



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE MEDICINA

Grado en Medicina

TRABAJO FIN DE GRADO

“Identificación de características histopatológicas del epitelio corneal en el queratocono.”

**Presentado por María Palomares Morente
Tutelado por Dr. José Carlos Pastor Jimeno y
Dr. José Carlos López López**

RESUMEN

El queratocono es un término clínico usado para describir una entidad en la cual la córnea asume una forma cónica debido al adelgazamiento y protrusión.

Las diversas asociaciones con enfermedades sistémicas y oculares han llevado al desarrollo de muchas teorías sobre la etiología del queratocono. Sin embargo, la causa de este trastorno corneal todavía sigue siendo desconocida.

Esta evaluación histológica intentará dilucidar algo más sobre este proceso fisiopatológico y esclarecer si existen patrones distintos en el queratocono con el fin de establecer un diagnóstico más preciso de esta enfermedad.

Palabras clave

Queratocono, córnea, epitelio, histología, UHR-OCT

ABSTRACT

Keratoconus is a clinical term used to describe an entity in which the cornea assumes a conical shape due to thinning and protrusion.

The various associations with systemic and ocular diseases have led to the development of many theories about the etiology of keratoconus. However, the cause of this corneal disorder remains unknown.

This histological evaluation will try to explain something more about this pathophysiological process and to clarify if there are different patterns in keratoconus to establish a more accurate diagnosis of this disease.

Keywords

Keratoconus, cornea, epithelium, histology, UHR-OCT

ÍNDICE:

1. Introducción.....	página 3
2. Hipótesis.....	página 4
3. Objetivos.....	página 4
4. Material y métodos.....	página 4
5. Resultados.....	página 6
6. Discusión.....	página 11
7. Conclusiones.....	página 13
8. Bibliografía	página 15

1. INTRODUCCIÓN:

El queratocono es un término clínico usado para describir una entidad en la cual la córnea asume una forma cónica debido su adelgazamiento anormal y protrusión posterior.

En el estudio de cohortes realizado en habitantes de Olmsted County (Minnesota, Estados Unidos) (Kennedy *et al.*, 1986) la tasa de prevalencia global fue de 54,5 por 100.000 habitantes. Sin embargo, Godefrooij DA (Godefrooij *et al.*, 2017) estima la tasa de prevalencia del queratocono en la población general en 265 casos por 100.000 habitantes, que resultan ser de 5 a 10 veces mayores que los valores previamente reportados en otros estudios de población.

Este proceso comienza aproximadamente en la pubertad, donde la córnea comienza a adelgazar y sobresalir, dando lugar a un astigmatismo irregular. Típicamente, durante un período de 10 a 20 años, el proceso continúa hasta que la progresión se detiene gradualmente. La gravedad del trastorno puede variar desde un astigmatismo irregular muy leve hasta un adelgazamiento severo, protrusión y cicatrización que requiere queratoplastia. (Krachmer *et al.*, 2011)

Las diversas asociaciones con enfermedades sistémicas y oculares han llevado al desarrollo de muchas teorías sobre la etiología del queratocono. Sin embargo, la causa de este trastorno corneal sigue siendo un enigma. Es posible que sea consecuencia de varios procesos patológicos diferentes y de factores genéticos. (Krachmer *et al.*, 2011)

La patogenia tampoco está clara. Según la literatura, las alteraciones histológicas del epitelio y del estroma corneal podrían estar potencialmente involucradas en el proceso patológico del queratocono: Scroggs (Scroggs e Proia, 1992) demostró el adelgazamiento epitelial central en corneas queratocónicas; Bureau (Bureau *et al.*, 1993) señaló una mayor sensibilidad de los queratocitos de córneas con queratocono a la apoptosis inducida por citoquinas; Tuori (Tuori *et al.*, 1997) observó el estroma corneal distorsionado bajo las roturas de la membrana de Bowman.

Existen diversas modalidades de tratamiento según la gravedad y deformidad corneal. Las opciones terapéuticas pueden ser: corrección de la agudeza visual mediante gafas en etapas tempranas, lentes de contacto rígidas, anillos intraestromales, cross-linking (someter a la córnea a radiación ultravioleta para reforzar las uniones entre fibras colágenas y estabilizarlas) o queratoplastia en los estadios más avanzados y donde las otras opciones no ofrecen mejoría. (*Bravo, 2009*)

A día de hoy existen pocas publicaciones acerca de las alteraciones histológicas del queratocono. Podría ser útil realizar esta investigación para intentar dilucidar algo más sobre este proceso fisiopatológico y esclarecer si existen patrones distintos en el queratocono con el fin de realizar un diagnóstico más preciso de esta enfermedad y sobre todo para establecer una mejor correlación con las pruebas de imagen in vivo que se están popularizando en la clínica (OCT).

2. HIPÓTESIS

No todas las córneas queratocónicas tienen el mismo patrón epitelial y es posible encontrar patrones distintivos entre ellos.

3. OBJETIVOS

- Análisis descriptivo de los cambios encontrados en el epitelio de 25 córneas queratocónicas obtenidas mediante queratoplastia de pacientes diagnosticados en el IOBA.
- Contrastar los resultados obtenidos con los resultados publicados en la literatura.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron las preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina y PAS correspondientes a los botones corneales de pacientes con diagnóstico de queratocono que han requerido una queratoplastia penetrante.

Para ello se realizó una búsqueda en la base de datos del Laboratorio de Anatomía Patológica del Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de todas las córneas diagnosticadas como queratocono entre los años 2008-2014 y se seleccionaron 25 casos.

Las muestras se trataron de manera anonimizada utilizando como referencia el número de biopsia asignado a cada córnea.

Se realizó una evaluación histopatológica de las siguientes características morfológicas:

- Medición del espesor total de la córnea en micras a nivel de la porción central y en la periferia de los cortes histológicos. Se utilizaron botones corneales de 9 mm, considerando como periferia la zona de 1mm de cada uno de los extremos y el centro un intervalo de 3 mm en la parte central de cada corte.
- Medida del grosor del epitelio corneal en micras a nivel de la porción central y en la periferia.
- Contaje del número de capas epiteliales a nivel de la porción central y en la periferia. Si había una diferencia de 3 capas celulares se clasificó como "Moderada-grande", una discrepancia de 2 capas celulares fue clasificado como "Ligera-moderada" y <2 capas fue considerado "No diferencias".

Se valoraron además los siguientes hallazgos:

- Presencia de hipertrofia o atrofia epitelial.
- Aparición de cambios hidrópicos (edema) a nivel del epitelio y extensión de estos cambios.
- Presencia de roturas en la membrana de Bowman y contaje de las mismas.

Tratamiento estadístico:

Dadas las características de este trabajo, se utilizará únicamente estadística descriptiva.

5. RESULTADOS

Los resultados obtenidos del conteo del número de capas celulares, tanto en el centro como en la periferia, así como su respectiva comparación se recogen en la *tabla 1*.

Los cambios hidrópicos (edema) a nivel del epitelio y la extensión de estos cambios, junto con el número de roturas en la capa de Bowman se recogen en la *tabla 2*.

El espesor total de la córnea central y periférica fue, en promedio, de 275,5 y 718 micras respectivamente, con un rango entre 164 y 453 micras en el espesor corneal central y entre 475 y 1020 micras en el espesor total de la córnea periférica. (*Tabla 3*)

El espesor del epitelio central obtuvo un valor medio de 41 micras, con un rango de 13 y 150 micras. En el espesor del epitelio corneal periférico se obtuvieron 40 micras medias con un rango de 19 y 74 micras. (*Tabla 4*)

En la clasificación de “No diferencias” se agruparon 8 muestras (32%), en “Ligeras-moderadas diferencias” 9 muestras (36%) y en “Moderadas-grandes diferencias” 8 muestras (32%).

Se midió el espesor epitelial central y periférico medio en cada grupo y se obtuvo en la categoría “No diferencias” 37,8 micras en el central y 37,9 micras en el periférico. No hay apenas cambios entre el centro y la periferia, por lo que existe un patrón en el queratocono, al que se ha denominado patrón 2, donde el centro y la periferia corneal tienen el mismo grosor.

En el grupo “Ligeras-moderada diferencias” se obtuvieron de media 61’7 micras de epitelio central y 34’6 micras de media en el epitelio periférico. En este conjunto de muestras se ha observado una hipertrofia del centro epitelial, lo que se ha denominado patrón 1.

En el grupo de “Moderadas-grandes diferencias” se midieron de media 21 micras en el epitelio central y 48’1 en el epitelio periférico corneal. Se observó una atrofia central en este conjunto de muestras, que se ha denominado patrón 3.

REFERENCIA DE BIOPSIA	NÚMERO DE CAPAS EN EL CENTRO	NÚMERO DE CAPAS EN LA PERIFERIA	DIFERENCIA ENTRE EL CENTRO Y LA PERIFERIA
09B109	3	5	Ligera-Moderada
09B125	3	5	Ligera-Moderada
10B9	6	4	Ligera-Moderada
10B56	6	4	Ligera-Moderada
10B75	1	4	Moderada-Grande
10B97	1	4	Moderada-Grande
10B145	2-3	4-5	Ligera-Moderada
11B16	3-4	3-4	No diferencias
11B75	1	4	Moderada-Grande
11B76	4	4	No diferencias
11B77	2	5	Moderada-Grande
11B104	4	5	No diferencias
11B106	4	4-5	No diferencias
11B112	3-4	3-4	No diferencias
12B46	2	5	Moderada-Grande
12B89	5	3	Ligera-Moderada
12B109	5	3	Ligera-Moderada
12B133	3	5	Ligera-Moderada
12B134	2	5	Moderada-Grande
12B156	4	5	No diferencias
12B164	1	4	Moderada-Grande
12B169	3-4	3-4	No diferencias
12B175	1	4-5	Moderada-Grande
12B177	5	3	Ligera-Moderada
12B180	4	4-5	No diferencias

Tabla 1

REFERENCIA DE BIOPSIA	ROTURAS EN CAPA DE BOWMAN	EDEMA Y LOCALIZACIÓN
09B109	≥ 5	Focal en capa basal
09B125	< 5 (3)	Focal en capa basal
10B9	< 5 (2)	Focal en capa basal
10B56	< 5 (2)	Bulla subepitelial en la periferia
10B75	< 5 (4)	Focal en capa basal
10B97	≥ 5	Bulla subepitelial
10B145	< 5 (3)	Focal en capa basal y bullas subepiteliales
11B16	0	Ulceración del epitelio
11B75	< 5 (4)	Focal en capa basal
11B76	< 5 (3)	No edema
11B77	< 5 (1)	Focal en capa basal
11B104	0	Bulla focal subepitelial
11B106	< 5 (3)	Focal en capa basal y bullas subepiteliales
11B112	< 5 (2)	Focal en capa basal
12B46	0	No edema
12B89	0	Bulla subepitelial
12B109	0	Bulla focal subepitelial
12B133	< 5 (2)	Focal en capa basal
12B134	5	Focal en capa basal
12B156	0	Focal en capa basal
12B164	0	Focal en capa basal
12B169	< 5 (2)	Focal en capa basal
12B175	< 5 (2)	Focal intraepitelial
12B177	< 5 (3)	No edema
12B180	0	Bulla subepitelial

Tabla 2

REFERENCIA DE BIOPSIA	ESPELOR TOTAL C3RNEA CENTRAL (μm)	ESPELOR TOTAL C3RNEA PERIF3RICA (μm)
09B 109	263	654
09B 125	165	599
10B 9	350	615
10B 56	238	940
10B 75	270	707
10B 97	164	558
10B 145	397	875
11B 16	230	750
11B 75	235	788
11B 76	225	545
11B 77	174	567
11B 104	305	828
11B 106	194	675
11B 112	340	745
12B 46	255	755
12B 89	345	835
12B 109	350	475
12B 133	290	940
12B 134	185	625
12B 156	453	1020
12B 164	320	720
12B 169	330	535
12B 175	201	780
12B 177	288	645
12B 180	320	775
Media	275,5	718
D. Est3andar	74,3	137,3
M3nimo	164	475
M3ximo	453	1020

Tabla 3

REFERENCIA DE BIOPSIA	ESPEJOR EPITELIO CORNEAL CENTRAL (µm)	ESPEJOR EPITELIO CORNEAL PERIFÉRICO (µm)
09B 109	50	40
09B 125	42	34
10B 9	150	43
10B 56	80	53
10B 75	13	48
10B 97	30	57
10B 145	50	36
11B 16	31	30
11B 75	21	74
11B 76	29	23
11B 77	18	53
11B 104	38	41
11B 106	32	35
11B 112	55	49
12B 46	25	44
12B 89	36	28
12B 109	32	26
12B 133	43	19
12B 134	17	32
12B 156	34	40
12B 164	17	37
12B 169	39	35
12B 175	27	40
12B 177	72	32
12B 180	44	50
Media	41	40
D. Estándar	27,3	11,8
Mínimo	13	19
Máximo	150	74
Tabla 4		

En la siguiente tabla se clasificaron las referencias de biopsia según su patrón correspondiente:

PATRÓN 1	PATRÓN 2	PATRÓN 3
09B 109	11B 16	10B 75
09B 125	11B 76	10B 97
10B 9	11B 104	11B 75
10B 56	11B 106	11B 77
10B 145	11B 112	12B 46
12B 89	12B 156	12B 134
12B 109	12B 169	12B 164
12B 133	12B 180	12B 175
12B 177		

6. DISCUSIÓN:

Aunque la mayoría de las fuentes coinciden en que el queratocono es una enfermedad de la capa estromal, Chi et al. (1956) presentó evidencias de la contribución epitelial a esta patología ocular y Teng (1963) postuló que el origen se encontraba en el epitelio, encontrando que los cambios más precoces aparecían en la capa de células basales del epitelio. (Mathew *et al.*, 2011)

Kaldawy et al. observaron interrupciones en la integridad del epitelio basal en el queratocono. (Sherwin e Brookes, 2004)

Duke Elder ya había descrito en 1965 el adelgazamiento corneal en el ápice del cono desde la mitad a una quinta parte de sus dimensiones normales y las rupturas en la capa de Bowman en los casos más avanzados. (Sherwin e Brookes, 2004)

Sherwin (Sherwin e Brookes, 2004) recogió tanto datos de adelgazamiento del epitelio central, como de aumento del grosor del epitelio, e incluso de casos sin diferencias en el grosor epitelial respecto a corneas control. Sin embargo, en el estudio de Jay C. Erie (Erie *et al.*, 2002) no se

encontraron diferencias de grosor epitelial entre córneas control y queratocónicas.

Brautaset (Alkanaa *et al.*, 2017) afirma que en el queratocono disminuye el espesor de todas las capas corneales con respecto a córneas control.

Mathew JH (Mathew *et al.*, 2011) estudió 12 botones corneales de córneas queratocónicas, obtenidas ocho por queratoplastia penetrante y cuatro por queratoplastia lamelar profunda, observando que en ningún caso la córnea periférica se veía afectada sin que existiera afectación de la porción central.

En las muestras analizadas en este trabajo, el espesor epitelial fue bastante variable tanto para la región central como la zona periférica, lo que permitió clasificar las muestras según la diferencia existente entre el número de capas celulares entre el centro y la periferia en tres grupos: “No diferencias”, “Ligeras-moderadas diferencias” y “Moderadas-grandes diferencias”.

Se han encontrado tres patrones diferentes en el epitelio de la córnea queratocónica: hipertrofia del centro epitelial corneal, mismo espesor del epitelio en el centro y la periferia corneal y atrofia del centro epitelial corneal.

El diagnóstico del queratocono se realiza mediante la sospecha clínica y biomicroscopía, pero estos detectan casos muy avanzados. La topografía corneal se ha convertido en una herramienta indispensable para el diagnóstico precoz y seguimiento de la enfermedad. (Pauné *et al.*, 2009)

Las modalidades de imagen in vivo, como la microscopía confocal, los ultrasonidos y la tomografía de coherencia óptica (OCT), reflejan anomalías corneales en pacientes con queratocono, mejorando la evaluación y diagnóstico precoz de la enfermedad. (Xu *et al.*, 2016)

La OCT es una técnica de imagen in vivo donde se realizan cortes del espesor corneal, aunque en la actualidad carece de la resolución necesaria para poder estudiar las capas del epitelio corneal. Trabajos como el presente pueden contribuir a incrementar la correlación clínica de los hallazgos de la OCT, ya que la mejora de estas técnicas de imagen está siendo exponencial.

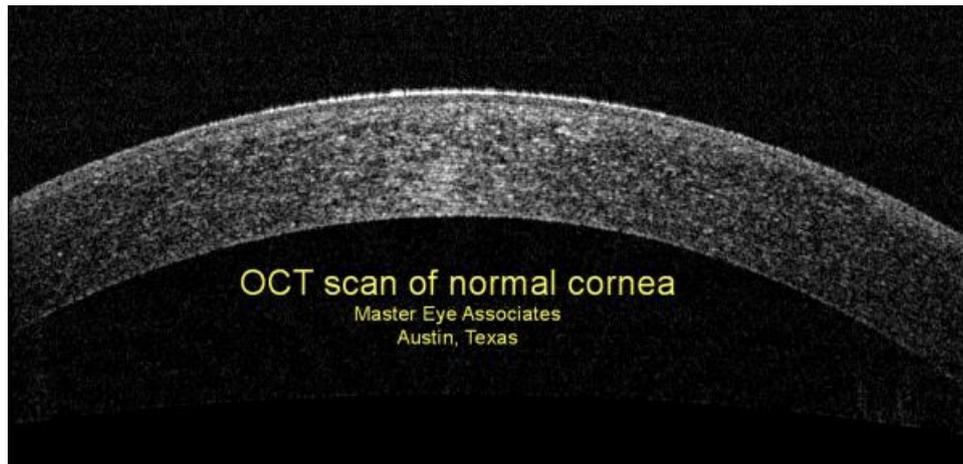


Imagen de córnea normal obtenida por OCT

Se ha descrito el denominado patrón en donut que es debido al adelgazamiento del epitelio en el centro y engrosamiento en la periferia, el cual se detecta con la Tomografía de Coherencia Óptica de Alta Resolución (UHR-OCT) (Xu *et al.*, 2016) la cual ayudaría en la toma de decisiones y seguimiento en la práctica clínica diaria (Werkmeister *et al.*, 2017), pues detecta córneas con queratocono subclínico que presentarían topografías normales. Los índices basados en el espesor epitelial y la capa de Bowman obtenidos mediante UHR-OCT serían capaces de poner en evidencia algunos queratoconos subclínicos en corneas aparentemente normales. (Xu *et al.*, 2016)

Los hallazgos histológicos encontrados en este estudio podrían ser detectados en las pruebas de imagen con OCT de Alta Resolución (UHR-OCT).

7. CONCLUSIONES:

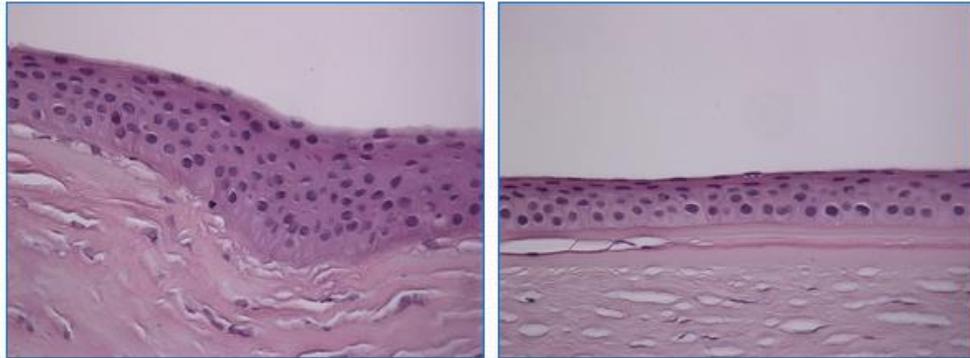
Tras el análisis de los resultados se pudieron agrupar los casos en los siguientes patrones en función de las diferencias entre el epitelio corneal a nivel central y la periferia:

PATRÓN 1: Hipertrofia del centro epitelial corneal.

9/25 (36%)

Media epitelio central: 61'7 μm

Media epitelio periférico: 34'6 μm



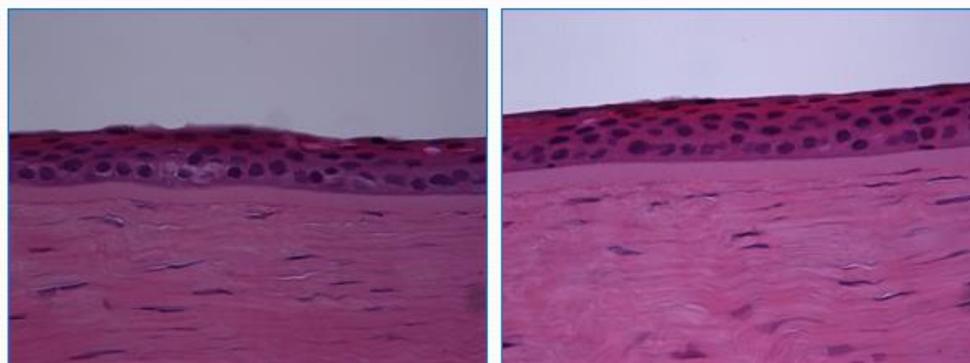
Patrón 1: Córnea central (izquierda) con 7 capas celulares. Córnea periférica (derecha) con 5 capas celulares.

PATRÓN 2: Mismo espesor epitelial en el centro y la periferia corneal.

8/25 (32%)

Media epitelio central: 37.8 μm

Media epitelio periférico: 37.9 μm



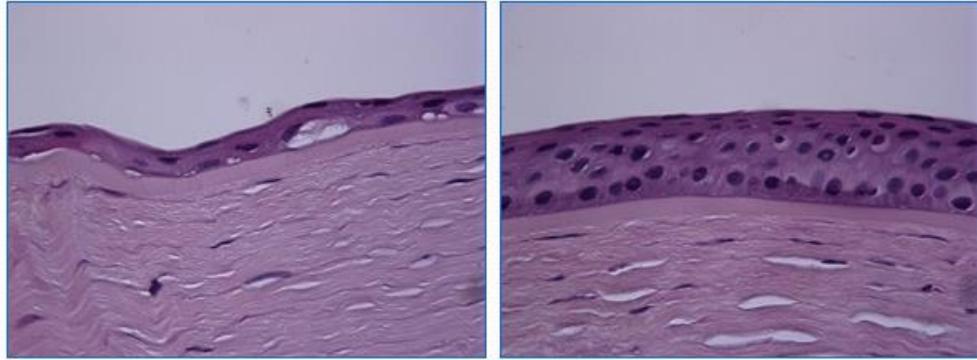
Patrón 2: Córnea central (izquierda) con 4 capas celulares. Córnea periférica (derecha) con 4 capas celulares.

PATRÓN 3: Atrofia del centro epitelial corneal.

8/25 (32%)

Media epitelio central: 21 μm

Media epitelio periférico: 48.1 μm



Patrón 3: Córnea central (izquierda) con 2 capas celulares y edema focal en capa basal. Córnea periférica (derecha) con 5 capas celulares.

Debido a que en la literatura estos patrones no se habían descrito con anterioridad, creemos que los hallazgos histopatológicos encontrados en este trabajo podrían aportar una nueva vía en el diagnóstico precoz por imagen de esta patología.

Además, la detección de estos patrones mediante técnicas de imagen de alta resolución (UHR-OCT) podría ser muy útil para poder clasificar a estos pacientes en función de su evolución clínica.

8. BIBLIOGRAFÍA

- KENNEDY, R. H.; BOURNE, W. M.; DYER, J. A. A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus. **Am J Ophthalmol**, v. 101, n. 3, p. 267-73, Mar 1986.

- GODEFROOIJ, D. A. et al. Age-specific Incidence and Prevalence of Keratoconus: A Nationwide Registration Study. **Am J Ophthalmol**, v. 175, p. 169-172, Mar 2017.
- KRACHMER, J. H.; MANNIS, M. J.; HOLLAND, E. J. **Cornea**. 3rd. St. Louis, Mo.: Mosby/Elsevier, 2011.
- SCROGGS, M. W.; PROIA, A. D. Histopathological variation in keratoconus. **Cornea**, v. 11, n. 6, p. 553-9, Nov 1992. ISSN 0277-3740.
- BUREAU, J. et al. Modification of prostaglandin E2 and collagen synthesis in keratoconus fibroblasts, associated with an increase of interleukin 1 alpha receptor number. **C R Acad Sci III**, v. 316, n. 4, p. 425-30, 1993.
- TUORI, A. J. et al. The immunohistochemical composition of corneal basement membrane in keratoconus. **Curr Eye Res**, v. 16, n. 8, p. 792-801, Aug 1997. ISSN 0271-3683.
- BRAVO, SM. Una revisión del queratocono. **Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular**, v. 7, n.1. p.95-106, Enero - junio 2009.
- MATHEW, J. H.; GOOSEY, J. D.; BERGMANSON, J. P. Quantified histopathology of the keratoconic cornea. **Optom Vis Sci**, v. 88, n. 8, p. 988-97, Aug 2011.
- SHERWIN, T.; BROOKES, N. H. Morphological changes in keratoconus: pathology or pathogenesis. **Clin Exp Ophthalmol**, v. 32, n. 2, p. 211-7, Apr 2004.
- ERIE, J. C. et al. Keratocyte density in keratoconus. A confocal microscopy study(a). **Am J Ophthalmol**, v. 134, n. 5, p. 689-95, Nov 2002.
- ALKANAAN, A. et al. Ultrastructural study of peripheral and central stroma of keratoconus cornea. **Br J Ophthalmol**, Apr 2017.
- PAUNÉ FABRÉ, J. et al. Índices actuales en la detección del queratocono por análisis dela topografía corneal. **Gaceta Óptica**, n. 436, p. 22-26, 2009.

- XU, Z. et al. Value of corneal epithelial and Bowman's layer vertical thickness profiles generated by UHR-OCT for sub-clinical keratoconus diagnosis. **Sci Rep**, v. 6, p. 31550, Aug 2016.
- WERKMEISTER, R. M. et al. Ultrahigh-resolution OCT imaging of the human cornea. **Biomed Opt Express**, v. 8, n. 2, p. 1221-1239, Feb 2017.