

# Diagnóstico In vivo de Cambios Neoplásicos Epiteliales Corneo-Conjuntivales utilizando Microscopía Confocal

CAROLINA GENTILE, J. OSCAR CROXATTO

## RESUMEN

**OBJETIVO:** El propósito de este estudio fués analizar los cambios morfológicos limbares corneo- conjuntivales de pacientes con neoplasia intraepitelial utilizando microscopía confocal in vivo.

**DISEÑO:** Serie de casos observacional

**MÉTODOS:** 7 ojos de 4 hombres y 3 mujeres (rango de edad entre 59 y 85 años) con diagnóstico presuntivo de neoplasia intraepitelial corneo-conjuntival fueron incluidos en el estudio. El examen clínico incluyó biomicroscopía con lámpara de hendidura, tinciones de fluoresceína y rosa de bengala y microscopía confocal in vivo (Rostock Corneal Module, Heidelberg, Germany). Las imágenes del estudio fueron analizadas y comparadas con las fotografías clínicas y los hallazgos histológicos luego de la cirugía. Como control, fueron analizadas imágenes de pacientes con alteraciones de la superficie ocular como leucoplasia asociada a pterigion, regeneración epitelial corneal y ojo seco.

**RESULTADOS:** Las imágenes de lesiones neoplásicas intraepiteliales por microscopía confocal revelaron células nucleadas de alta reflectividad, tamaño mediano y pleomórficas, que ocupaban y reemplazaban al epitelio corneo-limbar. Se observó una transición neta entre las células neoplásicas y el epitelio no neoplásico. Los cambios epiteliales reactivos y las proliferaciones celulares no neoplásicas de configuración escamosa y células grandes ovales de bordes redondeadas no cohesivas en procesos proliferativos reparadores. En un caso de una paciente con cirugía de queratotomía radial y LASIK, el estudio sirvió para evaluar el nivel de compromiso corneal a lo largo de las incisiones de la cirugía previa.

**CONCLUSIONES:** La microscopía confocal corneal in vivo es un estudio clínico no invasivo que puede ser utilizado en el diagnóstico celular de neoplasias intraepiteliales. Es una herramienta útil para el diagnóstico diferencial entre lesiones neoplásicas intraepiteliales y proliferaciones y degeneraciones benignas. Además puede ser considerada una técnica de utilidad para decisiones terapéuticas y diagnósticos tempranos de recurrencia. *OFTALMOL CLIN EXP 2007;1: 20-25*

**PALABRAS CLAVE:** neoplasia intraepitelial corneal y conjuntival, cirugía refractiva, microscopía confocal in vivo, leucoplasia, queratotomía radial, LASIK.

## In vivo Diagnosis of Epithelial Neoplastic Changes of the Cornea and Conjunctival Limbus using Confocal Microscopy

### ABSTRACT

**PURPOSE:** The aim of this study was to analyze the morphological features of limbal and cornea intraepithelial neoplasia using in vivo confocal corneal microscopy.

**METHODS:** Seven eyes of 4 males and 3 females (age range from 56 to 85 years-old) with presumed diagnosis of conjunctival and cornea intraepithelial neoplasia (CIN) were included. In addition, images from patients with disorders of the ocular surface including leukoplakic lesions associated with pterygium, corneal epithelium regeneration, and dry eye were used for comparative purposes. Clinical examination included slit-lamp biomicroscopy with rose bengal stain, and in vivo confocal corneal microscopy (Rostock Corneal Module, Heidelberg, Germany). Recorded images were analyzed and compared with clinical features and histological findings after surgery. Results: Confocal microscopic images of CIN revealed pleomorphic, medium-sized hyperreflective nucleated cells with indistinct cytoplasmic borders throughout the thickness of the epithelium with a sharp transition between neoplastic and non-neoplastic epithelium. Reactive and proliferative non-neoplastic conditions showed large epithelial cells with reinforcement of cell membrane, islands of abnormal cells at the margins, and cellular desquamation. In one patient who had history of radial keratotomy and LASIK surgery, confocal microscopy was useful to evaluate the involvement along the incisions of previous refractive surgery.

**CONCLUSIONS:** In vivo confocal corneal microscopy is a non invasive clinical technique which may be used in the cellular diagnosis of epithelial neoplasia and a useful tool for the differential diagnosis between CIN and benign epithelial proliferations and degenerations; being valuable for therapeutic decisions and early identification of recurrences. *OFTALMOL CLIN EXP 2007;1: 20-25*

**KEY WORDS:** cornea and conjunctival intraepithelial neoplasia, confocal microscopy in vivo, leukoplasia, radial keratotomy, LASIK.

Recibido: 19/02/2008  
Aceptado: 23/03/2008  
Hospital Italiano de Buenos Aires  
Estudios por Imágenes Laboratorios Pförtner

Correspondencia:  
Dra. Carolina Gentile  
Unidad Oncología Ocular  
Servicio de Oftalmología

Hospital Italiano  
Gascón 490  
Ciudad de Buenos Aires  
Email: carolina.gentile@hospitalitaliano.org.ar

La lesión neoplásica intraepitelial corneo-conjuntival es considerada la neoplasia maligna conjuntival más frecuente en Estados Unidos.<sup>1</sup> La enfermedad es multifactorial, siendo más frecuente en adultos que viven en países con exposición solar elevada. Las lesiones neoplásicas intraepiteliales corneo-conjuntivales se encuentran con mayor frecuencia en el área interpalpebral, principalmente en el limbo, con compromiso conjuntival, corneal o ambos. Los pacientes suelen consultar por ojo rojo, irritación y por la presencia de la lesión en la superficie ocular. Aunque es considerada una enfermedad lentamente progresiva, la tasa de recurrencia es elevada luego de la escisión quirúrgica simple.

El estudio de microscopía confocal *in vivo*, es un método relativamente nuevo para investigar procesos corneales patológicos a nivel celular.<sup>2</sup> Las características de los tumores limbares y las neoplasias intraepiteliales conjuntivales recurrentes han sido descritas previamente.<sup>3-4</sup> El propósito de este estudio es comunicar una serie de casos analizando los cambios morfológicos de la cornea y conjuntiva en pacientes con neoplasia intraepitelial corneo-conjuntival utilizando microscopía confocal *in vivo* y compararlas con las imágenes clínicas e imágenes de pacientes con alteraciones de la superficie ocular como leucoplasia asociada a pterigion y regeneración epitelial corneal.

## Material y Métodos

Siete ojos de 4 hombres y 3 mujeres (rango de edad entre 59 y 85 años) con diagnóstico presuntivo de neoplasia intraepitelial corneo-conjuntival fueron incluidos en

el estudio. El examen clínico incluyó biomicroscopía con lámpara de hendidura, tinciones de fluoresceína y rosa de bengala y microscopía confocal *in vivo* (Rostock Corneal Module, Heidelberg, Germany). Las imágenes del estudio fueron analizadas y comparadas con las fotografías clínicas y los hallazgos histológicos luego de la cirugía. Como control, fueron analizadas imágenes de pacientes con alteraciones de la superficie ocular como leucoplasia asociada a pterigion, regeneración epitelial corneal y ojo seco.

## Resultados

Las características de los pacientes figuran en la tabla. Dos pacientes tenían estudio histopatológico previo con diagnóstico de neoplasia intraepitelial de conjuntiva y cornea. En los cinco pacientes restantes el diagnóstico fue inicialmente clínico y corroborado por las imágenes obtenidas con microscopía confocal. En tres pacientes se comprobó por biomicroscopía y se confirmó con microscopía confocal la resolución de la neoplasia intraepitelial luego del tratamiento con quimioterapia tópica. A modo de ilustración, a continuación se describen detalladamente tres casos analizados.

## Reporte de Casos

### Caso 1

Mujer de 59 años, fue evaluada en el año 2005 refiriendo sensación de cuerpo extraño y ojo rojo en su ojo izquierdo. Fue intervenida quirúrgicamente de pterigion en el año 2001, Queratotomía radial y LASIK en ambos ojos en el

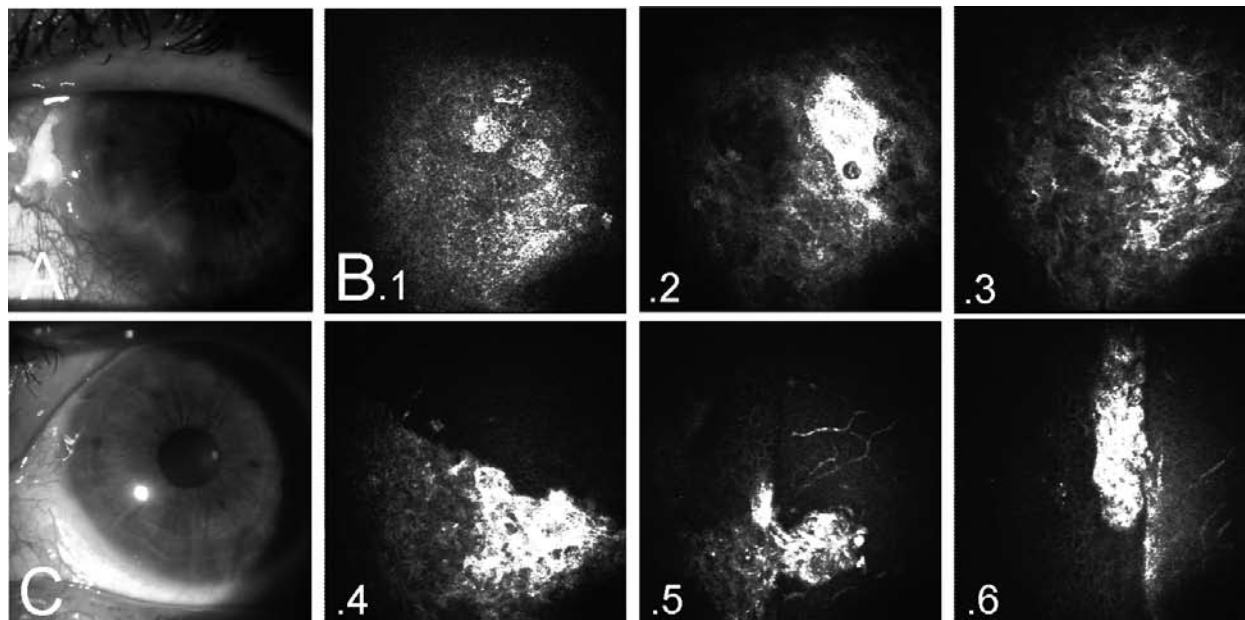


Fig. 1. Caso 1. A. Aspecto clínico. B1. Epitelio corneal normal. B2-4. Células epiteliales atípicas. B5-6. Invasión epitelial en los taponos epiteliales de la cirugía radial. C. Resultado luego del tratamiento.

año 1994 y 2003 respectivamente. El estudio histopatológico de la cirugía de pterigión previa realizada en otro centro no se encontraba disponible para su evaluación. La agudeza visual corregida era de 20/30 en su ojo derecho y 20/40 en su ojo izquierdo. La presión intraocular era de 14 mmHg en ambos ojos. Al examen con lámpara de hendidura del ojo derecho se observaron las cicatrices de la cirugía refractiva previa. En el ojo izquierdo se observó una opacidad periférica leucoplásica en la conjuntiva bulbar y limbo nasal. En la cornea entre hora 6 y hora 11 se observó una opacidad superficial epitelial difusa y blanquecina, extendiéndose sobre la superficie de las incisiones radiales de la cirugía refractiva previa (Fig. 1). La lesión teñía con rosa de

hendidura una nueva lesión focal en el limbo inferior la cual fue tratada con cirugía y 2 ciclos de mitomicina C (0,02%) tópica en el post-operatorio. Luego de 16 meses de la cirugía, no se evidencia recurrencias y la agudeza visual corregida continúa siendo de 20/30 en el ojo derecho y 20/40 en el ojo izquierdo.

#### Caso 2

Mujer de 64 años consultó por lagrimeo y molestias en su ojo derecho de 2 meses de evolución. La agudeza visual era de 20/20 en ambos ojos y el examen con lámpara de hendidura reveló una opacidad blanquecina limbar corneal nasal en hora 3, que teñía con fluoresceína y rosa de bengala (Fig. 2). Se realizó microscopía confocal corneal y

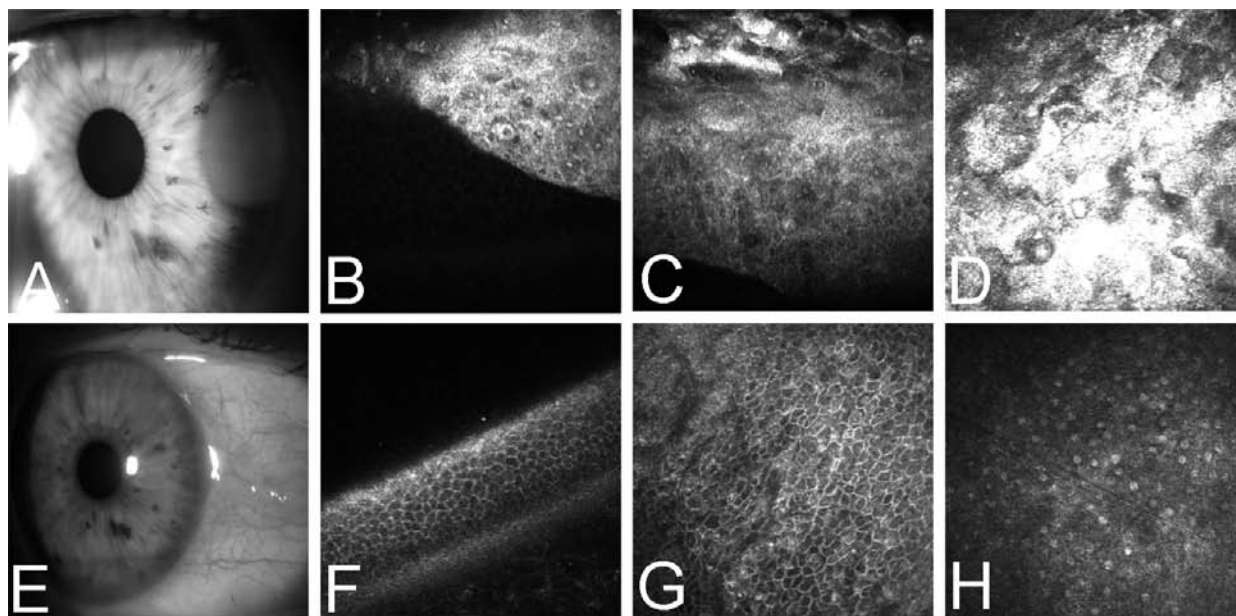


Fig. 2. Case 2. A. Lesión leucoplásica. B-C. Células atípicas reemplazando el epitelio corneal. D. Células atípicas en limbo. E. Resolución después del tratamiento. F-H. Epitelio corneal y limbar normal luego del tratamiento.

bengala. El examen del fondo de ojos era normal. El análisis histopatológico de la biopsia confirmó el diagnóstico de neoplasia intraepitelial corneo-conjuntival. La microscopía confocal in vivo reveló un reemplazo del epitelio corneal normal por células grandes, irregulares, pleomórficas de alta reflectividad con una transición abrupta entre epitelio normal y anormal compatible con neoplasia intraepitelial. Las células neoplásicas se extendían sobre los tapones epiteliales de las incisiones radiales a nivel del plexo nervioso sub-basal, sin comprometer cornea adyacente o estroma profundo. La interfase de la cirugía de LASIK previa se encontraba libre de células neoplásicas. Se realizó cirugía escisional en bloque, queratoconjuntivectomía con crioterapia de márgenes conjuntivales quirúrgicos remanentes. Luego de 2 semanas comenzó tratamiento con mitomicina C 0,02% 4 veces por día por 2 semanas. A los 2 meses del post-operatorio, se observó en el examen con lámpara de

se observó células anormales en reemplazo de epitelio corneal normal, con límite definido entre células neoplásicas y epitelio normal. Comenzó tratamiento con 2 ciclos de mitomicina C 0,02%, 4 veces por día con descanso de una semana entre cada ciclo, observándose mejoría de la lesión corneal en el comienzo del 2do ciclo y resolución completa de la lesión.

#### Caso 4

Hombre de 85 años, derivado en consulta con sensación de irritación en el ojo izquierdo de 2 meses de evolución. Había sido operado 16 meses antes por carcinoma intraepitelial conjuntival en su ojo izquierdo, sin tratamiento adyuvante. La agudeza visual era 20/25 en el ojo derecho y 20/30 en el ojo izquierdo. Al examen con lámpara de hendidura se observó pseudofaquia bilateral y la presencia de una lesión blanquecina epitelial festoneada en cornea superior de hora 10 a hora 2, que teñía con rosa de bengala, sin



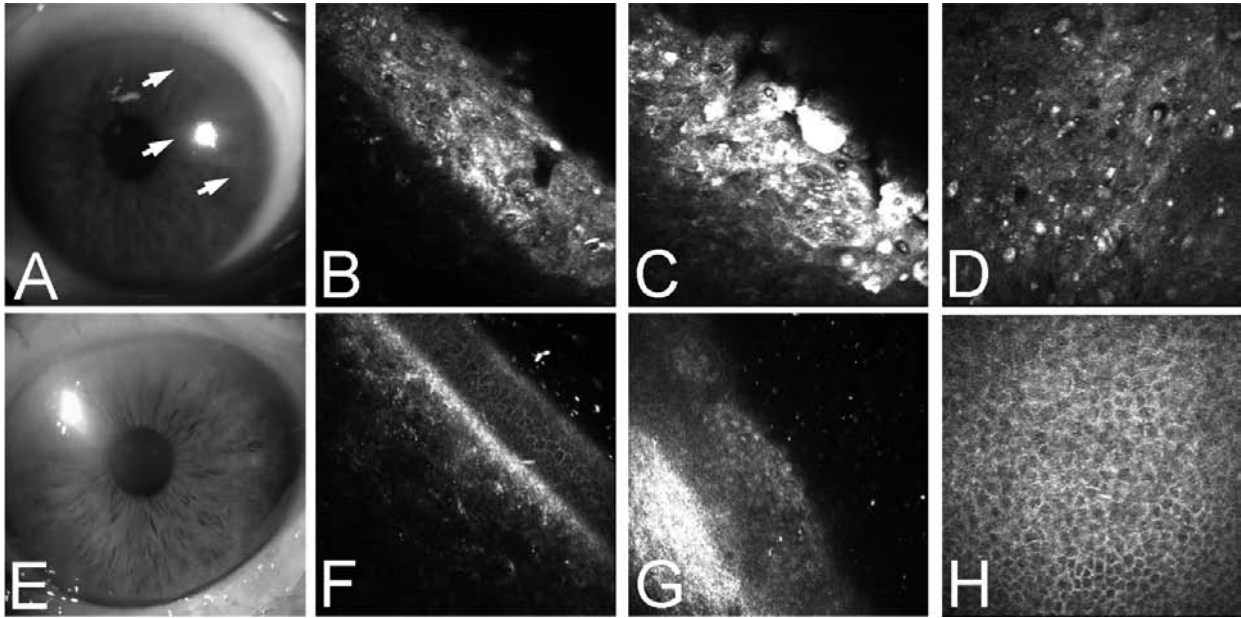


Fig. 3. Caso 4.A.Aspecto clínico de CIN. B-D. Células epiteliales atípicas. E. Resultado luego del tratamiento. F-H. Cornea y conjuntiva luego del tratamiento.

congestión conjuntival marcada, vinculable con recidiva de carcinoma intraepitelial corneal (Fig. 3). La presión intraocular era de 12 mm Hg /14 mm Hg y el fondo de ojos con oftalmoscopia binocular indirecta no reveló alteraciones. Se realizó microscopía confocal corneal del ojo izquierdo observando células anormales y una marcada zona de transición entre cornea normal y patológica. Comenzó dos ciclos de mitomicina C 0,02%, 4 veces por día por 2 semanas descansando una semana entre cada ciclo. El paciente

presentó buena tolerancia al tratamiento y una resolución total de la lesión al final del tratamiento. El paciente continúa siendo evaluado luego de 4 meses del tratamiento sin observar recurrencia de la lesión neoplásica.

El análisis de imágenes obtenidas de procesos epiteliales no neoplásicos mostró distintas alteraciones epiteliales con modificaciones de la reflectividad citoplasmática y signos de diferenciación escamosa (Fig. 4). En un paciente con regeneración epitelial luego de una úlcera corneal se ob-

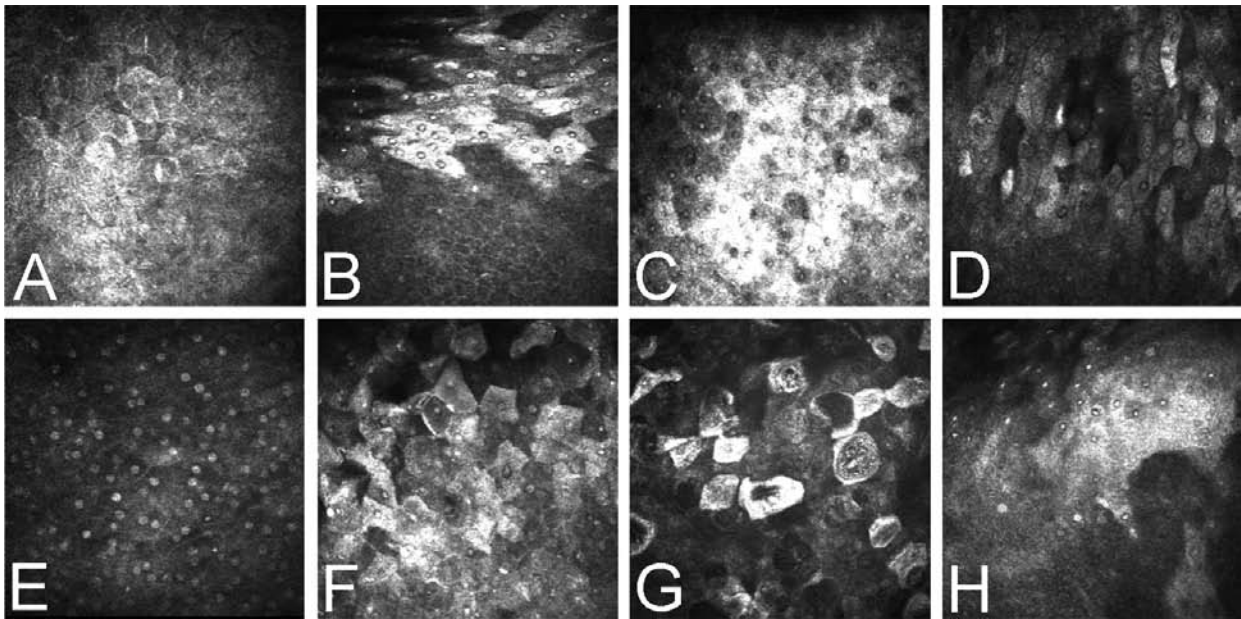


Fig. 4.A. Epitelio corneal normal. B. Ojo seco en cirugía refractiva. C. Toxicidad epitelial por tratamiento prolongado de colirios. D. Regeneración epitelial. E. Epitelio limbar normal. F. Ojo seco. G. Deficiencia de células limbares. H. Metaplasia epitelial en pterigion.

Tabla. Características de los pacientes con neoplasia intraepitelial corneo-conjuntival.

Caso	Sexo Edad	Antecedentes Historia clínica	Microscopía Confocal	AP	Tratamiento	Resultados Seguimiento
Caso 1	F/59	Ol: cirugía de pterigion, queratotomía radial, LASIK	Ol: células epiteliales atípicas, extensión en bordes de las incisiones	SI	Cirugía Mitomicina C 0,02%	Remisión 18 meses
Caso 2	F/64	OD: lesión leucoplásica corneo-limbar	OD: células epiteliales atípicas	NO	Mitomicina C 0,02%	Remisión 6 meses
Caso 3	M/76	OD: pterigion; lesión leucoplásica. Ol: pterigion	OD: células epiteliales atípicas. Ol: pterigion	NO	Mitomicina C 0,02%	Remisión 5 meses
Caso 4	M/85	Ol: cirugía previa CIN. opacidad corneal	Ol: células epiteliales atípicas	SI	Mitomicina C 0,02%	Remisión 4 meses
Caso 5	M/59	Ol: opacidad corneal epitelial	Ol: células epiteliales atípicas	NO	Mitomicina C 0,02%	Remisión 2 meses
Caso 6	M/69	OD: opacidad limbar Ol: pterigion	OD: células epiteliales atípicas. Ol: pterigion	NO	-	-
Caso 7	F/75	OD: opacidad leucoplásica	OD: displasia epitelial	NO	-	-

servaron células ovoides poco cohesivas sin características atípicas claramente diferenciables de las observadas en los pacientes con neoplasia intraepitelial.

## Discusión

La neoplasia intraepitelial corneo-conjuntival es considerada una neoplasia de bajo grado de malignidad, pero con una alta tasa de recurrencia local. Raramente, la lesión evoluciona a carcinoma escamoso invasor de conjuntiva y cornea. En casos tratados quirúrgicamente, el factor más importante para prevenir recurrencias es la seguridad en obtención de margen quirúrgico libre al momento de la cirugía. El tiempo que transcurre entre la cirugía y la aparición de la primera recidiva varía entre 33 días y 11,5 años.<sup>5</sup> Debido a la dificultad de una completa escisión quirúrgica y al riesgo subsecuente de recidiva, y debido a que las cirugías repetidas con o sin crioterapia puede provocar una deficiencia de células progenitoras (stem cells) y cicatrización conjuntival, se han utilizado terapias alternativas para el tratamiento del carcinoma intraepitelial corneo-conjuntival. La aplicación de quimioterapia tópica como mitomicina C, 5-fluoruracilo, e interferon alfa 2 tópico y perilesional se han utilizado solas o como adyuvantes luego de la cirugía para el tratamiento de la neoplasia primaria o de las recurrencias.<sup>1,6-7</sup> Si bien el empleo de estas terapias no se encuentra exento de complicaciones y toxicidad de la superficie ocular, son consideradas una terapéutica eficaz para el tratamiento de la enfermedad y sus recurrencias, con menor morbilidad en la superficie ocular que las cirugías múltiples.<sup>8-9</sup>

La microscopía confocal en vivo, es un método de estudio de la cornea que visualiza la cornea a nivel estructural con resolución celular. Es una técnica no invasiva, de alta magnificación que captura imágenes de cortes de la cornea en tiempo real, desde la superficie epitelial hasta la superficie posterior del endotelio corneal. Aunque los equipos iniciales visualizaban el eje axial central de la cornea, el módulo corneal Rostock permite el desplazamiento lateral y vertical facilitando la visualización de cornea periférica, limbo y conjuntiva en los cuatro cuadrantes.

En estos casos clínicos presentados, el estudio de microscopía confocal nos permitió analizar y comparar los cambios encontrados a nivel celular en los pacientes con neoplasia intraepitelial y degeneraciones corneales. Es una herramienta de utilidad para el diagnóstico diferencial entre neoplasia intraepitelial y proliferaciones y degeneraciones benignas, siendo también valiosa para establecer decisiones terapéuticas y para el manejo e identificación de recurrencias en forma temprana.

Los pacientes con historia de cirugía refractiva previa envejecen y se exponen a otros factores de riesgo, por lo cual la neoplasia de la superficie ocular debería incluirse en los diagnósticos diferenciales de opacidades corneales periféricas como se ilustra en el caso 1. Por otra parte, la cirugía refractiva previa podría tener implicancia en la extensión de la neoplasia y en su tratamiento. La herida quirúrgica de la queratotomía radial se cubre con epitelio que migra de la superficie corneal formando un tapón epitelial que se extiende a profundidades variables dentro del estroma corneal. En el caso 1, el componente corneal de la neoplasia intraepitelial podría haberse extendido en la herida de

la incisión radial con implicancia en el manejo terapéutico. Aunque poco probable pero teóricamente posible, en presencia de cirugía LASIK previa, debe ser considerado el posible compromiso neoplásico de la herida epitelial-estromal en el margen del flap, extendiéndose en la interfase del flap que es hipocelular y de baja resistencia. Entre otras utilidades, la microscopía confocal de la cornea puede evaluar la presencia de proliferaciones epiteliales, tapones epiteliales, profundidad de las incisiones dentro del estroma corneal post queratotomía readial, márgenes del flap y la interfase post LASIK. Esta información es de importancia para planear el tratamiento quirúrgico adecuado en caso de neoplasia intraepitelial en pacientes con antecedentes de cirugía refractiva.<sup>10</sup>

#### Bibliografía

1. Karp CL, Moore JK, Rosa RH Jr. Treatment of conjunctival and corneal intraepithelial neoplasia with topical interferon -2b. *Ophthalmology* 2001; 108:1093-8
2. Cavanagh HD; Petroll WM, Alizadeh H, et al. Clinical and diagnostic use of in vivo confocal microscopy in patients with corneal disease. *Ophthalmology* 1993; 100:1444-54
3. Duchateau N, Hugol D, D'Hermies F, et al. Contribution of in vivo confocal microscopy to limbal tumor evaluation. *J Fr Ophthalmol.* 2005; 28:810-6
4. Malandrini A, Martone G, Traversi C, Caporosi A. In vivo confocal microscopy in a patient with recurrent conjunctival intraepithelial neoplasia. *Acta Ophthalmol Scand* (published online 10 December 2007)
5. Tabin G, Levin S, Snibson G, Loughnan M, Taylor H. Late recurrences and the necessity for long-term follow-up in corneal and conjunctival intraepithelial neoplasia. *Ophthalmology* 1997; 104:485-92
6. Frucht-Pery J, Sugar J, Baum J, et al. Mitomycin C treatment for conjunctival-corneal intraepithelial neoplasia: a multicenter experience. *Ophthalmology* 1997; 104:2085-93.
7. Yeatts RP, Engelbrecht NE, Curry CD, et al. 5-fluorouracil for the treatment of intraepithelial neoplasia of the conjunctiva and cornea. *Ophthalmology* 2000; 107:2190-5
8. Khong JJ, Muecke J. Complications of mitomycin C therapy in 100 eyes with ocular surface neoplasia. *Br J Ophthalmol.* 2006; 90:819-22
9. Boehm M, Huang A. Treatment of recurrent corneal and conjunctival intraepithelial neoplasia with topical interferon alfa 2b. *Ophthalmology* 2004; 111:1755-61.
10. Tervo T, Moilanen J. In vivo confocal microscopy for evaluation of wound healing following corneal refractive surgery. *Prog Retin Eye Res.* 2003; 22:339-58



Ruinas Mayas