

January 2011

Crosslinking del colágeno corneano por técnica convencional y transepitelial para queratocono

Carlos Augusto Alfonso Rojas

Universidad del Sinú. Clínica Oftalmológica de Cartagena, doctoralfonso@hotmail.com

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/svo>



Part of the [Eye Diseases Commons](#), [Optometry Commons](#), [Other Analytical, Diagnostic and Therapeutic Techniques and Equipment Commons](#), and the [Vision Science Commons](#)

Citación recomendada

Alfonso Rojas CA. Crosslinking del colágeno corneano por técnica convencional y transepitelial para queratocono. *Cienc Tecnol Salud Vis Ocul.* 2011;(2): 131-142.

This Artículo de Investigación is brought to you for free and open access by the Revistas científicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in *Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular* by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Crosslinking del colágeno corneano por técnica convencional y transepitelial para queratocono

Corneal Collagen Crosslinking through Conventional and Transepithelial Technique for Keratoconus

CARLOS AUGUSTO ALFONSO ROJAS*

RESUMEN

El *crosslinking* corneano es una técnica para el tratamiento del queratocono que incrementa la rigidez corneana con su fortalecimiento, mediante la fotopolimerización de las fibras del colágeno estromal. Este efecto se logra a través de la fotooxidación, que se presenta en el estroma al liberarse O², por la fototestimulación de sustancias sensitivas (riboflavina al 0,1%) al someterse a exposición de radiación ultravioleta controlada (UVA 3mW/cm²). Para permitir el paso de la macromolécula de riboflavina al estroma, con el *crosslinking* convencional es necesario efectuar desepitelización de la córnea en una área entre 9 mm de diámetro y entre 50 a 60 micras de profundidad. Esta desepitelización se ha asociado con dolor y mayor riesgo a infecciones postratamiento, por lo que recientemente se han propuesto vehículos farmacológicos como la carboximetilcelulosa o el cloruro de benzalconio, que abren la membrana epitelial debilitando las uniones celulares y logrando permitir el paso, la absorción y la difusión al estroma de la riboflavina con preservación del epitelio; esta técnica se denomina *crosslinking* corneano transepitelial. Son escasos los estudios realizados a nivel mundial y no se referencia ninguno en Suramérica. En optometría, mantener el epitelio podría permitir el remodelamiento corneal por orthokeratología acelerada inmediatamente posterior al tratamiento, logrando disminuir la curvatura corneal cónica de manera estable y sin regresión, por lo que el trabajo interdisciplinario y multidisciplinario podría ofrecer al paciente con queratocono mayores beneficios terapéuticos y funcionales.

Palabras clave: queratocono, *crosslinking* corneal, *crosslinking* transepitelial, riboflavina.

ABSTRACT

Corneal crosslinking is a keratoconus treatment technique that increases corneal rigidity by strengthening it through the photopolymerization of stromal collagen fibers. This effect is achieved through photo-oxidation, which takes place in the stroma after O² is released through the photostimulation of sensitive substances (Riboflavin at 0.1%) after submitting to controlled ultraviolet radiation (UVA 3mW/cm²). In order to let the Riboflavin molecule into the stroma with conventional crosslinking, it is necessary to de-epithelize the cornea in an area with a diameter of 9 mm, and which is also 50 to 60 microns deep. Seeing as this deepithelization has been associated to pain and higher risk of post-treatment infections, pharmacological vehicles such as carboximetilcelulose or benzalkonium chloride have been recently suggested, as they open up the epithelial membrane, weakening cell junctions and allowing passage, absorption and diffusion of the Riboflavin into the stroma, while at the same time preserving the epithelium; this technique is called transepithelial corneal crosslinking. Few studies have been performed in the world and there are no references to the study being performed in South America. In optometry, keeping the epithelium could allow corneal re-shaping through accelerated orthokeratology immediately after treatment, managing to decrease the conical corneal curvature in a stable, not reverting way, reason why interdisciplinary and multidisciplinary work could offer more therapeutic and functional benefits to patients with keratoconus.

Keywords: Keratoconus, Corneal Crosslinking, Transepithelial Crosslinking, Riboflavin.

*Estudiante Maestría en Ciencias de la Visión, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia. Optómetra, Universidad de La Salle. Docente de posgrado en Oftalmología, Universidad del Sinú, Colombia. Jefe del Departamento de Optometría Clínica Oftalmológica de Cartagena, Colombia.

INTRODUCCIÓN

El queratocono es una enfermedad degenerativa no inflamatoria de la córnea, que es progresiva en el 20% de los casos y se caracteriza clínicamente por adelgazamiento corneal de predominio central o paracentral inferior, aumento progresivo de la curvatura corneal, miopía, astigmatismo irregular y protrusión apical cónica (Barraquer, de Toledo y Torres, 2004). La prevalencia del queratocono se reporta aproximadamente de 1:2000 en la población general (Kennedy, Bourne y Dyer, 1986; Rabinowitz, 1998); en Colombia se presenta en un 27% de la población según el informe presentado por el Dr. Eduardo Arenas MD, en el congreso sobre consensos de guías clínicas de la Sociedad Colombiana de Oftalmología (2009).

Son múltiples los factores genéticos, histológicos y bioquímicos que intervienen en la aparición y la progresión de la ectasia, en la cual a nivel genético su presentación más común es la esporádica, pero se describen mecanismos de herencia autosómicos dominantes y recesivos (Grunauer-Kloeyevokorn y Duncker, 2006), con una transmisión familiar entre el 6 al 23,5% (Wang et ál., 2000; Bisceglia, Ciaschetti y de Bonis, 2005). Son múltiples los genes que se han relacionado con el queratocono, identificándose principalmente el gen VSX1 y el SOD1; adicionalmente la alteración de los genes COL4A3 y COL4A4 podrían ser los responsables del detrimento en el colágeno tipo I y III que componen en gran parte la córnea, siendo esta una de las principales características que a menudo se encuentra en el queratocono (Stabuc-Silih et ál., 2010); sin embargo, se considera que se necesitan más estudios para determinar los genes responsables (Liskova et ál., 2010). A nivel histológico se han observado cambios en la estructura del colágeno corneal (Tuori et ál., 1997; Cheng et ál., 2001) y su organización (Radner et ál., 1998) en la matriz intercelular que la conforma (Kenney et ál., 1997), asociándose con apoptosis (Wilson y Kim, 1998) y necrosis de los queratocitos (Kaldawy et ál., 2002) que involucran al estroma central anterior y a la capa de Bowman's (Scroggs y Proia, 1992).

A nivel bioquímico se presenta un incremento en la actividad de la metaloproteinasas (MMP-2 y 9), con disminución de el factor de necrosis tumoral TNF α -1 (Smith y Easty, 2000) y alteración en la interleukina-6 (Lema y Durán, 2005), lo cual genera el debilitamiento típico de la estructura de la córnea (figura 1).

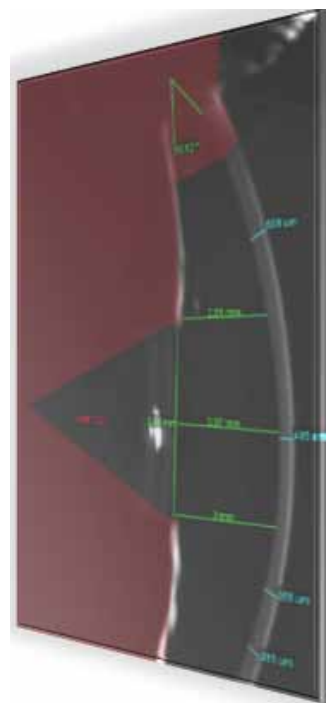


FIGURA 1. Queratocono por tomografía óptica por Scheimpflug con Galilei®

Actualmente los tratamientos no quirúrgicos para el queratocono parten desde anteojos para los grados más bajos, hasta lentes de contacto para los grados moderados y avanzados (Fatima et ál., 2010), ofreciendo una mejora visual significativa y la disminución de las aberraciones de alto orden responsables de la reducción de la calidad óptica de la córnea. En los últimos años, a nivel quirúrgico para queratoconos progresivos, son más comunes las aplicaciones de nuevas opciones terapéuticas que pueden ser por adición de tejido como es el caso del implante de anillos intraestromales (Siganos et ál., 2001) o tratamientos fotoquímicos como el *crosslinking* con riboflavina y radiación ultravioleta (UVA) (Spoerl et ál., 1997), los cuales tienen como objetivo principal la detención o la

disminución de la progresión de la ectasia a grados más severos en los que se necesite un trasplante corneal.

CROSSLINKING DEL COLÁGENO CORNEANO

En la última década, uno de los procedimientos propuestos más novedosos para detener el debilitamiento de la córnea en el queratocono ha sido el entrecruzamiento y el fortalecimiento de las fibras de colágeno corneano o *crosslinking* con riboflavina y luz ultravioleta (CXL), método por el cual se logra el reforzamiento estructural de la córnea mediante estimulación y aumento de las fibras del colágeno estromal. El *crosslinking* fue propuesto como opción terapéutica desde hace diez años por el Dr. Theo Seiler en la Universidad de Desdre (Alemania), en donde con el tratamiento se aprovechan las características biomecánicas y bioelásticas de la córnea (Spoerl et ál., 1997) en usos terapéuticos como en la detención del queratocono (Agrawal, 2009), la ectasia iatrogénica poslasik (Mackool, 2007) y la degeneración marginal pelúcida. Asimismo, el *crosslinking* es aplicado en la recuperación terapéutica de la queratopatía bullosa sintomática (Benevides et ál., 2009), la disminución del edema corneano por falla endotelial (Cordeiro et ál., 2010) y recientemente ha sido estudiado su eficacia *in vitro* como antimicótico al ser combinado con amfotericina B (Sauer et ál., 2010).

RIBOFLAVINA

Dentro de los medicamentos que se utilizan durante el procedimiento se encuentra la riboflavina (C₁₇H₂₀N₄O₆) como sustancia fotoactivadora, la cual se caracteriza por ser una vitamina hidrosoluble e hidrofílica de coloración naranja amarillenta, fluorescente con la luz azul cobalto y fotoreactiva con iluminación de luz tipo LED (Light-Emitting Diode) a un pico de absorción máximo de 370 nm, por lo que le permite liberar radicales libres al ser fotoestimulada con UVA (365 a 370 nm) y

fomentar la formación de nuevas uniones de las fibras de colágeno estromal. De manera general se podría mencionar que la riboflavina fue aislada por primera vez en 1879 por el químico inglés A. Wynter Blyth, quien en sus estudios sobre la composición de la leche de la vaca la identificó inicialmente como lactatocromo, por ser un compuesto amarillo brillante; pero solo cincuenta años después de su descubrimiento se tuvo algún avance sobre su importancia, la cual se dio a partir de comienzos del siglo XX por su reconocimiento como componente del complejo vitamínico B₂, al ser identificada y comprobada su estructura por la síntesis química casi al mismo tiempo por Richard Kuhn en Heidelberg, y por Paul Karrer en Zúrich (Massey, 2000).

La riboflavina es considerada una vitamina multifuncional ya que desempeña un papel importante en la bioquímica, especialmente en las reacciones de reducción-oxidación (redox), debido a su posibilidad de participar de uno y dos electrones de transferencia, lo que le permite actuar como fotosensibilizador. Su baja ingesta se ha relacionado con diferentes enfermedades como las cardiovasculares y el cáncer. Se cree que la riboflavina contribuye al estrés oxidativo debido a su capacidad de producción de superóxido, pero también puede promover la reducción de peróxidos de hidrógeno. A nivel biológico, en el *crosslinking* la riboflavina es un fotoactivador eficiente con una sensibilidad característica a la radiación UV, ya que al absorber la luz alcanza un estado de excitación triple que le permite interactuar con el oxígeno molecular, generando oxígeno atómico (mecanismo de tipo II) o interactuar directamente sobre un sustrato formado y la fotooxidación de este, con la consiguiente generación de radicales intermedios (mecanismo de tipo I), formando especies reactivas del oxígeno como el anión superóxido, el hidroxilo radical y el peróxido de hidrógeno (Santos de Souza et ál., 2005).

Para el *crosslinking* la riboflavina al 0,1% está preparada junto con el dextrán al 20% (H(C₆H₁₀O₅)_xOH), el cual se caracteriza por ser un polisacárido rami-

ficado, constituido por muchas cadenas de glucosa unidas en cadenas de longitud variable, y es usado en medicina como antiplaquetario, reductor de la viscosidad de la sangre y en la realización de estudios o pruebas bioquímicos de los laboratorios por ser considerado un potente agente osmótico. En el *crosslinking* su función principal es la estabilización osmolar y el mantenimiento del espesor de la córnea durante el procedimiento, puesto que evita la hidratación estromal que es verificada con la paquimetría corneana con una medida no menor a 400 μm , pero si es mayor a este valor el dextrán no se debe usar y solo participa la aplicación de la riboflavina para rehidratar la córnea y aumentar el espesor hasta lograr el valor mínimo de 400 μm .

RADIACIÓN ULTRAVIOLETA A (UVA)

La activación de la riboflavina al 0,1% + dextrán al 20% se da por exposición a radiación UVA (3 mW/cm^2 o $5,4 \text{ mJ/cm}^2$), en la cual se ha estudiado el efecto de esta última sobre el ojo, por lo que *in vitro* se ha demostrado que este tipo de luz se absorbe en las córneas intactas aproximadamente en un 30% y en el cristalino en un 50% (Spoerl, Huhle y Seiler, 1998), lo que significaría que en córneas que han sido preparadas para *crosslinking* con riboflavina, la UVA se absorbe en un 95% al exponerse a un nivel de radiación de 3 mW/cm^2 , que sería exponer veinte veces menos a la radiación el endotelio, con un remanente de exposición de $0,15 \text{ mW/cm}^2$, que es una medida por debajo del umbral de citotoxicidad calculado en $0,36 \text{ mW/cm}^2$ para esta capa (Wollensack et ál., 2003a, 2004b).

MECANISMO DE ACCIÓN

El principio básico del *crosslinking* es el uso de la combinación de una sustancia fotosensitiva (riboflavina al 0,1% con o sin dextrán al 20%) y su estimulación por rayos de luz ultravioleta tipo A (UVA) (figura 2), lo que produce una fotopolimerización del estroma corneano, gracias a la fotooxidación y liberación de O^2 y radicales libres, que generan la formación de nuevos enlaces covalentes

dentro de las fibras del colágeno, permitiendo el efecto de entrecruzamiento o *crosslinking* corneal. Se maneja la hipótesis de la lisina como responsable del efecto (Wollensack y Redl, 2008), pero aún no se determinan los pasos precisos, debido a que no ha sido posible regresar al estado previo de formación de los nuevos enlaces del colágeno; sin embargo, se ha comprobado que el *crosslinking* genera varios efectos a nivel corneano, como el incremento en la rigidez del estroma (Wollensack, Spoerl y Seiler, 2003b), la histéresis y el factor de rigidez corneal (figura 3). También se han observado cambios en la conducta biomecánica y bioelástica del tejido (Vinciguerra et ál., 2010), como el engrosamiento de las fibras de colágeno del estroma corneano (Wollensack et ál., 2004a), la estabilidad del queratocono (Caparossi et ál., 2010) y diferentes cambios visuales, refractivos, topográficos y aberrométricos en el paciente (Tamer, 2009; Vinciguerra et ál., 2009).



FIGURA 2. Irradiación UVA con riboflavina en ojo con queratocono grado III

PROCEDIMIENTO CROSSLINKING CONVENCIONAL

Para realizar este procedimiento existe una técnica estándar o convencional, que se ejecuta en sala de cirugía y consta de varios pasos: inicialmente previa limpieza y asepsia del área ocular y periocular del

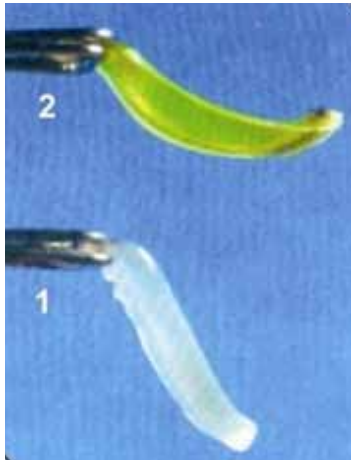


FIGURA 3. 1. Córnea sin *crosslinking*; 2. córnea con *crosslinking*

Fuente: <http://www.intralase.com.mx/queratocono/crosslinking.html>

ojo a tratar, se coloca un blefaróstato y se procede a la aplicación de dos o tres gotas de anestesia local tópica (benoxinato al 0,4%), para luego desepitelizar la córnea mecánica o químicamente, en un diámetro de 9 mm y a 50 o 60 micras de profundidad, con el objetivo de permitir el paso y la penetración estromal de la combinación de riboflavina al 0,1% con dextrán al 20% (Pinelli, 2007), como medicamento fotoactivador. Esta combinación se aplica con una frecuencia de una gota cada dos a tres minutos por treinta minutos (Coskunseven, Jankov y Hafezi, 2009), por lo que posteriormente por la técnica de biomicroscopía se realiza verificación de la absorción estromal y el paso a la cámara anterior del medicamento, el cual tiene un color característico de tono naranja-amarillento. Una vez verificado lo anterior, se

coloca la lámpara especial LED a la distancia estipulada según el equipo a usar, para empezar a irradiar con UVA (3 mW/cm^2) el estroma corneano, en un área de tratamiento de 8 mm, continuando con la aplicación del medicamento fotoactivador por el mismo tiempo y en la frecuencia en que se venía realizando. Posteriormente se retira la lámpara y se aplica un abundante lavado con solución salina balanceada, instilando luego un antibiótico (ciprofloxacina al 0,3%). Se finaliza colocando un lente de contacto blando con un fin terapéutico y protector del área desepitelizada, el cual es removido entre seis a ocho días después, lográndose una repitelización entre uno a tres días (figura 4) (Agrawal, 2009).

RESULTADOS

Diferentes reportes sobre *crosslinking* convencional han demostrado con sus resultados una disminución en diferentes mediciones del queratocono, así como en su equivalente esférico con $1,03 \pm 2,22 \text{ D}$ (rango: $-5,25$ a $+3,75 \text{ D}$), el astigmatismo corneano en $1,04 \pm 1,44 \text{ D}$ (rango: $-2,00$ a $+4,00 \text{ D}$), su máxima K en $1,57 \pm 1,14 \text{ D}$ (rango: $0,00$ a $3,90 \text{ D}$), el espesor corneano en $11 \pm 22 \mu\text{m}$ (rango: 248 a $49 \mu\text{m}$) y contrariamente a los anteriores datos, se ha mostrado un incremento de la agudeza visual (AV) sin corrección en $0,06 \pm 0,05$ (rango: $0,00$ a $0,20$) y la AV con corrección $0,10 \pm 0,14$ (rango: $-0,10$ a $0,34$) (Coskunseven, Jankov y Hafezi, 2009). La Academia Americana de Oftalmología en Chicago Feder (2010) (tabla 1) incluyó en su

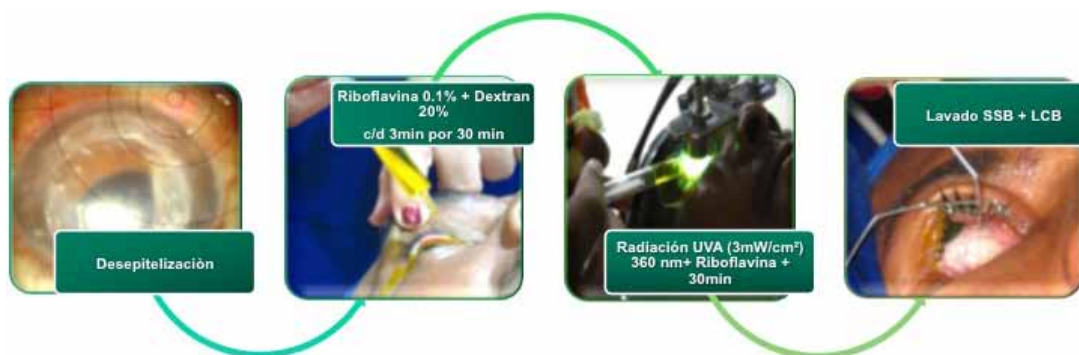


FIGURA 4. Pasos básicos para realización de CXL convencional

informe a la sociedad científica varios estudios de referencia en cuanto a otros resultados del *crosslinking*. El primer estudio es el de Wollensack, Spoer y Seiler (2003b), en el cual trataron veintitrés ojos con queratocono moderado y avanzado, con un seguimiento mayor a tres meses por cuatro años, y comprobaron que el 70% disminuyó, así como el poder corneal se redujo en 2,01 D y en 1,14 D en el poder refractivo. El segundo estudio de Caporossi et ál. (2010), en 44 ojos de pacientes entre diez a cuarenta años, con queratocono progresivo, promedio queratométrico, K promedio < 55,00 D, sin leucomas o estrías y un seguimiento por ≥ 4 años, reportó que la K promedio disminuyó en 2,00 D; la AV corregida incrementó en 1,9 líneas, así como la no corregida también lo hizo en 2,7 líneas de visión. El tercer estudio de referencia es el de Raiskup-Wolf (2008), que presentó en su reporte que de 488 ojos con queratocono progresivo, a 33 se les realizó seguimiento por tres años, observándose que la mayor curvatura corneana disminuyó en 4,84 D en el 78% de los participantes, con un incremento de ≥ 1 línea de visión mejor corregida en un 58%, donde un 29% de la población estudiada a los tres años se mantuvo estable sin pérdida o ganancia de la visión. Todo lo anterior corrobora que el *crosslinking* del colágeno corneano es un procedimiento que estabiliza y disminuye en cierto grado el queratocono.

TABLA 1. Tabla comparativa de resultados *crosslinkink* basada en presentación de Feder (2010)

AUTOR	AÑO	OJOS / SEGUIMIENTO	RESULTADO
Wollensack	2003	23 Seguimiento a cuatro años	70% estabilidad 2,01 D de aplanamiento 1,14 D de disminución en la RX
Caporossi	2010	44 Seguimiento cuatro años o más	65% estabilidad o mejora 2,00 D de aplanamiento
Raiskup-Wolf	2008	488 33 pacientes con seguimiento a tres años	78% aplanamiento promedio de 4,84 D

COMPLICACIONES

A pesar de que el *crosslinkink* se considera un tratamiento seguro, Koller, Mrochen y Seiler (2009) reportan que se genera una tasa de complicación aproximadamente del 1% en menores de 35 años. En su estudio con 117 ojos con un año de seguimiento, el 2,9% perdió dos o más líneas de visión, el 7,6% continuó con la progresión de la ectasia a pesar del tratamiento, el 7,6% presentó infiltrados estériles y el 2,8% cicatrices centrales estromales. En cuanto a complicaciones asociadas al tratamiento existen otros estudios que las reportan, en los que se ha evaluado el estado de la córnea y las conjuntivas por citología de impresión, en pacientes tratados con *crosslinking* y no tratados que se aplicaron riboflavina por un mes, observándose que a pesar de no existir una diferencia significativa en el resultado de la citología, sí se evidenciaba una leve disminución de las células caliciformes en la conjuntiva superior en los ojos tratados (Renesto, Barros y Campos, 2010). Otros estudios *in vitro* sobre la citotoxicidad de la terapia sobre los queratocitos han evidenciado que dicha toxicidad se puede esperar con irradiaciones de 0,5 mW/cm², que logran afectar las córneas humanas hasta en una profundidad de trescientas micras, como en el caso de la irradiación estándar de UVA de 3mW/cm² usada en *crosslinking* (Wollensack et ál., 2004a), relacionándose con una falta de homogeneidad de la radiación (Wollensack et ál., 2010), por lo que a nivel celular un factor importante a considerar es el posible daño endotelial, siendo estudiada en córneas de cerdo y de humanos la significancia de conservar el film de riboflavina en el procedimiento para mantener la homogeneidad de la radiación UVA sobre la superficie. Este estudio evaluó la penetración y la difusión de diferentes moléculas (metilcelulosa + riboflavina y cloruro de sodio + riboflavina sin dextrán) comparándolas con la estándar (riboflavina + dextrán), demostrando la importancia de mantener este film para lograr homogenización y correcta penetración de la radiación UV, con la posibilidad de riesgo de presentar daño endotelial, principalmente en los casos en los que fue usado el

cloruro de sodio + riboflavina para el *crosslinking*, por lo que se consideró que en córneas delgadas el mantener el epitelio favorecería que no tuviera una mayor penetrancia la radiación y no afectara el endotelio (Wollensak et ál., 2010).

Otras alteraciones se han reportado en pacientes con queratocono poslasiq examinados por microscopía confocal, en los que se evidenció apoptosis de los núcleos de los queratocitos en el estroma corneal anterior y medio junto con alteraciones del colágeno, observadas durante los primeros tres meses postratamiento, pero con repoblación gradual de los queratocitos durante los meses siguientes al tratamiento, con resultados similares en ojos con ectasia corneal tratados y no tratados con *crosslinking* poslasiq (Kymionis et ál., 2007). De la misma manera, una de las complicaciones presentes es el haze corneano, el cual se encuentra aproximadamente a 300 μ m (60%) de profundidad en el estroma superficial y se relaciona con la apoptosis de los queratocitos, ya que la disminución de la transparencia de la córnea se relaciona con la falla en la reparación del colágeno de esta, aunque también se ha asociado dicho haze con factores de riesgo en la selección del paciente, tales como los parámetros que definen la etapa del queratocono, el valor de la queratometría y el grosor de la córnea, siendo estos considerados como factores predictores para el posible desarrollo del haze después del *crosslinking*; sin embargo, esta opacidad puede disminuir su grado de afección durante el primer año (Koller, Mrochen y Seiler, 2009).

Es importante considerar que en el queratocono avanzado existe un riesgo mayor si el espesor corneal es bajo ($420,0 \pm 33,9 \mu$ m) y se ha relacionado con una alta curvatura corneal ($71,1 \pm 13,2$ D) (Raiskup, Hoyer, Spoerl, 2009), lo que aumenta la probabilidad de aparición del haze. Entre los casos clínicos de complicaciones encontrados en la literatura postratamiento se reporta una queratitis herpética con iritis en un paciente que no tenía antecedentes de esta enfermedad (Kymionis et ál., 2007b); la inducción de queratitis lamelar difusa, con antecedente de ectasia corneal posla-

sik (Kymionis et ál., 2007a), así como otro caso de infiltrados corneales estériles difusos en periferia (Angunawela, Arnalich-Montiel y Allan, 2009) y uno más de queratitis polimicrobial posterior al *crosslinking* por uso del lente de contacto (Zamora y Malles, 2009).

No es casual considerar que las complicaciones asociadas a agentes infecciosos puede relacionarse a la exposición del estroma durante el periodo de reepitelización por un área de desepitelización de gran diámetro (9 mm); asimismo el dolor y las molestias de las primeras 24 a 72 horas son significativas para el paciente. Sin embargo, es importante considerar que el tratamiento tempranamente puede parar la progresión del queratocono (Koller, Mrochen y Seiler, 2009), pero se debe mejorar la eficacia y la seguridad del *crosslinking* convencional, por lo que mantener el epitelio corneano ayudaría a disminuir el riesgo del procedimiento, que se podría lograr al aplicar modificaciones farmacológicas magistrales que permitan el paso de la riboflavina transepitelialmente, con ventajas significativas para el paciente como son la ausencia de dolor y de complicaciones, así como el rápido uso de los lentes de contacto nuevamente (Leccisotti e Islam, 2010).

CROSLINKING TRANSEPITELIAL

En busca de nuevas opciones que ofrezcan menos complicaciones y mayor seguridad, recientemente se han presentado investigaciones que soportan que es posible realizar el procedimiento preservando el epitelio corneano: estas van desde nuevas técnicas quirúrgicas hasta modificaciones farmacológicas que permiten el paso y la absorción de la riboflavina con el debido entrecruzamiento del colágeno corneano. Dentro de las técnicas quirúrgicas para la realización del *crosslinking* con preservación epitelial, se presentó un nuevo método de entrecruzamiento corneal con la implantación de un anillo flexible completo dentro de un bolsillo corneal, el cual es realizado a través de un túnel estrecho por el que la riboflavina, en vez de aplicarse en forma

de gotas sobre la superficie corneal después de la eliminación del epitelio como se realiza con la técnica convencional: se aplica en el bolsillo de la córnea sin necesidad de desbridamiento epitelial; aquí se reporta un caso de queratocono avanzado tratado de esta manera con un aumento en la AV no corregida en siete líneas de 0,05 a 0,25, y la lectura promedio central queratométrica disminuyó en once dioptrías; asimismo el haze durante el periodo posoperatorio inmediato disminuyó en el primer mes después de la cirugía (Daxer, Mahmoud y Venkateswaran, 2010).

Por otro lado, se proponen nuevas combinaciones de la riboflavina con sustancias como el cloruro de benzalconio (Kissner et ál., 2010) y la carboximetilcelulosa (Daxer, Mahmoud y Venkateswaran, 2010), que son sustancias que permiten el paso del medicamento al estroma sin necesidad de realizar la técnica invasiva de debridar el epitelio, gracias a su capacidad de abrir la membrana epitelial y permitir el paso de la riboflavina, denominándose esta técnica como *crosslinking* transepitelial (CXLT) (Baiocchi et ál., 2009; Pinelli, 2007; Wollensak et ál., 2010; Leccisotti e Islam, 2010), siendo considerado un tratamiento nuevo e innovador. Dentro de las moléculas propuestas para combinar con la riboflavina para *crosslinking* transepitelial se encuentra el cloruro de benzalconio (BAC) ($C_9H_{13}ClNR$), el cual a nivel general es una sal de amonio cuaternario, con actividad microbicida por su carácter catiónico, que al interferir con las membranas biológicas determina cambios en la estructura y la permeabilidad, siendo usado como conservante y excipiente en diferentes soluciones oftálmicas desde hace varios años en concentraciones desde el 0,0075% al 0,02%, como se ha hecho últimamente en combinaciones con riboflavina para la técnica transepitelial. Estudios experimentales en conejos han demostrado que usando una modificación farmacológica de la riboflavina con anestesia tópica y cloruro de benzalconio (BAC) se logra un incremento de la rigidez corneana después del *crosslinking* transepitelial en conejos del 21% versus el 102% con *crosslinking* convencional estándar, estimándose que para córneas humanas

el incremento de la rigidez con transepitelial sería del 64% versus el 320% con convencional (Wollensack e Iomdina, 2009). Sin embargo aún se desconoce que este resultado sea suficiente para inducir efectos clínicos (Leccisotti e Islam, 2010).

Por otro lado, estudios experimentales también en estos mismos modelos animales realizados por Kissner et ál. (2010) en la Universidad de Dresde (origen del *crosslinking*) en Alemania, han experimentado con modificaciones farmacológicas de cloruro de benzalconio para lograr el paso de la riboflavina manteniendo el epitelio y realizando el *crosslinking*; en este estudio se tomaron cuatro grupos: el grupo 1 con impregnación solo de riboflavina y dextrán, en los grupos 2 y 3 se combinó la riboflavina + dextrán con cloruro de benzalconio (BAC) al 0,02% y al 0,04% respectivamente, y por último al grupo 4 se le practicó *crosslinking* con técnica convencional (CXL). Los resultados demostraron que el grupo de BAC al 0,04% (grupo 3) fue el que presentó valores más cercanos al CLX convencional (grupo 4) en cuanto a la prueba de coeficiente de absorción BAC 0,04% ($35,0 \pm 7,9$) - CXL ($42,4 \pm 14,1$), valores de estrés BAC 0,04 ($1614,6 \pm 545,8$) - CXL ($1665,5 \pm 478,3$) y módulo de Young's BAC 0,04% ($48,9 \pm 26,2$) - CXL ($54,0 \pm 21,8$) entre otros; sin embargo, por la toxicidad del BAC y la proximidad de datos del grupo 2 de BAC al 0,02%, se concluye que esta concentración de BAC al 0,02% en combinación con riboflavina al 0,1% + dextrán al 20%, sin desepitelización, permite suficiente penetración y difusión estromal reflejada en el alto coeficiente de absorción ($30,2 \pm 8,6$) y el suficiente refuerzo corneano posterior al CXL, con un protocolo en este grupo de aplicación de la riboflavina al 0,1% + dextrán + BAC al 0,02% en intervalos de cada tres minutos por un periodo de treinta minutos, para continuar con la irradiación con UVA y la aplicación de riboflavina al 0,1% + dextrán al 20% pero sin BAC en el mismo intervalo y por el mismo periodo en que se realizó previamente; vale la pena resaltar que no se usó anestesia durante el procedimiento.

Son muy pocos los estudios a nivel mundial del *crosslinking* transepitelial (CXLT) en humanos; sin

embargo, Leccisotti e Islam (2010) han realizado este tipo de técnica en un grupo de 51 pacientes con queratocono, usando la combinación de la riboflavina al 0,1% + dextrán al 20%, con BAC al 0,01%, en la que se realizó CXLT en un ojo y en el otro se observó como grupo control, presentando como resultados que al año no progresó el queratocono y existía una relativa estabilidad pre y postratamiento en el ojo intervenido en cuanto a AV, equivalente esférico, ápice queratométrico, promedio de la queratometría simulada e índice de varianza de la superficie, con respecto al ojo de control que presentó progresión del queratocono y aumento de las variables anteriormente mencionadas.

La técnica para el *crosslinking* transepitelial descrita por Leccisotti e Islam (2010), explicada en una serie de casos, fue realizada de la siguiente manera (figura 5):

1. Suspender el uso de lentes de contacto por un mes antes de la evaluación y tratamiento.
2. Aplicación de Ribomicin gotas oftálmicas (Farmigea, Pisa, Italy), que contienen gentamicina 0,3%, EDTA 0,01% y cloruro de benzalconio al 0,01%, con instilación cada quince minutos por tres horas.
3. Aplicación de Oxybuprocaine al 0,4% gotas oftálmicas (preservada con p-hydroxybenzoate) (benoxinato cloridrato; Alfa Intes, Naples, Italy) instilada cada cinco minutos por treinta minutos.
4. Aplicación de una gota de Aceclidine para constricción de la pupila y la reducción de la radiación UVA al cristalino y la retina.

5. Aplicación de riboflavina al 0,1% solución en 20% de dextrán T500 (Ricolin; Sooft, Montegiorgio, Italy) y oxybuprocaine gotas oftálmicas fueron instiladas cada cinco minutos por treinta minutos.
6. Colocación de blefaróstato e irradiación con UVA en la región central de la córnea en 7,5 mm de diámetro por treinta minutos, con instilación de la riboflavina cada cinco minutos. Para la radiación UVA se utiliza CBM Vega X-Linker (Costruzione Strumenti Oftalmici, Florence, Italy), con chequeo preoperatorio con medidor UVA de $3\text{mW}/\text{cm}^2$. El equipo se enfoca en la región central de la córnea y el paciente fija un punto de luz pulsátil verde.

Al finalizar el tratamiento el ojo se lava con solución salina balanceada y se prescribe gentamicina tópica y lágrimas artificiales de hialuronato sin preservante (Hyalistil; Sifi, Lavinaio, Italy) con seguimiento a los 3 días, al 1,6 y 12° mes. Este estudio concluyó que el *crosslinking* transepitelial presentó un efecto limitado, menos pronunciado que el descrito en la literatura con *crosslinking* convencional; asimismo el transepitelial con cloruro de benzalconio al 0,01% no reportó complicaciones y reflejó en sus resultados una estabilización del queratocono al año del procedimiento (Leccisotti e Islam, 2010). Fillippello y Stagni (2010) evaluaron la efectividad del *crosslinking* transepitelial usando una composición en 100 ml de solución que contiene:

- Riboflavina fosfato sódico 0,127 g (igual a la riboflavina base 0,100 g); Dextrano T500 15 g.

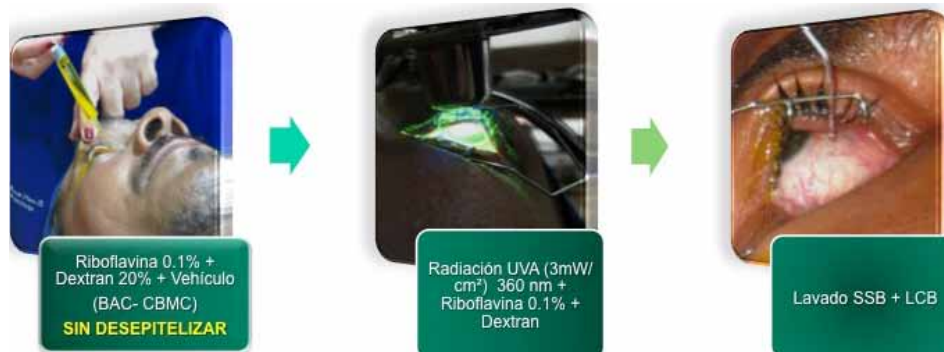


FIGURA 5. Pasos básicos para realización de CXLT

- Excipientes: edetato de sodio, trometamina, fosfato sódico monobásico bidratado, fosfato sódico bibásico bidratado, agua depurada en cantidad suficiente para 100 g.
- El medicamento fue usado en pacientes con queratocono bilateral, encontrando una mejora gradual en los valores topográficos y aberrométricos, sin hazer u otros efectos secundarios, concluyendo que el tratamiento de *crosslinking* transepitelial fue estadísticamente significativo en cuanto a su efectividad para la detención del queratocono, sin efectos secundarios, permitiendo el tratamiento en córneas menores de 400 μm , pacientes “complicados” menores de doce años con síndrome de trisomía 21 o en mayores de 35 años.

ÚLTIMOS SISTEMAS PARA CROSSLINKING

Lo más reciente que se ha planteado para el tratamiento del queratocono con *crosslinkink* es el tratamiento acelerado (sistema Avedro's KXL[®]), el cual reduce el tiempo del tratamiento de una hora a pocos minutos, pudiendo ser aplicado durante el procedimiento de lasik como tratamiento profiláctico para evitar la ectasia iatrogénica, aplicándose la riboflavina directamente en la interface del flap, evitando la remoción epitelial y realizando el *crosslinking* por solo cinco minutos con una lámpara ajustable hasta de 45mW/cm² que, al incrementar el poder de radiación UVA, disminuye el tiempo de exposición con resultados muy cercanos a la técnica convencional de *crosslinking*; sin embargo, aún no son muy numerosos los estudios publicados sobre sus resultados a largo plazo por lo reciente de la técnica, ya que se encuentra en fase III de investigación en Estados Unidos.

NUEVAS PERSPECTIVAS

En la actualidad se está presentando una probable transición de una técnica invasiva con desepitelización corneana a una no invasiva con preservación epitelial como es el *crosslinking* transepitelial, que podría ofrecer beneficios en el tratamiento

del queratocono al paciente, al lograr la estabilización de la ectasia con un procedimiento que hasta el momento muestra mayor seguridad, mantenimiento de la transparencia corneana, rápida recuperación, disminución de molestias posoperatorias y homogeneidad de la radiación, pero con menos efecto en rigidez (64%) comparada con el *crosslinking* convencional (320%), aunque aún se desconoce el porcentaje exacto para la detención del queratocono.

El preservar el epitelio corneano y no tener una rigidez tan alta abriría la posibilidad de ser realizado ambulatoriamente en consultorio, disminuyendo costos para el paciente ya que podría no hacerse uso de la sala de cirugía, que convencionalmente debe ser ocupada por una hora y veinte minutos aproximadamente para el tratamiento de un ojo. A nivel de optometría es importante considerar que el paciente con queratocono debe ser tratado con una técnica que le permita detener o retrasar su degeneramiento corneano, para posteriormente ser rehabilitado a nivel visual y funcional idealmente con lentes de contacto que mejoren tanto su AV como la calidad visual por la reducción de las aberraciones ópticas de alto orden asociadas al astigmatismo irregular, siendo el *crosslinking* transepitelial la técnica que permitiría una más rápida adaptación de los lentes por la preservación epitelial, que probablemente podría permitir una futura combinación con ortoqueratología acelerada (*Corneal Reshape*) pre o *poscrosslinking* transepitelial, para fortalecer y remodelar la córnea, al lograr la detención de la progresión de queratocono con beneficios funcionales significativos de tipo visual, refractivo, topográfico y aberrométrico, entre otros, con estabilidad y sin regresión (figura 6).

Estos puntos deben ser tenidos en cuenta para el desarrollo de la investigación en el área, ya que a nivel mundial son limitados los estudios de la técnica transepitelial. En Colombia son escasas las publicaciones, los reportes o las experiencias sobre la aplicación de esta novedosa técnica, por lo que un trabajo interdisciplinario y multidisciplinario podría ofrecer al paciente con queratocono

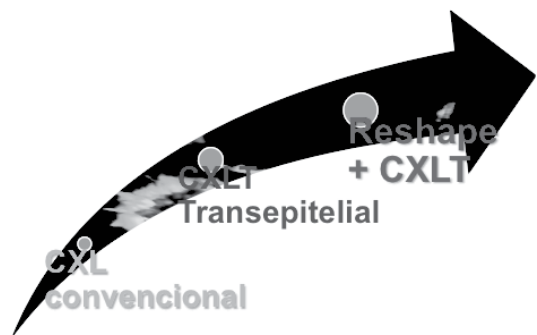


FIGURA 6. Esquema del posible desarrollo del crosslinking

la esperanza de mayores beneficios terapéuticos y funcionales para su padecimiento, con tratamientos que hasta el momento han logrado el objetivo de detener o retrasar la progresión del queratocono.

REFERENCIAS

- Agrawal, V. (2009). Corneal Collagen Crosslinking with Riboflavin and Ultraviolet-A Light for Keratoconus: Results in Indian Eyes. *Indian Journal Ophthalmology*, 57, 111-14.
- Angunawela, R., Arnalich-Montiel, F., & Allan, B. (2009). Peripheral Sterile Corneal Infiltrates and Melting After Collagen Crosslinking for Keratoconus. *Journal Cataract Refractive Surgery*, 35, 606-7.
- Baiocchi, S. et ál. (2009). Corneal Crosslinking: Riboflavin Concentration in Corneal Stroma Exposed with and Without Epithelium. *Journal Cataract Refractive Surgery*, 35, 893-99.
- Barraquer, R., de Toledo, M., & Torres, E. (2004). *Distrofias y degeneraciones corneales*. Barcelona.
- Benevides, D. et ál. (2009). Therapeutic Effect of Corneal Cross-linking on Symptomatic Bullous Keratopathy. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, 72(4), 462-66.
- Bisceglia, L., Ciaschetti, M., & de Bonis, P. (2005). VSX1 Mutational Analysis in a Series of Italian Patients Affected by Keratoconus: Detection of a Novel Mutation. *Investigation Ophthalmology Vision Science*, 46, 39-45.
- Caporossi, A. et ál. (2010). Long-term Results of Riboflavin Ultraviolet a Corneal Collagen Cross-linking for Keratoconus in Italy: The Siena Eye Cross Study. *American Journal Ophthalmology*, 149(4), 585-93.
- Cheng, E. L. et ál. (2001). Expression of Type XII Collagen and Hemidesmosome-associated Proteins in Keratoconus Corneas. *Current Eye Research*, 22, 333-40.
- Cordeiro, M. M. et ál. (2010). Effect of Cross-linking on Corneal Thickness in Patients with Corneal Edema. *Cornea*, 29(6), 613-17.
- Coskunseven, E., Jankov, M., & Hafezi F. (2009). Contralateral Eye Study of Corneal Collagen Cross-linking with Riboflavin and UVA Irradiation in Patients With Keratoconus. *Journal of Refractive Surgery*, 25, 371-76.
- Daxer, A., Mahmoud, H. A., & Venkateswaran, R. S. (2010). Corneal Crosslinking and Visual Rehabilitation in Keratoconus in One Session without Epithelial Debridement: New Technique. *Cornea*, 32, 195-98.
- Fatima, T. et ál. (2010). Demographic Profile and Visual Rehabilitation of Patients with Keratoconus Attending Contact Lens Clinic at a Tertiary Eye Care Center. *Contact Lens Anterior Eye*, 33, 19-22.
- Feder, R. (2010). Collagen Crosslinking: Where's the beef? *ISRS Refractive surgery 2010*. Chicago: American Academy of Ophthalmology.
- Fillippello, M., & Stagni, E. (2010). Collagen Crosslinking without Corneal De-epithelialization. *Minerva Oftalmologica*, 52, 1-9.
- Grünauer-Kloevekorn, C., & Duncker, G. I. (2006). Keratoconus: Epidemiology, Risk Factors and Diagnosis. *Klinische Monatsblätter Augenheilkd*, 223(6), 493-502.
- Kaldawy, R. M. et ál. (2002). Evidence of Apoptotic Cell Death in Keratoconus. *Cornea*, 21, 206-09.
- Kennedy, R. H., Bourne, W. M., & Dyer, J. A. (1986). A 48 Year Clinical and Epidemiologic Study of Keratoconus. *American Journal Ophthalmology*, 101, 267-73.
- Kenney, M. C. et ál. (1997). Abnormalities of the Extracellular Matrix in Keratoconus Corneas. *Cornea*, 16, 345-51.
- Kissner, A. et ál. (2010). Pharmacological Modification of the Epithelial Permeability by Benzalkonium Chloride in UVA/Riboflavin Corneal Collagen Cross-Linking. *Current Eye Research*, 35(8), 715-21.
- Koller, T., Mrochen, M., & Seiler, T. (2009). Complication and Failure Rates after Corneal Crosslinking. *Journal Cataract Refractive Surgery*, 35, 1358-62.
- Kymionis, G. D. et ál. (2007a). Diffuse Lamellar Keratitis after Corneal Crosslinking in a Patient with Post-laser in Situ Keratomileusis Corneal Ectasia. *Journal Cataract Refractive Surgery*, 33(2), 135-37.
- Kymionis, G. D. et ál. (2007b). Herpetic Keratitis with Iritis after Corneal Crosslinking with Riboflavin and Ultraviolet a for Keratoconus. *Journal Cataract Refractive Surgery*, 33, 1982-84.
- Leccisotti, A., & Islam, T. (2010). Transepithelial Corneal Collagen Cross-linking in Keratoconus. *Journal of Refractive Surgery*, 10, 1-7.
- Lema, I., & Durán, J. (2005). Inflammatory Molecules in the Tears of Patients with Keratoconus. *Ophthalmology*, 112, 654-659.

- Liskova, P. et al. (2010). Evidence for Keratoconus Susceptibility Locus on Chromosome 14: A Genome-wide Linkage Screen Using Single-nucleotide Polymorphism Markers. *Archives Ophthalmology*, 128(9), 1191-5.
- Mackool, R. J. (2007). Crosslinking for Iatrogenic Keratectasia after LASIK and for Keratoconus. *Journal Cataract Refractive Surgery*, 33(12), 2035-40.
- Massey, V. (2000). The Chemical and Biological Versatility of Riboflavin. *Biochemical Society Transactions*, 28, 283-4.
- Pinelli, R. (2007). Treatment Opens New Frontiers for Keratoconus and Corneal Ectasia. *Eyeword*, 12, 34-6.
- Rabinowitz, Y. S. (1998). Keratoconus. In: Traboulsi, E. (Ed.). *Genetic Diseases of the Eye*. New York: Oxford University Press, 267-284.
- Radner, W. et al. (1998). Altered Organization of Collagen in the Apex of Keratoconus Corneas. *Ophthalmic Research*, 30, 327-32.
- Raiskup-Wolf, F., Hoyer, A., Spoerl, E. J. (2008). Permanent Corneal Haze after Riboflavin-UVA-induced Cross-linking in Keratoconus. *Refractive Surgery*, 2(9), 824-8.
- Renesto, A. D., Barros, J. D., & Campos, M., (2010). Impression Cytologic Analysis after Corneal Collagen Cross-linking Using Riboflavin and Ultraviolet- A Light in the Treatment of Keratoconus. *Cornea*, 25-8.
- Santos de Souza, A. C. et al. (2005). Riboflavina: uma vitamina multifuncional. *Química Nova*, 28(5), 887-91.
- Sauer, A. et al. (2010). In Vitro Efficacy of Antifungal Treatment Using Riboflavin/UV-A (365 nm) Combination and Amphotericin B. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 51(8), 3950-3.
- Scroggs, M. W., & Proia, A. D. (1992). Histopathological Variation in Keratoconus. *Cornea*, 11, 553-59.
- Siganos, D. et al. (2001). Ferrara Intrastromal Corneal Rings for the Correction of Keratoconus. *Journal Cataract and Refractive Surgery*, 28, 1947-51.
- Smith, V. A., & Easty, D. L., (2000). Matrix Metalloproteinase 2: Involvement in Keratoconus. *Europe Journal Ophthalmology*, 10, 215-26.
- Spoerl, E. et al. (1997). Artificial Stiffening of the Cornea by Induction of Intrastromal Cross-links. *Ophthalmologie*, 94, 902-06.
- Spoerl, E., Huhle, M., & Seiler, T. (1998). Induction of Cross-links in Corneal Tissue. *Expert Eye Research*, 66, 97-103.
- Stabuc-Silih, M. et al. (2010). Genetics and Clinical Characteristics of Keratoconus. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriatic*, 19(2), 3-10.
- Tamer, M. (2009). Riboflavin-ultraviolet a Corneal Cross-Linking for Keratoconus. *Middle East African Journal of Ophthalmology*, 16(4), 256-9.
- Tuori, A. J. et al. (1997). The Immunohistochemical Composition of Corneal Basement Membrane in Keratoconus. *Current Eye Research*, 16, 792-801.
- Vinciguerra, P. et al. (2009). Refractive, Topographic, Tomographic, and Aberrometric Analysis of Keratoconic Eyes Undergoing Corneal Cross-linking. *Ophthalmology*, 116(3), 369-78.
- Vinciguerra, P. et al. (2010). Intra and Postoperative Variation in Ocular Response Analyzer Parameters in Keratoconic Eyes after Corneal Cross-Linking. *Journal Refractive Surgery*, 28, 1-8.
- Wang, Y. et al. (2000). Genetic Epidemiological Study of Keratoconus: Evidence for Major Gene Determination. *American Journal Medical Genetics*, 93, 403-09.
- Wilson, S. E., & Kim, W. J. (1998). Keratocyte Apoptosis: Implications on Corneal Wound Healing, Tissue Organization, and Disease. *Investigation Ophthalmology Vision Science*, 39, 220-26.
- Wollensak, G. et al. (2003). Endothelial Cell Damage after Riboflavin-ultraviolet-A Treatment in the Rabbit. *Journal Cataract Refractive Surgery*, 29, 1786-90.
- Wollensak, G. et al. (2004a). Collagen Fiber Diameter in the Rabbit Cornea after Collagen Crosslinking by Riboflavin/UVA. *Cornea*, 23(5), 503-7.
- Wollensak, G. et al. (2004b). Keratocyte Cytotoxicity of Riboflavin/UVA-treatment in Vitro. *Eye (London)*, 18(7), 718-22.
- Wollensak, G. et al. (2010). Significance of the Riboflavin Film in Corneal Collagen Crosslinking. *Journal Cataract Refractive Surgery*, 36, 114-20.
- Wollensak, G., & Iomdina, E. (2009). Biomechanical and Histological Changes after Corneal Crosslinking with and without Epithelial Debridement. *Journal Cataract Refractive Surgery*, 35, 540-46.
- Wollensak, G., & Redl, B. (2008). Gel Electrophoretic Analysis of Corneal Collagen after Photodynamic Cross-linking Treatment. *Cornea*, 27, 353-356.
- Wollensak, G., Spoerl, E., & Seiler, T. (2003). Riboflavin/ultraviolet-A Induced Collagen Crosslinking for the Treatment of Keratoconus. *American Journal Ophthalmology*, 135, 620-7.
- Zamora, K. V., & Males, J. J. (2009). Polymicrobial Keratitis after a Collagen Cross-linking Procedure with Postoperative use of a Contact Lens: a Case Report. *Cornea*, 28, 474-76.

Recibido: 22 de mayo del 2011

Aceptado: 8 de septiembre del 2011

CORRESPONDENCIA

Carlos Augusto Alfonso Rojas
doctoralfonso@hotmail.com