas de problemas asociados con baja iluminación (el clásico ejemplo de conducir de noche). La presencia de halos, deslumbramiento, y alteraciones visuales de noche pueden deberse a una relación negativa del tamaño y zona tratada. Estos síntomas son causados por la dilatación pupilar fisiológica cuando ésta es mayor que la zona óptica obtenida con la ablación. Una aberración esférica puede reducir la sensibilidad de contraste y para evitar este fenómeno, el tamaño de la pupila debe ser igual o más pequeño que la zona óptica consiguiendo de esta manera una relación positiva del tamaño pupilar y la zona tratada. Para medir esta relación, el diámetro de la pupila debe medirse bajo condiciones de luz escotópica, ya que la medida de la pupila con la unidad

topográfica es inadecuada por la luminosidad del disco de Plácido (Bour y Apkarian, 1996; Pérez-Santonja et al, 1998).

A un paciente con una pupila excesivamente grande bajo luz escotópica, se le debe advertir acerca de los riesgos de la dificultad de ver de noche o debe aconsejarse acerca de otros tipos de cirugía. Alternativamente, el cirujano puede aumentar el área de ablación. Sin embargo, aún con una relación del tamaño pupilar / zona tratada mayor de 1, el paciente podría referir cierto resplandor nocturno.

### Prueba de Sensibilidad al Contraste

La sensibilidad al contraste se desarrolló en los años 50 y se introdujo en los años 80 en la práctica clínica para evaluar la función visual en presencia de cataratas. El explorador busca con ella el mínimo nivel de contraste que el paciente puede percibir. Este es el valor del umbral y varía como una función de la frecuencia relativa al espacio (Bour y Apkarian, 1996).

Para esta prueba, el paciente debe mirar a una pantalla con un patrón de tiras; el grado de contraste se reduce hasta el punto que el paciente ya no puede distinguir más dicho patrón; este se considera el umbral de la sensibilidad al contraste del paciente. En esta prueba, suelen utilizarse de cuatro a cinco frecuencias relativas al espacio (3, 6, 12 y 18 ciclos / grado). El instrumento usado para esta prueba puede incluir dibujos sobre plástico o papel, o bien sistemas computerizados desplegados en un monitor. Los dibujos sobre patrones de plástico o papel tienen símbolos sobre un fondo de varios tonos de gris iluminados uniformemente. Deben protegerse del polvo y del deterioro por la luz del sol, ya que se pueden alterar y con ello variar el valor del contraste. Con la modalidad computerizada, los sistemas de calibración deben utilizarse periódicamente para verificar que el contraste quede estandarizado y el examen debe realizarse bajo condiciones luminosas que no afecten el diámetro pupilar. (Woods et al, 1996; Artal et al, 1996; Liang et al, 1997; Hodkin et al, 1997; Pérez-Santonja et al, 1998; Pujao et al, 1998; Wachler et al, 1999).

Los resultados se presentan como una curva en la que la abscisa muestra los valores de la frecuencia espacial y el valor ordinario del contraste mínimo percibido (umbral de contraste) en relación con las frecuencias espaciales. También es posible indicar el valor inverso en el ordinal, que es la sensibilidad al contraste.

Contraste C es el porcentaje de diferencia en la brillantez entre puntos de estimulación diferentes; sensibilidad al contraste (S) es lo inverso de C ( $I / C$ ). Para poder facilitar el entendimiento y uso de esta prueba clínicamente, ésta se mide en una escala logarítmica similar a la del campo visual. La relación está basada entre el promedio del valor del umbral logarítmico de la población y el resultado del umbral logarítmico del paciente al que se le ha efectuado la prueba. Si el resultado del paciente es igual al valor promedio de la población, el valor será 1.0; si es mejor, puede ser mayor de 1.0; y si es peor, puede ser menor de 1.0.

El resultado clínico puede ser normal o anormal, existiendo cuatro tipos de alteraciones:

- Reducción general de la sensibilidad.
- Reducción de la sensibilidad a frecuencias espaciales bajas.
- Reducción de la sensibilidad a frecuencias espaciales moderadas.
- Reducción de la sensibilidad a frecuencias espaciales altas.

#### Papel de la Sensibilidad al Contraste en la cirugía refractiva

Esta prueba es útil en cualquier examen clínico de rutina, aunque alcanza un valor especial en la evaluación de los resultados de la Cirugía Refractiva. Así, ésta no se utiliza para determinar si se debe o no se debe efectuar la intervención, sino para obtener un mayor entendimiento de las numerosas alteraciones visuales difíciles de evaluar que refieren los pacientes. Esta es una de las razones por las que se hace necesaria una línea de base preparatoria. La sensibilidad al contraste permite al cirujano distinguir problemas de función visual relacionadas con la retina y la vía visual de aquellos otros problemas relacionados con los medios ópticos.

Por último, la determinación de la sensibilidad al contraste aporta un punto de vista de indudable valor a la hora de evaluar la calidad final del procedimiento refractivo. Pero uno de los problemas que se plantea es la poca información existente en la literatura acerca de la precisión relativa y la capacidad de reproducir los datos de varios aparatos actualmente existentes en el mercado. Probablemente, debido a este motivo, los resultados obtenidos han sido controvertidos.

La mayoría de los estudios realizados en pacientes a quienes se realizó queratectomía fotorefractiva muestran una pérdida en la SC hasta un año después de las intervenciones (Niesen, 1997) aunque otros muestran que la SC volvió a niveles originales entre 3 y 12 meses después de la PRK (Hodkinn, 1997). En el caso del LASIK se vio que existía una disminución de la SC en el postoperatorio temprano pero que a los tres meses se recuperaba (Wang, 1997). Pérez-Santonja reportó resultados similares, con una disminución en los valores en las frecuencias espaciales bajas e intermedias y una rápida recuperación en el tercer mes postoperatorio (Pérez-Santonja et al, 1998). Holladay un año más tarde, reflejó la particularidad de que en condiciones diurnas la sensibilidad volvía a niveles preoperatorios pero en condiciones escotópicas existía una disminución de la sensibilidad persistente más allá de los seis meses tras cirugía lo que le hacía ser dependiente del tamaño pupilar (Holladay et al, 1999). Nakamura en el 2001 demostró que en miopías menores de 6 dioptrías se recuperaban los niveles preoperatorios en los tres primeros meses pero persistían alterados los niveles de contraste bajos y medios en aquellos pacientes intervenidos de errores refractivos mayores de ó 6 dioptrías (Nakamura et al, 2001).

## **1.4.2. MÉTODOS OBJETIVOS**

### **1.4.2.1. Funcionales: análisis de trazado de rayos con el sistema Technomed C-Scan (RAY-TRACING).**

Este es un método objetivo que trata de evaluar la función visual; fue desarrollado para la unidad de videoqueratografía Technomed c-Scan. Este aparato utiliza un rayo rastreador y el diámetro pupilar para determinar la agudeza visual potencial de la córnea usando un mapa videoqueratográfico.

El sistema Ray tracing simula la proyección de un objeto a través de los elementos ópticos. La refracción y la reflexión de los rayos en las interfases ópticas son tomados en consideración de acuerdo con las leyes ópticas geométricas. De esta manera puede ser determinada la proyección de los objetos en el plano de detección.

El objetivo del analizador de trazado de rayos es calcular y representar las imágenes características de la córnea para medir la teórica agudeza visual alcanzable. La superficie anterior de la córnea es utilizada como el elemento óptico y la retina como el plano de detección.

La agudeza visual viene determinada por la capacidad de discernir dos puntos diferentes separados en el espacio por una cierta distancia entre ellos: la menor distancia que el paciente es capaz de diferenciar ambos puntos representa la mejor agudeza visual. Recordemos que el poder de resolución de un ojo emétrepe con visión unidad es de un minuto de arco, por lo que dos puntos deben estar al menos separados por esta medida para poder ser diferenciados.

El papel del análisis del trazado de rayos como prueba de función visual puede ser útil en algunos pacientes que, tras cirugía refractiva y con resultados refractivos excelentes, se quejan de una mala visión, como por ejemplo cuando conducen de noche. Esto no es objetivable en pruebas de exploración convencionales, pero puede ser identificada por medio de este análisis. La prueba nos recuerda que la suavidad y la uniformidad corneal es esencial para una buena visión.

### **1.4.2.2. Morfológicas**

#### **1.4.2.2.1. El estudio del espesor corneal: paquimetría ultrasónica y otros métodos**

La cirugía refractiva realizada mediante láser excímer se fundamenta en el tallado de la córnea con fines ópticos. Esto requiere el conocimiento del grosor corneal con gran precisión pues la refracción límite que separa la indicación de una técnica de cirugía refractiva intraocular o corneal viene dado por la paquimetría. Por otra parte, debe ser evitada la aparición de complicaciones importantes tales como la ectasia postoperatoria (Ou et al, 2002).

Desde los primeros momentos de la realización de estos procedimientos, se han empleado diversas técnicas para el estudio paquimétrico de la córnea (Izatt et al, 1994; Drexler et al, 1997; Möller-Pedersen et al, 2000; Modis et al, 2001, Griesler y Dunker, 2001; Iskander et al, 2001; Marsich y Bullimore, 2001). La más extendida de todas ellas en la actualidad es la ultrasónica, esto es, la ejecución de una ecografía monodimensional con un transductor que convierte la energía eléctrica en ultrasonidos con una frecuencia vibratoria de 20 Mhz. El método es sencillo, reproducible y económico; motivo por el cual su uso se ha impuesto por encima de cualquier otra técnica.

Pero varias características de la paquimetría ultrasónica convencional, tales como la imposibilidad de realizar registros en los que sea barrida de forma sistemática el área central de la córnea (con el consiguiente desconocimiento sobre el punto de mínimo espesor) o la práctica de las mediciones a mano alzada (con el posible error derivado de la incidencia más o menos perpendicular del frente de ondas), limitan en parte la confiabilidad de la prueba (Gordon et al, 1990).

La cirugía refractiva actual necesita técnicas paquimétricas que hagan registros topográficamente antes que puntualmente. Por este motivo queda ampliamente justificado el estudio y desarrollo de nuevas técnicas con la esperanza de que puedan aportar ventajas suficientes en cuanto a precisión y reproducibilidad.

Los métodos usados para la determinación del grosor de la córnea pueden ser agrupados, según la naturaleza de la onda exploratoria en ópticos o ultrasónicos. Entre los ópticos se encuentran el paquímetro óptico adaptable a la lámpara de hendidura (Marsich y Bullimore, 2001), o los de más moderna aparición como la cámara de Scheimpflug, analizador corneal ORBSCAN (Griesler y Dunker, 2001; Iskander et al, 2001; Marsich y Bullimore, 2001), el tomógrafo óptico de coherencia (Feng, 2001; Wang et al, 2002), la interferometría de coherencia parcial con haz dual (Drexler et al, 1997), la microscopía especular de contacto y no contacto (Modis et al, 2001) o el análisis de enfoque completo de la córnea con el microscopio confocal (Kauffman et al, 1997; Li et al, 1997; Möller-Pedersen et al, 1998, 2000). Los ultrasónicos incluyen la paquimetría ultrasónica convencional (sonda de 20 Mhz) (Gordon et al, 1990; Yailali et al, 1997; Fakhry et al, 2002) o la biomicroscopía ultrasónica (sonda de 50 Mhz) (Avitabile et al, 1998; Pierro et al, 1998; Foster et al, 2000).

Es bien conocido que en la cirugía refractiva se recomienda dejar por lo menos unas 250 micras de estroma residual tras la ablación del láser en los casos de LASIK, por lo que es necesario un espesor mínimo de 450 micras de córnea sobre la cual trabajar de acuerdo con el grosor del flap para evitar la complicación más temida en la cirugía refractiva como es la ectasia corneal (Naroo y Charman, 2000; Ou et al, 2002; Rao et al, 2002; Alió et al, 2002).

Algunos factores pueden influir en la paquimetría haciendo que el resultado no sea fiable como son:

- Usuarios crónicos de lentes de contacto
- Paquimetrías en corneas excesivamente húmedas que son mayores, mientras que la de una cornea seca por una exposición prolongada a la luz del microscopio o al aire sea artificialmente mas delgada.
- La anestesia tópica puede aumentar el espesor debido a la formación de edema.
- Existe un aumento de espesor en leucomas corneales.

#### 1.4.2.2.2. El estudio de la regularidad de la superficie corneal: la videoqueratografía especular y de reflexión

Existen dos tipos de topografía corneal: un tipo basado en el sistema de reflexión especular y otro basado en la triangulación.

##### Sistemas basados en la reflexión especular

La topografía corneal de los videoqueratoscopios está basada en la reflexión especular de una imagen proyectada sobre la película lagrimal. Habitualmente es proyectada una imagen formada por una serie de círculos concéntricos denominada ò disco de Plácido. El mecanismo empleado para el cálculo de las pendientes (radio de curvatura en cada punto) es la reflexión especular, en la que el ángulo es constante, siendo hallada la pendiente en función de la distancia (Figura 1). El uso de un ángulo constante impide la triangulación, diferencia fundamental con el sistema de elevación.

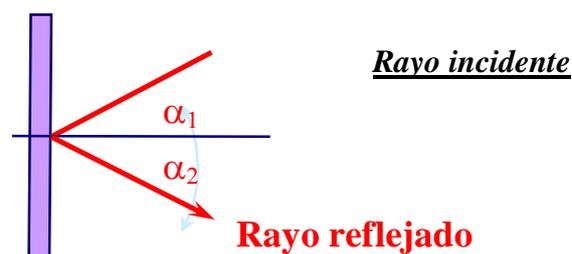
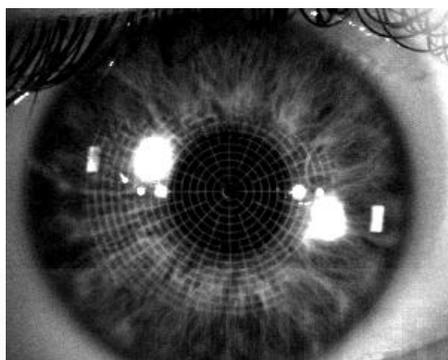


Figura 1: reflexión especular.

### Funcionamiento

El videoqueratoscopio consta básicamente de dos partes: Disco de Plácido y un ordenador PC compatible. La generación del mapa corneal se inicia con una imagen videoqueratoscópica, una imagen virtual de círculos concéntricos que es la reflexión en la córnea de los círculos iluminados que el queratoscopio proyecta en ésta. El videoqueratoscopio digitaliza estos círculos o miras y crea puntos individuales que podemos apreciar en la figura 2.

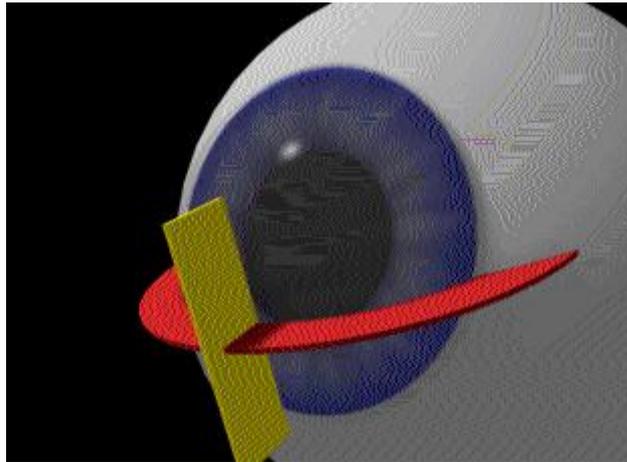


**Figura 2:** imagen videoqueratoscópica.

A continuación, el videoqueratoscopio mide la distancia desde el centro de la córnea a cada punto de las miras. Un algoritmo adecuado asigna a cada punto una posición en el espacio (posición axial, distancia al vértex corneal en mm.) y determina una medida de la curvatura corneal. El algoritmo varía según el modelo de videoqueratoscopio y está continuamente actualizándose por los fabricantes.

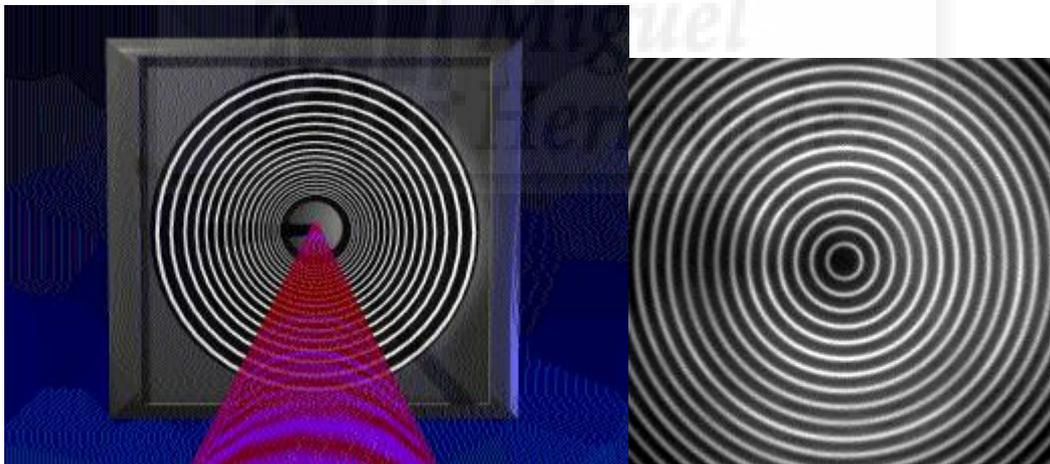
Finalmente, el queratoscopio recompone los miles de puntos y las mediciones de la curvatura corneal en una configuración que supone una información clara y accesible. Se ilustra la diferencia entre las mediciones axiales e instantáneas de la curvatura corneal, se definen puntos en segmentos curvos obtenidos al trazar radios desde el centro, y la medición instantánea de estos puntos iguales corresponden a la medida del radio de la curva.

Los modernos sistemas de videoqueratografía utilizan un análisis de los planos sagital (en rojo) y tangencial (amarillo) de la córnea (Figura 3).



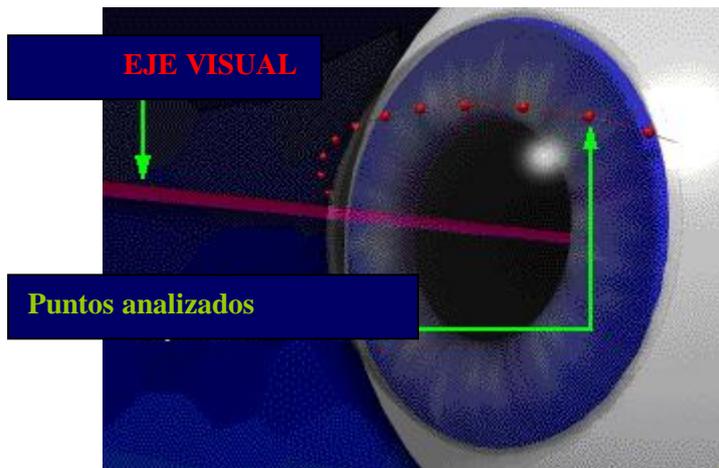
**Figura 3:** plano sagital y tangencial

Cuando el paciente mira al punto de fijación del dispositivo de proyección del disco de Plácido, éste es reflejado sobre la superficie de la película lagrimal, tal y como se aprecia en la parte derecha de la imagen (Figura 4).



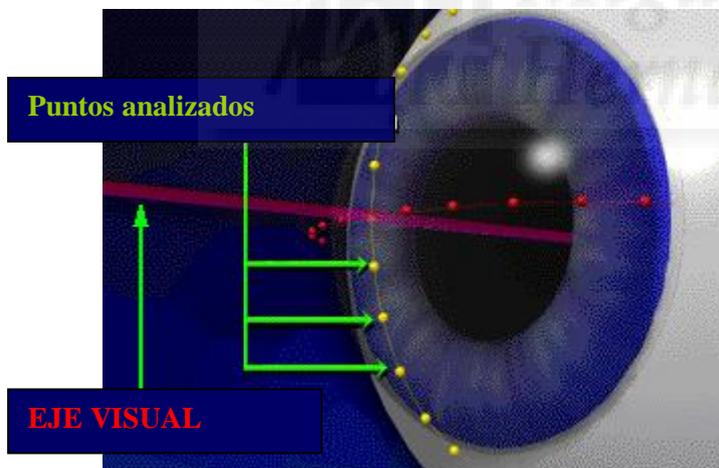
**Figura 4:** Disco de Plácido reflejado en la superficie corneal.

A partir del reflejo de estos anillos, el fotoqueratoscopio calculará el radio de curvatura en varios miles de puntos (del orden de 9000). El análisis sagital analiza la curvatura en cada uno de esos puntos con respecto al eje visual asumiendo que cada uno de ellos se encuentra sobre una superficie esférica (Figura 5).



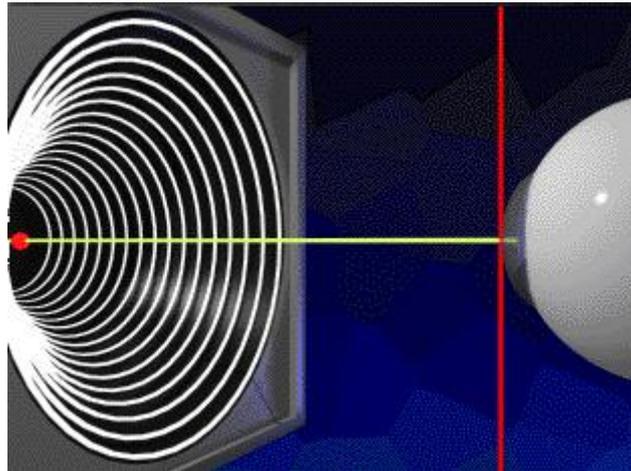
**Figura 5:** análisis de puntos en el plano sagital.

En cambio, al realizar un análisis tangencial de los puntos registrados asumimos que estos no tienen porqué encontrarse dispuestos sobre una superficie esférica (Figura 6).



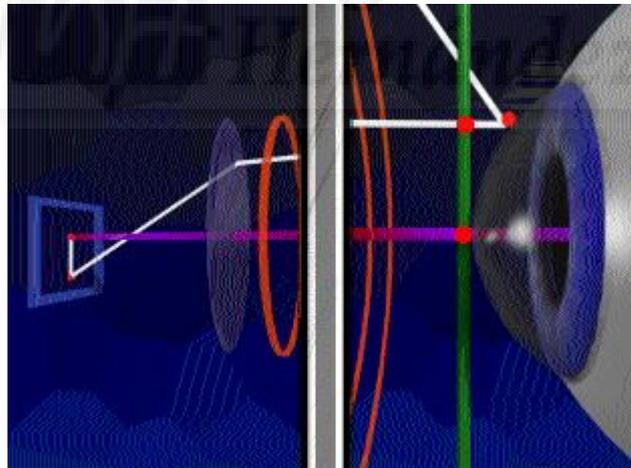
**Figura 6:** análisis de puntos en el plano tangencial.

Seguidamente, el queratoscopio localiza el ápex corneal y calcula la distancia desde el disco de Plácido con el objeto de establecer una relación real entre la separación de los anillos y el radio de curvatura (Figura 7).

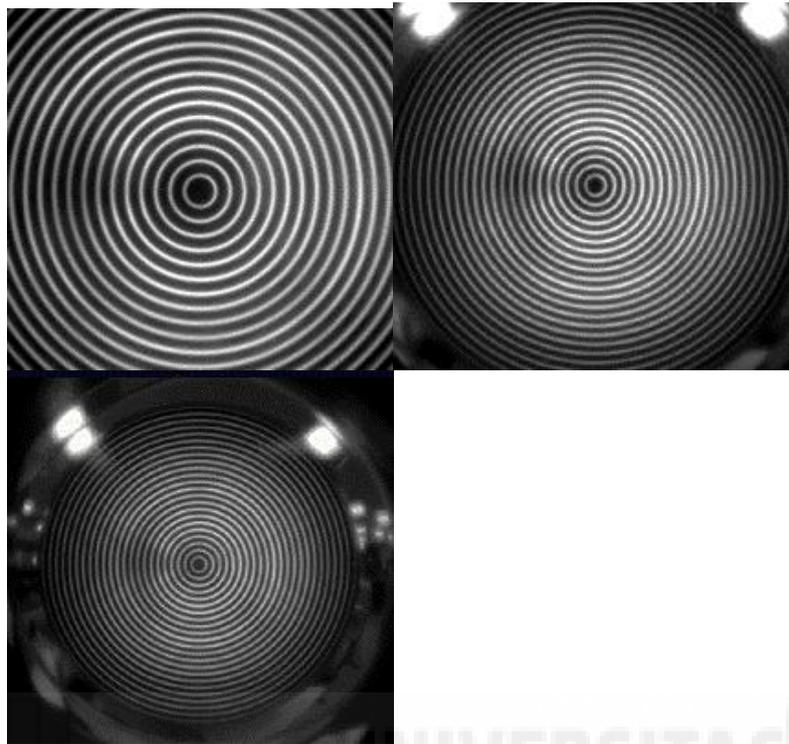


**Figura 7:** distancia entre el ápex corneal y el disco de Plácido.

De esta forma podemos estimar la posición en el eje Z de cualquier punto ubicado en la superficie de la córnea en función de la separación de los anillos reflejados en la película lagrimal (Figuras 8 y 9) .



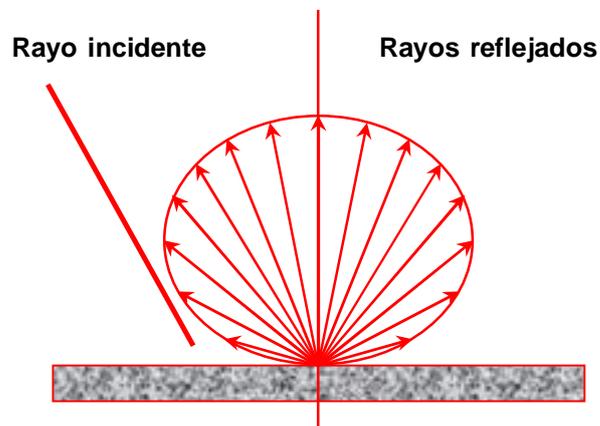
**Figura 8:** medida del eje Z



**Figura 9:** los anillos de Plácido se ven más juntos a medida que nos alejamos de la pantalla del videoqueratoscópico o bien conforme se incrementa la curvatura de la córnea.

### **Sistemas basados en la triangulación. Orbscan II.**

Consiste en el análisis de la luz reflejada en múltiples direcciones, de tal forma que es posible realizar un cálculo de la elevación de las superficies reflejadas mediante un sistema de triangulación (diferencia fundamental con el sistema videoqueratoscópico convencional) (Figura 10).

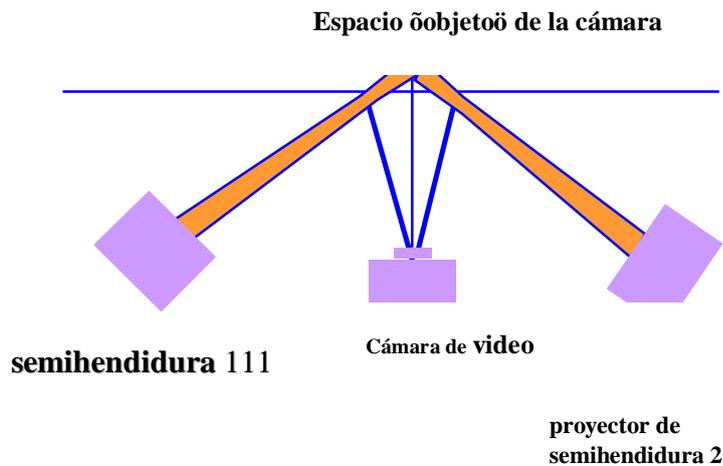


**Figura 10:** Sistema de triangulación en el que la luz se refleja en múltiples direcciones. Reflexión multidireccional.

### Bases de la Triangulación

En el topógrafo de elevación intervienen:

- Dos semihendiduras luminosas que se proyectan desde puntos equidistantes sobre la córnea y forman una imagen de S itálica vertical cuando se enfocan a la distancia adecuada.
- Una cámara de video que recoge la imagen enfocada en un espacio concreto (espacio ñobjetoö de la cámara, en el cual se hallará el llamado ñrayo de perfil de la cámaraö; línea de referencia esencial para que pueda realizarse la triangulación) (Figura 11).



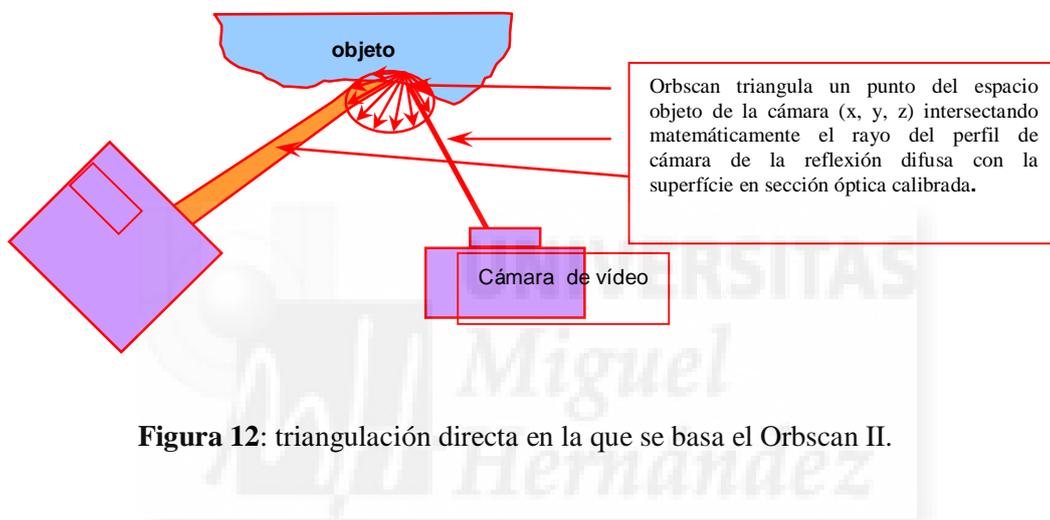
**Figura 11:** dispositivos que forman parte del topógrafo de elevación.

Cuando los haces de luz procedentes de las semihendiduras proyectadas llegan al ojo se producirán dos tipos de reflexión luminosa:

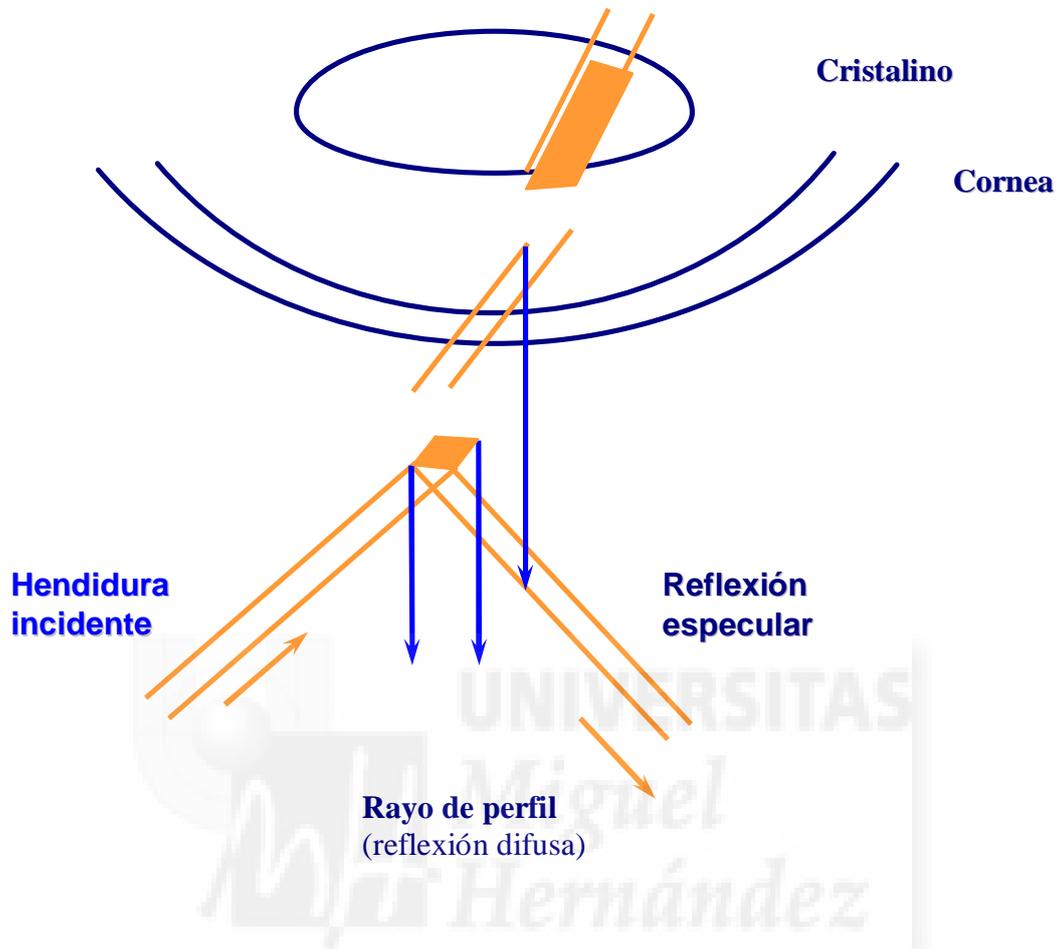
- Una reflexión especular (como la que utilizan los videoqueratoscopios convencionales) con un ángulo reflejado idéntico al incidente y que procede de las superficies lisas que la luz encuentra al llegar al ojo (la película lagrimal).
- Una reflexión multidireccional denominada òdifusaö y que se representa como el círculo con múltiples haces de luz que provienen de un solo punto dibujados en rojo en la figura 12. Las fuentes de la reflexión difusa incluyen:
  - Tejidos (cornea, iris, cristalino).
  - Superficies ópticas rugosas (córnea ablacionada).
  - Pero no líquidos (lágrima, humor acuoso).

La reflexión difusa o multidireccional nos permite triangular puntos aislados de la superficie.

El Orbscan IIz se basa en el concepto de Triangulación directa, que consiste en el cálculo de la elevación del punto a partir del cual la luz procedente del proyector de semihendidura se refleja de forma difusa desde cualquiera de los puntos con las características descritas. El haz de luz reflejado que coincida con el rayo de perfil de la cámara de video es el que permite realizar la triangulación.



De esta forma, la combinación de la reflexión especular convencional con la triangulación, realizada gracias al análisis de la reflexión difusa multidireccional, nos permitirá conocer de forma directa (no estimada como ocurría en la videofotoqueratoscopia convencional) la ubicación exacta de cada punto en los ejes X, Y y Z.



**Figura 13:** triangulación e interpolación de superficies internas.

Así, las hendiduras refractadas y la detección del rayo de perfil nos permitirán triangular e interpolar superficies internas (Figura 13) de tal forma que podemos detectar:

- Superficies corneales anterior y posterior.
- Superficie anterior del cristalino.
- Iris y limbo.
- Reflejos de proyección y de fijación.

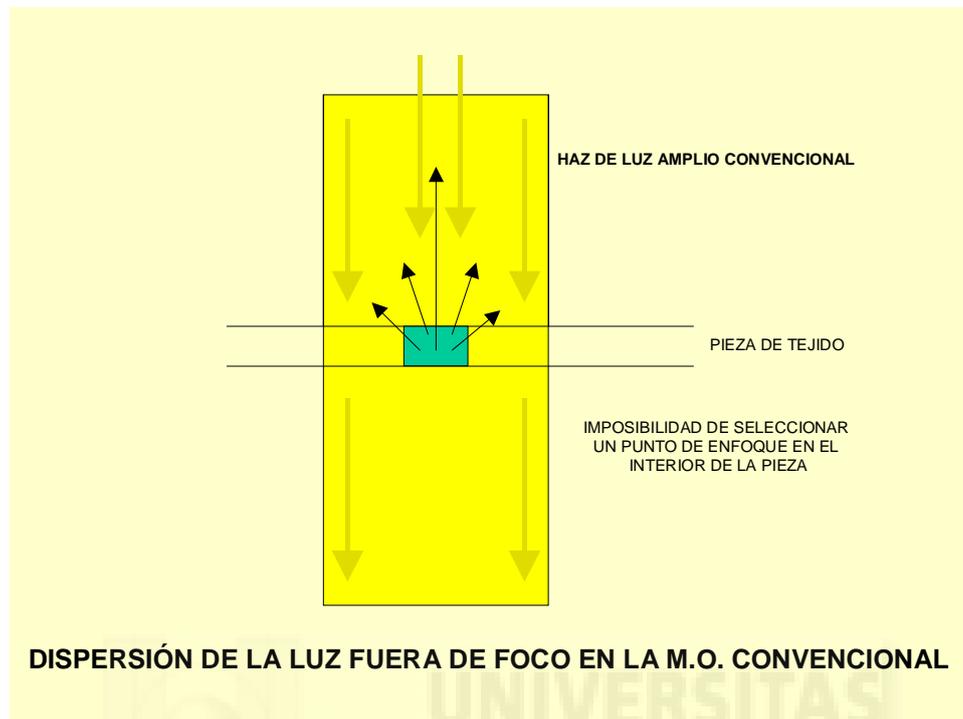
### 1.4.3. INTRODUCCIÓN A LA MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA CORNEA

#### 1.4.3.1 La Microscopía Confocal. Ventajas para el estudio de la córnea *in vivo*.

La Microscopía Confocal (MC) es una nueva ciencia. Mientras la idea de un microscopio confocal fue patentada por Minsky en 1957 y el primer dispositivo mecánico similar a un microscopio confocal fue diseñado y producido por Eggar y Petran en la década siguiente, no fue hasta la década de los setenta, con la llegada de los ordenadores, el láser y el procesamiento digital de las imágenes, cuando el primer M Confocal láser de haz simple fue utilizado en un gran número de laboratorios para el estudio de muestras biológicas (Sheppard, 1997). A partir de este momento, la microscopía confocal ha sido utilizada en el terreno de la investigación, siendo incorporada a ella un buen número de técnicas previamente usadas en la exploración con métodos convencionales de microscopía óptica tales como la inmunofluorescencia y la construcción de imágenes tridimensionales.

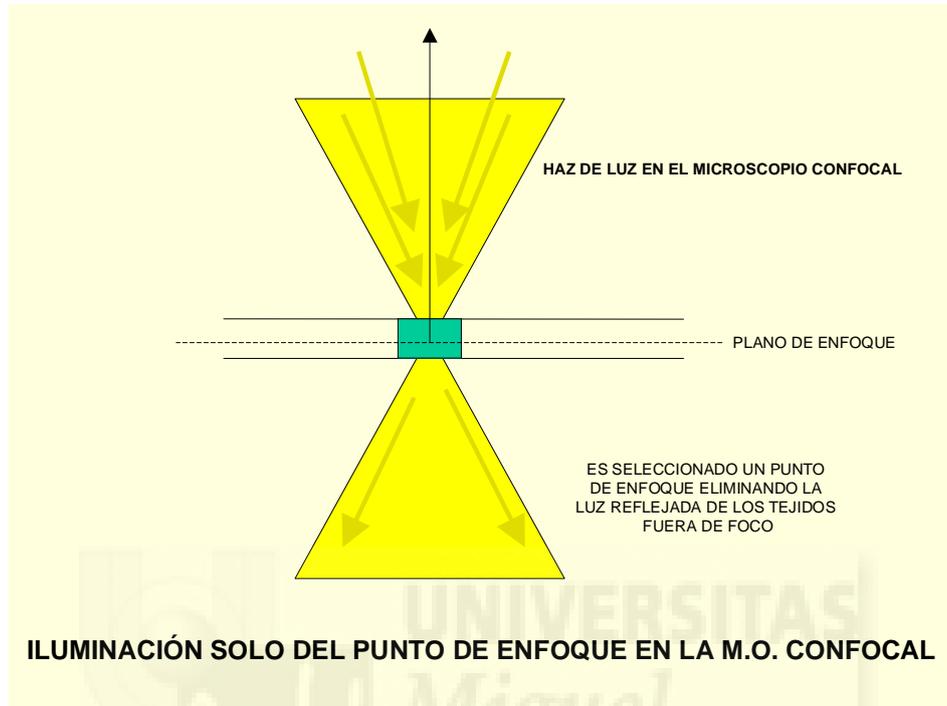
La microscopía óptica confocal es una técnica de uso reciente que presenta varias ventajas con respecto a la microscopía óptica convencional. La más importante de ellas deriva del hecho de que el *emborronamiento* de las imágenes fuera de foco está esencialmente ausente de las imágenes confocales, ofreciendo la capacidad de obtener cortes ópticos seriados de forma no invasiva en especímenes intactos e incluso en organismos vivos.

En la *epi-iluminación* del microscopio óptico convencional, la iluminación simultánea de todo el campo de visión en una pieza producirá siempre reflexión de luz en todo el espesor de la misma además de en el plano de enfoque. Gran parte de la luz recogida por las lentes del objetivo para formar la imagen procederá de las regiones superiores e inferiores al plano focal seleccionado, contribuyendo al *emborronamiento* fuera de foco de la imagen final y degradándola de forma importante al reducir su contraste y definición de las formas (Figura 14).



**Figura 14:** Microscopio óptico convencional.

En cambio, casi toda la luz que emana de las zonas superior e inferior al plano de enfoque puede ser eliminada físicamente de la imagen formada simplemente restringiendo la iluminación de la pieza a un solo punto o a una serie de puntos que serán escaneados (examinados de forma seriada) para formar una imagen completa que contendrá únicamente la información del tejido ñen focoö. Para ello basta con introducir en el sistema óptico una apertura de imagen confocal (Figura 15).



**Figura 15:** Microscopio Confocal.

La microscopía confocal tiene otras ventajas adicionales con respecto a la convencional, tales como un ligero aunque significativo incremento en la resolución lateral. El dispositivo confocal rechaza directamente no sólo la luz de los planos fuera de foco de la pieza, sino también la dispersada a partir del mismo instrumento óptico, lo que incrementa sensiblemente la relación ruido/señal en la imagen final. La microscopía confocal también es compatible con el procesamiento mediante ordenador de imágenes de alta resolución digitalizadas, permitiendo la reconstrucción de imágenes tridimensionales o la topografía de superficies (Sheppard, 1997).

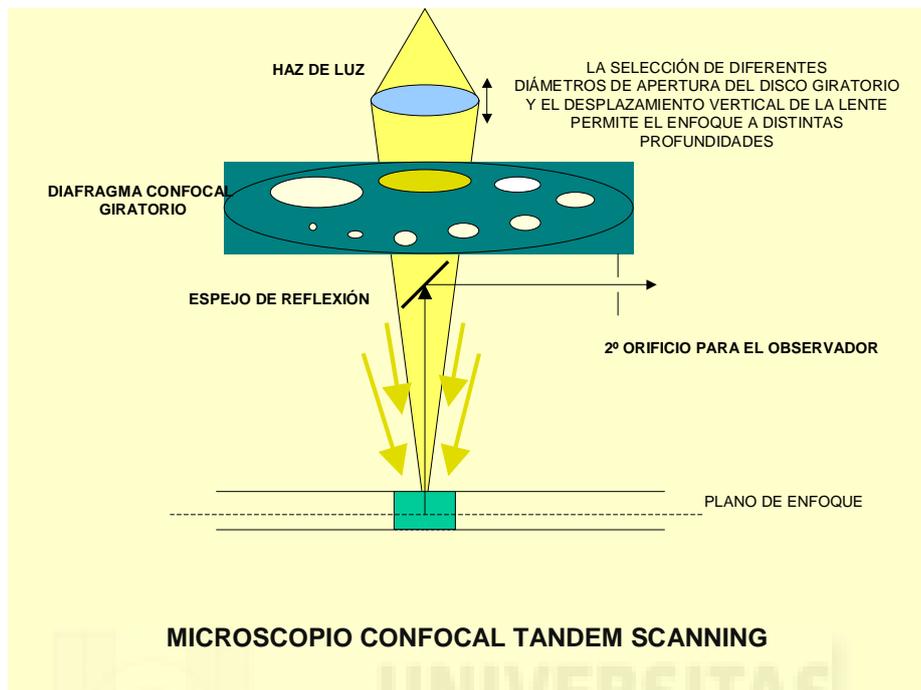
Así, la MC proporciona imágenes de mayor resolución con mejor desestimación de la información desenfocada que la microscopía óptica convencional (Boyde, 1986; Petran et al, 1992). Su capacidad de obtener cortes ópticos permite obtener imágenes desde diferentes profundidades dentro del espesor de una pieza de tejido, eliminando de esta forma la necesidad de realizar procedimientos de seccionado y procesado de muestras. Por eso es única como técnica para la valoración de tejidos intactos en organismos vivos.

In vivo, la microscopía confocal Tandem Scanning (TSCM) ha sido usada en una gran variedad de aplicaciones de investigación en animales de experimentación, tales como la cuantificación de cambios en la morfología epitelial por el porte de lentes de contacto, cicatrización corneal y medida de los efectos de la irritación ocular. Recientemente asistimos a una gran expansión del uso clínico de la MC en pacientes humanos (Petroll, 1998).

#### Sistemas actuales de imagen confocal.

En la actualidad existen tres tipos de MC para uso oftalmológico: el microscopio confocal Tandem Scanning (TSCM), el Confoscan y el Koester.

El primer microscopio confocal usado para ver la córnea fue el TSCM, que usa un sistema fuente-detector con un agujero que minimiza la cantidad de luz dispersada arriba y debajo del plano de enfoque (Figura 16). El resultado es un marcado incremento en la resolución lateral (X,Y) y axial (Z) comparado con la microscopía óptica convencional (Sheppard, 1997). Los orificios están dispuestos en un disco giratorio, lo que permite incluso un *scanning* del tejido en tiempo real. Las imágenes pueden ser observadas y registradas utilizando un sistema de video conectado a un ordenador.



**Figura 16:** Microscopio Confocal Tandem Scanning.

El Koester y el Confoscan usan dos haces de luz conjugados ópticamente para la fuente y detección en lugar de la apertura de orificios.

El microscopio Koester tiene un único sistema de apertura óptica dividida y un sistema de trabajo a distancia con una lente cónica de inmersión que permite obtener imágenes de todas las capas celulares de la córnea. Una ventaja de este sistema es su bajo coste, pues puede ser usado un sistema de fotografía con flash evitando la necesidad de un sistema computarizado de análisis de imagen.

En el microscopio Confoscan, dos haces de luz de anchura ajustable se encuentran en planos ópticos conjugados (fuente y detector) y un módulo de escaneado mueve la imagen del haz a lo largo de la córnea en tiempo real. Las secciones ópticas son conseguidas sincronizando la frecuencia y la fase de un scanner óptico con una videocámara CCD (Wiegand, 1995). Sin embargo, para una determinada apertura numérica del objetivo, el TSCM proporciona mejor resolución axial y lateral que los sistemas de haces de barrido. En cambio, la capacidad de estos

últimos para variar la profundidad del haz les convierte en técnicas más flexibles que el TSCM. Está claro que los tres sistemas tienen ventajas e inconvenientes, y la elección del mismo debe ser individualizada según la necesidad concreta (Petroll 1998).

#### **1.4.3.2. Morfología corneal normal con el Microscopio Confocal**

En la cornea normal, existen variaciones fisiológicas en cuanto a morfología, densidad y número de las diferentes poblaciones celulares que la componen, pero la literatura demuestra que no hay diferencias significativas en cuanto a sexo o entre ojos derechos o izquierdos (Patel, 2001). En estudios recientes se evidencia que existen variaciones de las células endoteliales con la edad (Mustonen, 1998) e incluso una disminución de la población queratocitaria que varía desde el 0.3% de pérdida por año de vida (Moller-Pedersen, 1997) hasta el 0.45% según autores (Patel, 2001). Berlau hace referencia a que esta disminución queratocitaria se hace muy evidente a partir de los 50 años de edad (Berlau, 2002).

##### **1.4.3.2.1. Epitelio**

Con el microscopio confocal es posible distinguir tres tipos celulares diferentes. En secciones bidimensionales, las células superficiales aparecen con densidad homogénea, bordes poligonales y bien definidos, y con núcleos evidentes. Estos núcleos son brillantes, con un halo hiporreflectivo y que destaca sobre un citoplasma homogéneo. Su área media es de  $900 \pm 300 \mu\text{m}^2$  (rango 520 - 2100) y su densidad numérica  $1200 \pm 370$  células /  $\text{mm}^2$  (Figura 17).

Las células basales son más pequeñas, poligonales, sin núcleo hiperrefringente y con citoplasma más denso. También se encuentran en mayor número y sus bordes están muy marcados. El área media es de  $180 \pm 20 \mu\text{m}^2$  (rango 138 - 242) y su densidad  $5700 \pm 300$  células /  $\text{mm}^2$  (rango 4135 - 7267) (Mustonen, 1998).

Las células intermedias son también poligonales, sin núcleo y con características de densidad intermedias entre las dos anteriores. No ha sido posible su cuantificación hasta la fecha.

La medida del grosor del epitelio corneal mediante esta técnica ha sido similar a la obtenida con la microscopía convencional, obteniendo un grosor medio de  $48.6 \pm 5.1 \mu\text{m}^3$  (Patel, 2001).

Hemos de conocer que la membrana basal epitelial y la membrana de Bowman no pueden ser identificadas en corneas normales.

#### **1.4.3.2.2. Plexo nervioso subbasal y subepitelial**

El plexo basal subepitelial, que está situado detrás de la Membrana de Bowman y el plexo subbasal, localizado entre la membrana basal del epitelio y la parte anterior de la membrana de Bowman, son claramente visibles en corneas normales.

Con el microscopio confocal, el plexo nervioso subepitelial es visible ya que contrasta con un fondo oscuro. Fibras nerviosas finas, brillantes y distribuidas de manera paralela u oblicuas, con diversas bifurcaciones que se conectan entre si son nítidamente observadas (Figura 17) . El grosor medio de cada fibra subbasal esta entre 2 y 4  $\mu\text{m}$  y el de las fibras subepiteliales entre 3 y 7  $\mu\text{m}$ , pero su densidad no es exactamente la misma a lo largo de todo su recorrido. (Oliveira-Soto et al, 2001)

#### **1.4.3.2.3. Estroma**

La imagen típica del estroma corneal muestra numerosos cuerpos ovales, brillantes que representan los núcleos de los queratocitos, repartidos en una matriz extracelular de color grisáceo, casi transparente. En ausencia de patología estromal, la matriz extracelular, sustancia fundamental y las lamelas corneales son imposibles de diferenciar por la transparencia intrínseca de estas estructuras ( Moller-Pedersen,

1997; Mustonen et al, 1998; Patel et al, 1999, 2001; Hahnel et al, 2000; Li et al, 2000) .

El estroma puede ser dividido desde el punto de vista de la microscopía confocal en diferentes subcapas :

- estroma anterior (100-150 micras tras la Mb de Bowman )
- estroma medio (150-350 micras centrales)
- estroma posterior (100 micras anteriores a la Mb de Descemet)

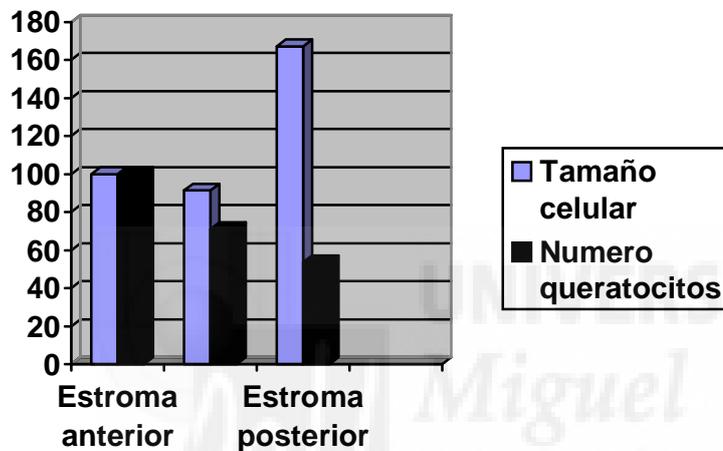
En cuanto a la morfología de los queratocitos tenemos que en el estroma anterior existe un gran número de queratocitos irregulares, de aspecto algo alargado y con numerosos procesos; en el estroma central encontramos queratocitos triangulares con finos procesos; en estroma profundo, los queratocitos son grandes, irregulares y ovoides (Figura 17). La diferencia en su reflectividad se cree debida a su activación metabólica (Hahnel et al, 2000).

El tamaño celular es mayor en el estroma profundo ( $14.4 \mu\text{m}^3$ ), seguido de los queratocitos del estroma anterior ( $5.4 \mu\text{m}^3$ ), siendo los queratocitos del estroma medio los que tienen un menor tamaño ( $5.0 \mu\text{m}^3$ ). Aquí es donde encontramos una mayor diferencia en la población queratocitaria ya que el tamaño de los queratocitos en el estroma profundo es casi tres veces mayor que en el estroma anterior. Por ello se ha dicho que para describir el estado real de la córnea, es mucho más exacto fijarse en el tamaño celular que en el número de queratocitos (Hahnel et al, 2000).

En cuanto al número de queratocitos, vemos que existe un mayor número en el estroma anterior y que va disminuyendo hasta el profundo, con un aumento significativo en la zona adyacente a la Membrana de Descemet. En esto coinciden varios autores aunque las cifras en valores absolutos son un tanto dispares (Tabla 1) (Patel et al, 1999; Hahnel et al, 2000; Berlau et al, 2002). En general podemos decir que el estroma medio tiene un 70 % del número de células del estroma anterior y el posterior un 50% (Tabla 2) (Gráfico 1).

	Estroma anterior	Estroma medio	Estroma posterior
Patel 1999	47.072 ± 1.348	35.497 ± 2.164	27.873 ± 2.664
Berlau 2002	24.320 ± 6.740	11.980 ± 4.090	11.510 ± 3.960

**Tabla 1:** Número de queratocitos según autores por mm<sup>3</sup>



**Gráfico 1:** comparación entre el tamaño celular y el número de queratocitos.

%	Estroma anterior	Estroma medio	Estroma posterior
Tamaño celular	100	91.4	167.1
Número queratocitos	100	70.9	53.7

**Tabla 2:** Comparación entre la densidad queratocitaria y el volumen de los queratocitos en tres zonas estromales en relación al estroma anterior (Hahnel 2000).

Una de las causas que se ha barajado para justificar la existencia de estas tres poblaciones queratocitarias ha sido la diferente concentración de oxígeno que puede llegar a cada capa así como su diferente actividad metabólica ya que la actividad mitocondrial es mayor en la capa subepitelial seguida de la profunda, para encontrarse la menor actividad a nivel de la córnea central. La misma correlación se ha encontrado con el metabolismo de los proteoglicanos donde la concentración de keratansulfato, que es formado por queratocitos en condiciones anaerobias, es mayor en zonas profundas. En cambio, el condroitin sulfato, creado en condiciones aerobias es mayor en zonas superficiales.

La matriz extracelular también tiene un rol activo en la regulación ya que al interactuar con las integrinas de membrana, señales bioquímicas son enviadas a los queratocitos modulando su actividad. Por ello se cree que diferentes composiciones en el matriz extracelular influirán en la existencia de las diferentes poblaciones.

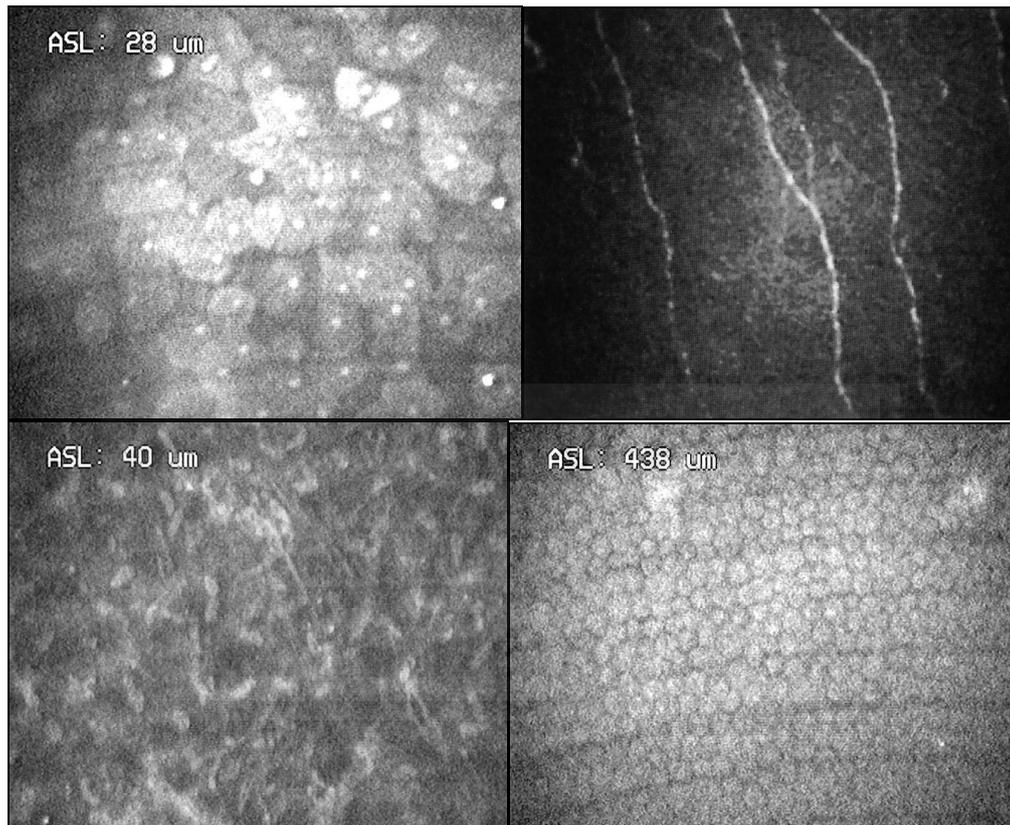
También la existencia de fuerzas de presión y estiramiento corneales pueden influir en las diferentes morfologías y densidad celular.

En el estroma anterior y medio, es posible visualizar fibras nerviosas procedentes del plexo corneal profundo con un tamaño de 3 a 5 veces mas gruesas que la fibras del plexo subepitelial y que habitualmente aparecen aisladas, viéndose en ocasiones sus bifurcaciones en forma de  $\delta Y \delta$ . Suelen medir entre 8 a 20  $\mu\text{m}$  y suelen estar ausentes en el estroma profundo (Oliveira-Soto, 2001).

#### **1.4.3.2.4. Endotelio**

Es fácilmente identificable pues aparece como una monocapa compuesta por células hexagonales o poligonales homogéneamente brillantes y sin núcleo visible (Figura 17). Los bordes celulares se aprecian bien definidos, finos y sin reflectividad. En corneas adultas la media del área de las células endoteliales es de  $334 \pm 51 \mu\text{m}^2$  (rango 273 - 553) y su densidad media de  $3055 \pm 386$  células /  $\text{mm}^2$  (rango 1809 - 3668) (Mustonen, 1998).

La membrana de Descemet no es posible identificarla en córneas normales aunque si se puede ver en determinadas patologías como la distrofia polimorfa posterior o en el glaucoma congénito primario.



**Figura 17:** Imágenes al microscópio confocal del epitelio corneal (arriba-izquierda); Plexo basal subepitelial (arriba-derecha); Estroma anterior con sus queratocitos (bajo-izquierda); Endotelio (bajo-derecha).

### **1.4.3.3. Uso de la Microscopía Confocal en el estudio de la cicatrización corneal tras la cirugía refractiva**

#### **1.4.3.3.1. Microscopía confocal y PRK**

##### **1.4.3.3.1.1. Evaluación preoperatoria**

La Microscopía Confocal puede ser utilizada en el preoperatorio como técnica para descartar algún tipo de patología microscópica que no puede ser valorada con una exploración de rutina a nivel biomicroscópico. En ocasiones se pueden diagnosticar patologías corneales en estados incipientes como una cornea guttata, distrofias, disminución en la densidad de queratocitos, alteraciones en la inervación, en la matriz colágena, que pueden hacer que determinadas técnicas de cirugía refractiva sean contraindicadas ante la posibilidad de complicaciones postquirúrgicas evitables. Pero al tratarse de una técnica costosa, su generalización como técnica exploratoria de rutina es prácticamente inviable.

##### **1.4.3.3.1.2. Alteraciones en el postoperatorio temprano**

En las primeras 24 horas tras la PRK se pueden ver diferentes alteraciones que varían en intensidad dependiendo de la profundidad de la ablación y del tiempo de la misma. Es decir, relacionadas con el defecto refractivo a corregir. En el lecho estromal se observa una fina capa de tejido opaco de reflectividad intermedia en donde los queratocitos apenas pueden ser diferenciados de una matriz extracelular que aparece homogénea. La mayoría de estos queratocitos están necróticos con bordes mal definidos y alteraciones morfológicas evidentes. La matriz extracelular aparece edematosa, con pérdida de su transparencia adquiriendo un tono grisáceo. Esta capa de queratocitos necróticos y en apoptosis mide entre 25 y 100 micras de espesor dependiendo de la ablación. Tras esta capa, el aspecto del estroma es normal aunque en ocasiones se pueden ver como estrías entre las lamelas corneales del tejido extracelular y algo de edema. Estas son interpretadas como micropliegues. Como ya hemos comentado, pueden aparecer alteraciones en las células endoteliales que aparecen edematosas.

Este lecho corneal será reconstruido a partir de queratocitos activados del estroma inmediatamente posterior, siendo el futuro sitio donde los procesos de cicatrización y regeneración nerviosa van a tener lugar (Moller-Pedersen, 1998).

La apoptosis queratocitaria podría representar el mayor estímulo para la cicatrización posterior, estando implicada en la activación queratocitaria, transformación miofibroblástica y la consecuente formación del haze (Moller-Pedersen, 1998).

#### **1.4.3.3.1.3. Cicatrización corneal**

##### **1.4.3.3.1.3.1. Cicatrización epitelial**

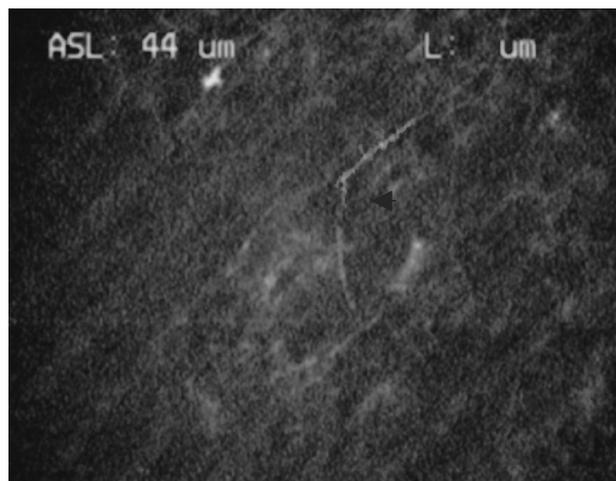
Durante la PRK el epitelio corneal es eliminado de manera mecánica, química o mediante ablación con el propio láser excímer. Tras esto, la membrana de Bowman y parte del estroma anterior es ablacionado mediante el láser excímer. Unas horas más tarde comienza a reepitelizarse a partir de la periferia corneal completándose el proceso en 3 o 4 días. (Kourenkov et al, 1999). Complejas interacciones entre interleukinas, como el factor de crecimiento hepatocitario (HGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y factor de crecimiento epidérmico (EGF), integrinas y receptores celulares son necesarios para regular la epitelización corneal. Durante las primeras horas la división celular aparece confinada a las células límbicas y cuando la zona desepitelizada ya es recubierta por una fina capa de células epiteliales, comienza la formación de diferentes capas celulares ya a partir de las células basales para recuperar el espesor corneal normal sobre las seis semanas. Este frente migratorio desde la periferia produce una nueva membrana basal en un corto periodo de tiempo, aunque la membrana de Bowman se regenera más tarde. (Fagerholm, 2000).

#### 1.4.3.3.1.3.2. Regeneración nerviosa

Durante la PRK el plexo nervioso subepitelial y los nervios estromales anteriores son ablacionados. Una semana después ya comienzan a aparecer las primeras fibras nerviosas subepiteliales (Linna, 1997) aunque otros autores las observan al mes de la cirugía (Frueh, 1998) o incluso dos meses (Kauffmann, 1997).

La reinervación comienza desde la perifería corneal en forma de finas ramas y se cree que el plexo subepitelial está más o menos formado alrededor de los 6 - 8 meses (Kauffmann, 1997) pero ramas anormales siempre son visibles (Figura 18). En cualquier caso, la regeneración nerviosa tras la PRK es rápida posiblemente debido a la denominada inflamación neurogénica y a la interacción de las fibras seccionadas con los factores neurotróficos liberados por el epitelio en regeneración.

Como consecuencia de la pérdida inicial de las fibras nerviosas aparece una disminución de la sensibilidad corneal en el área tratada entre el primer mes y el tercero, para luego recuperarse a niveles normales (Tervo, 1994). Hay autores que no aprecian diferencias en la sensibilidad corneal central ya en el primer mes tras la cirugía (Kumano, 2003).



**Figura 18:** fibras nerviosas anómalas 7 años tras la PRK.

### 1.4.3.3.1.3.3.Cicatrización estromal

El proceso de cicatrización estromal es el responsable del aspecto final anatómico de la cornea y el resultado refractivo, proceso en el cual están implicados varios mecanismos. La respuesta inflamatoria, la actividad queratocitaria, la organización de las láminas de colágeno, el engrosamiento estromal y la formación de nuevas fibras de colágeno, son mecanismos que contribuyen a este proceso.

Según Durrie (Durrie et al, 1995), la respuesta cicatricial que ocurre en pacientes miopes intervenidos con PRK puede ser de tres tipos:

- Normal : buen resultado anatómico y refractivo
- Inadecuada: tienden a la hipercorrección
- Excesiva: aparece haze y regresión.

Como ya hemos comentado anteriormente, tras la cirugía fotorrefractiva aparece una capa acelular en el lecho corneal, que se extiende 50 o más micras en el estroma anterior causada por la muerte de los queratocitos. Esta desaparición queratocitaria en el lecho no ablacionado se cree debida a un fenómeno de apoptosis, que es lo mismo que decir a una muerte celular programada (Wilson, 1996). El estroma anterior comienza a regenerarse días mas tarde a partir de los queratocitos activados subyacentes que migran hacia el lecho estromal ablacionado en las primeras tres semanas tras la cirugía. Estos queratocitos activados también se asocian a un aumento de la matriz extracelular. En general se cree que la apoptosis inducida quirúrgicamente, la proliferación queratocitaria, la activación y la posterior transformación en miofibroblastos, son fenómenos que regulan tanto el proceso normal de cicatrización como la aparición de haze (Kauffmann, 1996; Moller-Pedersen, 1998; Bohnke, 1998).

Generalmente estos procesos de cicatrización tienen lugar más intensamente en el estroma anterior entre el primer mes y el tercero, apareciendo el estroma medio y posterior inalterado. Incluso en pacientes con corneas claras, este proceso de cicatrización que aparece en el estroma anterior con aparición de queratocitos activados, alteraciones en las fibrillas de colágeno y aumento de la matriz

extracelular también es visible hasta más allá de 30 meses (Linna, 1997) entre los 30-50 micras del estroma anterior (Bohnke, 1998), aunque existe una disminución de estos procesos a partir de los 6 -10 meses (Fagerholm, 2000).

En presencia de una cicatrización inadecuada, lo que aparece es una disminución en cuanto a la aparición de queratocitos activados, una disminución de su migración hacia el lecho ablacionado y una producción pobre de matriz extracelular. Cuando lo que aparece es justo lo contrario, estamos ante una cicatrización exagerada con la aparición de haze .

#### **1.4.3.3.1.3.4. Haze**

El Haze forma parte del proceso de cicatrización corneal que ocurre tras los procesos de cirugía refractiva mediante láser excímer (Figura 19). Se describe como una opacidad a nivel subepitelial y en estroma anterior de diferente intensidad y profundidad, que como manifestaciones clínica da lugar a halos, deslumbramiento, alteración de la sensibilidad al contraste y en casos extremos, disminución de la agudeza visual.

En procesos refractivos como la PRK, la existencia de trazas de haze es un proceso bastante frecuente, pero sólo pacientes con una cicatrización corneal agresiva, presentan un haze clínicamente significativo (Durré et al, 1995). Se ha demostrado que este fenómeno más que estar directamente relacionado con la profundidad de la ablación, lo está con la pendiente de la superficie corneal ablacionada, por lo que en los últimos tiempos se ha tendido a conseguir zonas de ablación de diámetros mayores para disminuir su incidencia (Corbett, 1996).

Existen diferentes grados de haze en la práctica clínica (Artola et al, 1997):

- Grado 0: Cornea clara
- Grado 1: Trazas. Opacidades sólo visibles con iluminación tangencial
- Grado 2: Medio. Opacidades apenas visibles con iluminación directa
- Grado 3: Moderado. Opacidad que altera la visibilidad de detalles del iris
- Grado 4: Severo. Impide la visualización de las estructuras de la cámara anterior

En diferentes estudios se ha visto que el haze es mayor a los seis meses tras la fotoablación (Durrie et al, 1995) y que comienza a disminuir en los siguientes 12 - 24 meses (Fagerholm, 2000) aunque en determinados casos puede ser visto como una modificación permanente. Su evolución puede ser modificada mediante tratamiento médico tópico con corticoides (Arshinoff et al, 1996; Baek et al, 1997) aunque diferentes fármacos siguen hoy en estudio.

Con la Microscopía Confocal se ha evidenciado que el proceso de cicatrización normal y la aparición de haze, son fenómenos que coexisten en el tiempo y que su intensidad depende de cada caso en particular, según sea el tipo de cicatrización personal, la refracción previa, el tratamiento medico empleado y el postoperatorio en general. Con este método se pueden estudiar varios parámetros del haze:

- Profundidad
- Cuantificarlo. Medir su densidad
- Evaluar sus componentes celulares, acelulares y nerviosos
- Hacer un seguimiento en el tiempo

- Profundidad

En la mayoría de casos con haze tras la PRK, éste se localiza entre las 60 a 150 micras de profundidad desde la superficie corneal. Así con la función CMTF, se puede medir tanto su profundidad como su grosor en micras. Esto es de crucial importancia si queremos tratarlo mediante una queratectomía fototerapéutica.

- Densidad

Su densidad es medida indirectamente por el pico de reflectividad luminosa que se obtiene mediante el estudio de enfoque completo de la cornea (CMTF). (Möller-Pedersen et al, 1997)

- Fisiopatología

Los elementos microscópicos que dan lugar a este fenómeno no se conocen del todo pero la presencia de queratocitos activados y la síntesis de nuevo colágeno que anatómicamente se estructura de manera anómala, está claramente documentado.

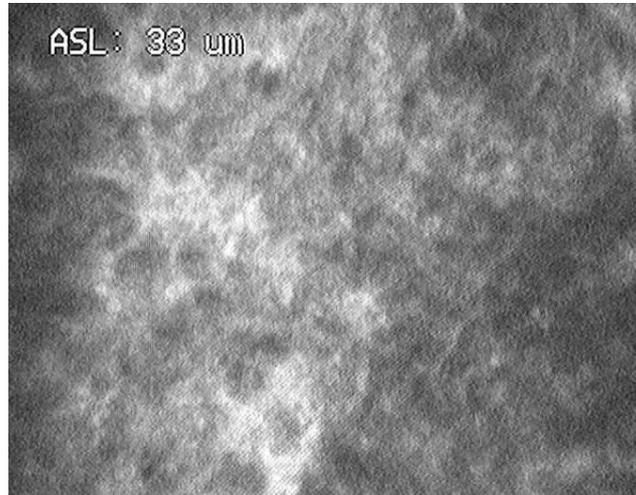
También se ha manifestado la importancia de la interrelación entre el epitelio y la superficie estromal ablacionada (Moller-Pedersen et al, 1998, 2000; Fagerholm, 2000).

En general se puede resumir que tras la ablación del láser, se produce una activación queratocitaria que es la encargada de repoblar el lecho estromal. Estos queratocitos sufren una transformación en miofibroblastos que son responsables de la formación de nuevo colágeno. Este colágeno del tipo III y IV se deposita de manera anómala creando el haze. Cuando el estímulo es demasiado intenso, sólo se advierte la presencia de este colágeno y matriz extracelular creando una superficie acelular hiperrefringente que dará lugar a haze clínico.

Las capas estromales inmediatamente posteriores a este haze presentan una morfología normal, y en la misma interfase en casos de haze grado 1-2, se aprecian placas de haze junto con zonas con queratocitos activados y presencia de matriz extracelular. En casos normales, el grado de haze es máximo a los 2-5 meses disminuyendo a lo largo del tiempo. En 1997, Moller-Pedersen y colaboradores fueron quienes por primera vez y utilizando el microscopio confocal, correlacionaron y midieron el grado de haze a nivel clínico y microscópico (Moller-Pedersen et al, 1997).

- Seguimiento

Se puede mediante el estudio de enfoque completo (CMTF) hacer un seguimiento del haze a lo largo del tiempo, viéndose como éste disminuye a medida que pasan los meses tras el tratamiento refractivo, ya sea de manera natural o en casos de haze moderado-severo tras la instauración de tratamiento médico.



**Figura 19:** Haze al mes de la cirugía mediante PRK.

#### Haze y reepitelización

Como ya hemos comentado, la reepitelización corneal tarda en completarse unos 3 o 4 días tras la PRK. Cuando esta reepitelización se retrasa, se ha comprobado que la existencia de haze subepitelial es mucho más frecuente (Kourenkov et al, 1999).

#### **1.4.3.3.2. Microscopía confocal y Lasik**

Con el Microscopio Confocal podemos estudiar la interfase, el lecho estromal y sus procesos cicatriciales, medir las diferentes capas corneales incluyendo el grosor del flap, así como la regeneración nerviosa que ocurre tras la cirugía lamelar.

#### **1.4.3.3.2.1. Estudio del lecho estromal y medición del flap.**

La medición in vivo del grosor del flap tiene gran importancia para entender la biomecánica y la cicatrización corneal tras esta técnica refractiva. Sabemos que flaps finos tienen mayores riesgos de complicaciones, tales como desplazamiento del mismo, pliegues, roturas y cortes incompletos e irregulares. Estos últimos, causados en su mayoría por una deficiente succión del microqueratomo, pueden llevar a complicaciones refractivas y mecánicas importantes. También conocemos que flaps gruesos, tras los cuales se realizan ablaciones extensas, pueden dejar un lecho estromal más fino de lo aconsejado (menor de 250 micras) dando lugar a una de las complicaciones más temidas en todo proceso lasik, como es la ectasia posterior.

Múltiples estudios demuestran que los microqueratomos no siempre crean flaps de la medida deseada, sino que habitualmente crean flaps más finos de lo planeado y sólo en ocasiones más gruesos, dependiendo del plato del microqueratomo empleado, queratometría y paquimetría previas (Yildirim et al, 2000; Durairaj et al, 2000; Vesaluoma et al, 2000). La razón para esta discrepancia no se conoce pero se sugiere que el edema corneal que ocurre durante la succión corneal por el microqueratomo, así como los procesos cicatriciales posteriores tienen algo que ver en los resultados. Destacar también que flaps más finos, se acompañan de una mayor reflectividad del estroma anterior debido a los queratocitos activados y al depósito de matriz extracelular más frecuente en estos casos (Vesaluoma et al, 2000).

El flap es fácilmente medible ya que la interfase se distingue perfectamente en la microscopia confocal, como luego diremos. Para una buena medida, diferentes barridos de superficie a profundidad son realizados, así el error de los movimientos oculares puede ser minimizado. También sabemos que sus resultados pueden ser reproducibles ya que los resultados pueden ser comparados a los medidos con otras técnicas, como los paquímetros ultrasónicos, la tomografía de coherencia óptica, el Orbscan, etc (Durairaj et al, 2000; Reinstein et al, 2000; Maldonado et al, 2000).

La medición del estroma residual cobra gran importancia sobre todo a la hora de los retratamientos, y se mide desde la interfase hasta el endotelio. Este estroma no debe de medir nunca menos de 250 micras para mantener la arquitectura corneal y no tener problemas de ectasia, aunque hay autores que propugnan no cifras concretas sino lechos residuales no menores de las dos terceras partes del grosor corneal inicial (Seiler et al, 1998; Geggel y Talley, 1999; Burato y Brint, 1999; Naroo y Charman, 2000; Iskander et al, 2000, 2001; Menezo y Güell, 2001; Alió et al, 2002; Ou et al, 2002; Rao et al, 2002).

Sabemos que la activación queratocitaria en el lecho estromal es mayor en los primeros días tras el LASIK. También que en los 2-6 meses siguientes, la densidad queratocitaria en el estroma anterior (dentro del flap) es menor que en la cornea antes de la cirugía (hasta un 40% menos ). Esto se cree debido a un proceso de apoptosis, de necrosis relacionada con la acumulación de células inflamatorias y a la pérdida de comunicación entre los queratocitos y las terminaciones nerviosas seccionadas (Wilson 1996). La población queratocitaria posterior sigue estando constante aunque cierto grado de activación queratocitaria también puede ser observado en el estroma posterior contiguo a la interfase (Vesaluoma et al, 2000; Linna, 2000).

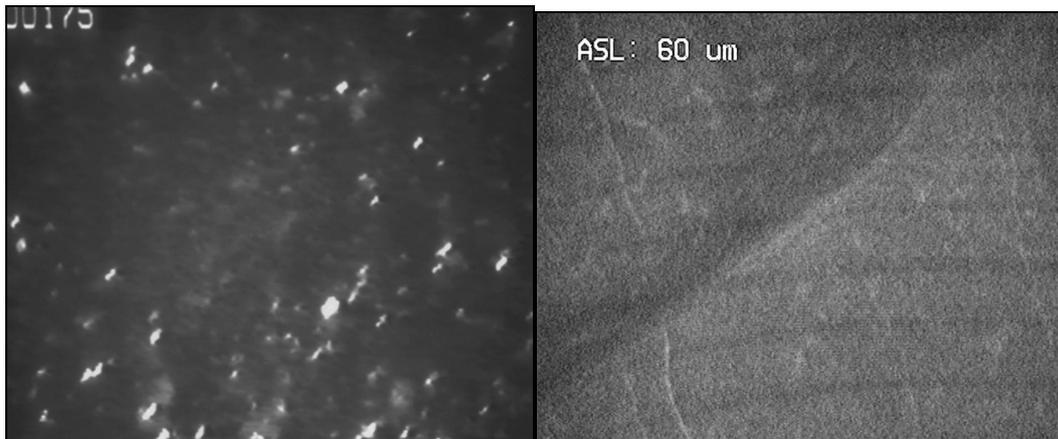
A pesar de que los primeros signos de regeneración nerviosa en la herida del LASIK pueden apreciarse ya en la 1ª semana mediante microscopía confocal in vivo en la zona de la bisagra, el epitelio no es reinervado por completo hasta los 6 ó 8 meses (Kauffmann et al, 1997), y la morfología normal de los nervios subepiteliales y estromales, en cambio, puede no ser alcanzada nunca (Linna, 2000). Esto se acompaña de una disminución de la sensibilidad corneal clínicamente significativa hasta los tres meses, a partir del cual comienza a mejorar dicha sensibilidad permaneciendo disminuida a los seis meses pero ya de forma no significativa, para alcanzar niveles normales en más de un 82.1% de los pacientes a los 12 meses tras la cirugía (Kumano et al, 2003). Todos sabemos que la restauración anatómica tras el LASIK es mejor que con la técnica PRK, pero la recuperación de la sensibilidad es mucho más lenta.

#### **1.4.3.3.2. Estudio de la interfase**

La morfología de la interfase así como los procesos cicatriciales que están envueltos en la regresión refractiva como en el haze, son factores importantísimos para el resultado refractivo final tras la cirugía LASIK.

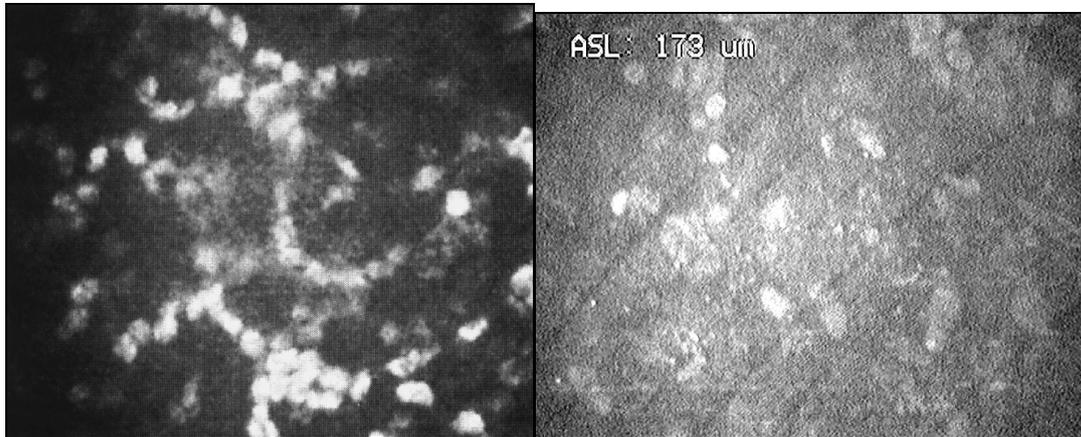
Con esta técnica, tanto el epitelio como el estroma anterior corneal son respetados, lo cual hace que los procesos de cicatrización corneal y regeneración sean menos agresivos que en la PRK. Es precisamente la interfase un punto imprescindible de estudio para entender bien los cambios morfológicos que acontecen tras la cirugía.

Las alteraciones que aparecen en la interfase en casos no complicados, generalmente comprenden unas 15-50 micras de espesor. Se observa una disminución de los queratocitos a este nivel, así como partículas hiperrefringentes y estrías oscuras llamadas micropliegues. Las partículas, que se aprecian en todos los casos intervenidos, son probablemente de origen exógeno y provenientes en su mayoría de la cuchilla del microqueratomo (partículas metálicas) (Figura 20), pero también aparecen otras que se creen partículas de picnosis. Son estas últimas las que desaparecen a lo largo de los tres primeros meses tras la cirugía. Los micropliegues, que se observan en el 96.8% de los pacientes con la microscopía confocal, son visibles a nivel de la membrana de Bowman y sólo en el caso de que sean abundantes y marcados, afectan a la transparencia corneal (Vesaluoma et al, 2000; Linna et al, 2000) (Figura 20).



**Figura 20:** Partículas en la interfase (izquierdas) y micropliegue (derecha).

Las complicaciones postoperatorias de la interfase incluyen la queratitis lamelar difusa (DLK), queratitis infecciosas, crecimiento epitelial y opacidades (Alió et al 2000) (Figura 21). La queratitis lamelar difusa es quizá la más frecuente y consiste en una inflamación en el postoperatorio temprano de causa alérgica o tóxica. Se caracteriza clínicamente por la existencia de múltiples infiltrados difusos confinados en la interfase que parecen ser células mononucleares y granulocitos (Buuhren et al, 2001). Recientemente se ha demostrado que los pacientes en los que existen defectos epiteliales tienen mayor riesgo de padecerla (Shah et al, 2000).



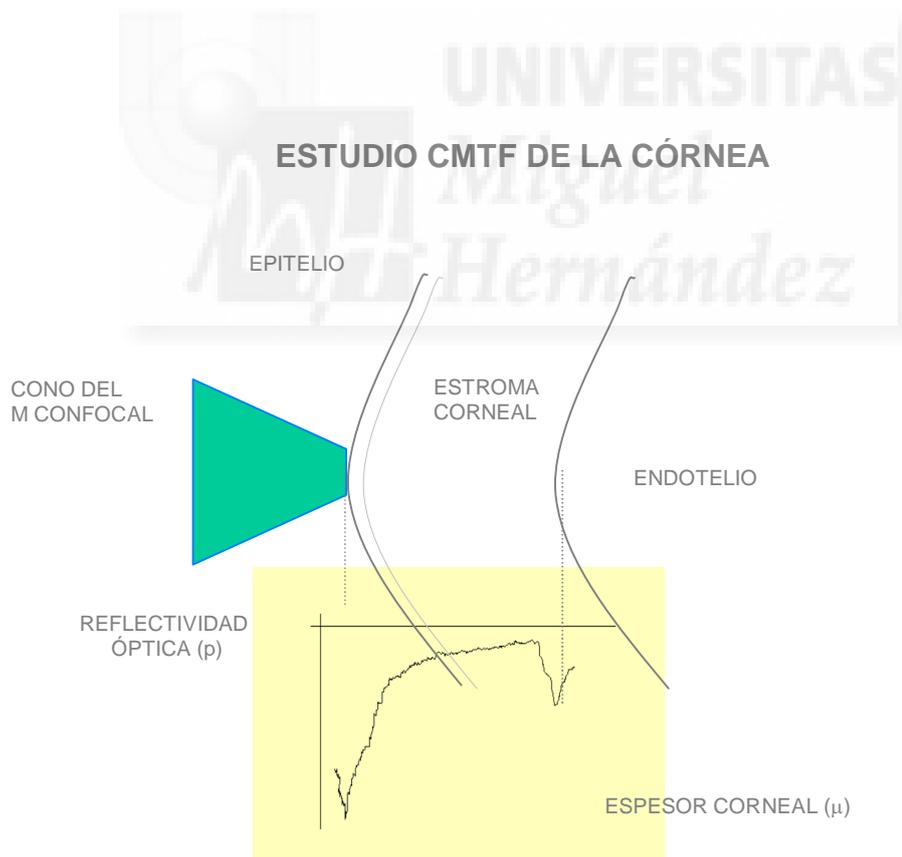
**Figura 21:** Células mononucleares y granulocitos en una DLK (izquierda); crecimiento epitelial en la interfase (derecha).

#### 1.4.3.4. Microscopía confocal cuantitativa de enfoque completo (CMTF)

Enfocando la córnea de parte a parte (en todo su espesor) a alta velocidad se puede obtener un perfil de intensidad luminosa en el eje Z (en profundidad). Esta técnica, recientemente llamada microscopía confocal de enfoque completo (CMTF), está basada en la observación de que las diferentes subcapas de la córnea generan distintas intensidades reflectivas cuando se usa el MC. Ha sido desarrollado un software para analizar la reflectividad luminosa en cada punto analizado de la córnea. En este estudio se realiza un barrido continuo a través del eje z en todo el espesor de la córnea en un punto concreto del plano sagital, comenzando en el epitelio y llegando hasta la monocapa endotelial. Durante el barrido CTMF, el plano de enfoque avanza a una velocidad de  $64 \mu\text{m} / \text{seg}$ , de tal forma que cada barrido dura unos 10 segundos.

Este método ha sido utilizado en varias ocasiones (Moller-Pedersen, 1997, 1998, 2000; Li, 1997) y sabemos que tiene un elevado grado de confiabilidad, ya que se han calculado coeficientes de variación de un 1% y 6% para medidas del espesor epitelial y corneal respectivamente (siendo el coeficiente de variación  $CV = \text{desviación standard} / \text{media}$ ) en pacientes operados de PRK (Moller-Pedersen, 2000).

Los perfiles de intensidad luminosa de la imagen grabada en cintas de vídeo durante el análisis CTMF son calculados en el centro de cada una de las imágenes obtenidas, promediando la intensidad en píxels y representándose los datos en una gráfica bidimensional en la que el eje horizontal representa el espesor corneal (o sea, el eje z del barrido) y el vertical la intensidad luminosa reflectiva calculada (Figura 22).



**Figura 22:** estudio de enfoque completo de la cornea con el M. Confocal.

## Aplicaciones del estudio CMTF

### **1.4.3.4.1. Paquimetría de alta precisión**

Como todos los puntos de la curva CMTF se correlacionan directamente con imágenes de alta resolución, la posición exacta en el eje Z de estructuras concretas como la superficie epitelial, el plexo nervioso subepitelial y el endotelio pueden ser utilizadas para calcular la distancia entre subcapas corneales individuales de forma precisa.

En el perfil de la curva, los dos picos mayores corresponden al epitelio superficial y al endotelio. El grosor corneal puede ser medido con exactitud calculando la distancia en el eje z entre ambos picos.

El perfil de intensidad del CMTF muestra también pequeños picos correspondientes a plexo nervioso subbasal epitelial y a la capa anterior de queratocitos. Así, la interfase epitelio ó estroma fue definida en los ojos no operados como la posición del eje z en la que aparecía el plexo nervioso subepitelial.

En ojos intervenidos mediante LASIK, la microscopía confocal ha permitido determinar que el grosor del flap creado es siempre algo inferior al deseado. Así, utilizando un microqueratomo calibrado para crear un corte de 160  $\mu\text{m}$  de espesor, autores de nuestro grupo de investigación han encontrado un grosor medio de entre un 20-30% inferior al deseado (Vesaluoma et al, 2000).

### **1.4.3.4.2. Cuantificación objetiva del haze corneal**

Este cálculo puede ser realizado hallando el área del pico subepitelial correspondiente en la imagen obtenida mediante el análisis CMTF, generada por el incremento en la reflectividad luminosa. La cifra obtenida combina información correspondiente al espesor de la zona de haze (anchura del pico) y su intensidad (altura del pico) y es expresada de forma arbitraria en unidades ( $U = \mu\text{m} \times \text{intensidad luminosa en pixels}$ ) (Li HF, 1997; Moller-Pedersen et al, 1997, 1998, 2000).

El análisis CMTF de córneas operadas de PRK ha permitido realizar a algunos autores (Li 1997) determinadas observaciones de gran interés:

- El grado de haze medido de forma objetiva mediante CMTF se correlaciona significativamente con las estimaciones biomicroscópicas subjetivas, pero con un mayor grado de sensibilidad.
- El grado de haze se correlaciona estrechamente con la profundidad de la fotoablación, pero no con la intensidad de la regresión refractiva, lo cual sugiere que ambos óregresión y haze- son causados por mecanismos diferentes: mientras la reaparición del defecto miópico está relacionada con el reengrosamiento estromal (dependiente de la aportación de matriz extracelular), el incremento en la reflectividad luminosa apreciado en los casos con haze dependería directamente del grado de activación celular, siendo las propias células las causantes del fenómeno.

En el caso del LASIK, el grado de haze se correlaciona directamente con el espesor de la capa de queratocitos activados en el estroma anterior. Es interesante destacar que la intensidad del haze no se correlaciona con el número de partículas encontradas en la interfase pero sí con la existencia de flaps muy finos (Pisella et al, 2001).