

# Evaluación de la Celularidad Estromal Corneal Mediante Microscopia Confocal en Lasek con Mitomicina

CARLOS ARGENTO, MARÍA JOSÉ COSENTINO, JUAN OSCAR CROXATTO

## RESUMEN

**OBJETIVO:** Evaluar el efecto de la Mitomicina C sobre la córnea como tratamiento coadyuvante del LASEK, mediante microscopia confocal.

**MÉTODOS:** Se analizaron 25 casos operados con LASEK y Mitomicina C 0,02%. El equivalente esférico (EE) preoperatorio fue de  $-6,24 \pm 2,24$ , con seguimiento de  $2,06 \pm 1,60$  años. Todos los casos fueron realizados con el mismo excimer laser (Bausch & Lomb 217z, USA.). Se examinaron las córneas con microscopía confocal in vivo (Rostock Cornea Module, Heidelberg HRTII, Alemania). En cada imagen se cuantificó el número de píxeles del área reflectiva que representaba al conjunto de células, depósitos y aumento de la reflectividad de la matriz extracelular en relación al "background" (programa Sion Image for Windows, Sion Corporation, USA). Una población normal de 10 ojos fue utilizada como control. Se analizaron las diferencias entre los grupos con el t test, para muestras no apareadas de variancias desiguales (significativo  $p < 0,05$ ).

**RESULTADOS:** El EE postoperatorio fue de  $-0,10 \pm 0,52$ . No se observó haze. Análisis cualitativo. Se observó variabilidad en la celularidad (densidad y morfología), que varió entre imágenes hipocelulares a otras con células con morfología estrellada de pequeño y gran tamaño. En la matriz extracelular de algunos casos se observaron depósitos puntiformes y en forma de bastones, y aumento de la reflectividad. Análisis cuantitativo. En el grupo control, el área reflectiva media fue  $32066 \pm 4877$  sp, rango 28033 a 37487 sp. En el grupo de LASEK, el área reflectiva media fue  $51622 \pm 10933$  sp, rango 29050 a 70922 sp. Se encontró diferencia entre ambos grupos ( $p=0,01$ ).

**CONCLUSIONES:** Aun sin observarse clínicamente ningún grado de opacidad (haze) en pacientes tratados con LASEK y MMC, existen cambios celulares y de la matriz extracelular cuya intensidad no alcanza niveles suficientes para provocar haze. *OFTALMOL CLIN EXP 2007;1: 14-20*

**PALABRAS CLAVES:** LASEK, mitomicina, haze, microscopía confocal corneal in vivo

## In Vivo Confocal Microscopy of the Corneal Stromal Cells after LASEK with Mitomycin-C

### ABSTRACT

**OBJECTIVE:** To evaluate the effect of mitomycin-C on the cornea as adjunctive therapy to LASEK, by means of confocal microscopy.

**METHODS:** 25 cases operated on with LASEK with mitomycin-C 0.02 %. The preoperative spherical equivalent (SE) was  $-6.24 \pm 2.24$  and the follow-up was  $2.06 \pm 1.60$  years. All cases were treated with the same excimer laser (Bausch & Lomb 217z, USA.).

*In vivo* confocal microscopy (Rostock Cornea Module, Heidelberg HRTII, Germany) was used. The number of pixels of the reflective area was quantitated in each image (Sion Image software for Windows, Sion Corporation, USA). A normal population of 10 eyes was used as control group. Differences between groups were analyzed by t-test for unpaired samples of unequal variances (significance:  $p < 0.05$ ).

**RESULTS:** Postoperative SE was  $-0.10 \pm 0.52$ . No clinical haze was observed. Qualitative analysis: There were changes in cellularity with variability of images from hypocellularity to others with cells of stellate-shaped morphology of small and large size. In the extracellular matrix of some cases point- and cane-shaped deposits, as well as increased reflectivity, developed.

Quantitative analysis: in the control group, the mean reflective area was  $32066 \pm 4877$  sp while in the group undergoing LASEK, the mean reflective area was  $51622 \pm 10933$  sp (Statistical significant difference  $p = 0.01$ ).

**CONCLUSIONS:** Even though no haze was clinically observed in patients treated with LASEK and MMC, changes occur in both cells and extracellular matrix, the degree of which fails to reach sufficient levels to produce haze. *OFTALMOL CLIN EXP 2007;1: 14-20*

**KEY WORDS:** LASEK, haze, mitomycin, corneal confocal microscopy

Recibido: 23/06/08  
Aceptado: 20/07/08  
Instituto de la Visión,  
Buenos Aires, Argentina  
y Hospital de Clínicas  
"José de San Martín",

Facultad de Medicina,  
Universidad de Buenos Aires,  
Buenos Aires, Argentina  
Ninguno de los autores presenta  
intereses comerciales

Autor responsable:  
María José Cosentino,  
MD, Instituto de la Visión,  
M.T. de Alvear 2261,  
Buenos Aires Argentina (C1122AAJ)  
E-mail: majocosenino@fibertel.com.ar

El uso del excimer laser ha sido popularizado en la última década. La queratectomía fotorrefractiva (PRK) ha probado ser segura y efectiva, aunque no desprovista de dolor y en ciertos casos de regresión miópica y algunas complicaciones como el haze.<sup>1-10</sup>

En 1999 Massimo Camellin dio a conocer una nueva técnica: el LASEK (M. Cimberle, "LASEK May Offer the Advantages of Both LASIK and PRK", *Ocular Surgery News*, March 1999, pag. 28). Este procedimiento consiste en crear una flap epitelial, ablacionar el estroma para corregir la ametropía y luego reposicionar dicho flap epitelial.

Durante los últimos dos años han aparecido una cantidad considerable de publicaciones sobre el procedimiento de LASEK.<sup>11-15</sup> Algunos de estos reportes, no así otros tantos, analizan la incidencia de haze posterior a este procedimiento de superficie. Si bien se han estudiado ampliamente las características de la técnica y los resultados visuales, creemos fundamental analizar el haze y su potencial prevención con un antimetabolito como la Mitomicina C (MMC).<sup>16</sup>

En los últimos años se ha incorporado exitosamente el uso in vivo de la microscopía confocal con el objeto de observar las modificaciones inducidas por el LASIK.<sup>17-28</sup> Este estudio ha permitido visualizar los cambios estructurales de la cornea y la secuencia temporal de los mismos. Este examen provee además información importante para determinar la evolución postquirúrgica o evaluar los efectos de tratamientos combinados. El objetivo de este trabajo fue evaluar las modificaciones tisulares de la cornea a mediano y largo plazo con microscopía confocal in vivo después de laser assisted epithelial keratomileusis (LASEK) usando Mitomicina C.

## Materiales y Métodos

Se estudiaron 25 ojos de 16 pacientes operados mediante la técnica de LASEK con Mitomicina C 0,02%. El promedio de edad de los pacientes fue de  $35,25 \pm 7,60$  años. El promedio de miopía fue de  $6,24 \pm 2,24$  (equivalente esférico), siendo la agudeza visual mejor corregida de  $0,88 \pm 1,40$ . Todos los pacientes fueron operados con el mismo excimer laser (Bausch & Lomb z217, Bausch & Lomb, Miami, USA). El promedio de ablación fue de  $92,45 \pm 10,4$  micrones.

## Procedimiento de LASEK

Se indicó preoperatoriamente L-Cistina 1 gramo por día para mejorar la cicatrización epitelial desde 5 días previos a la cirugía hasta 10 días posteriores a la misma. Asimismo se indicó dexametasona 0,1% con tobramicina 0,3% y ácido hialurónico desde 24 horas antes a la cirugía con una dosis de carga de 1 gota cada 5 minutos durante 25 minutos y tres veces por día hasta el momento de la cirugía.

Para la anestesia se instiló clorhidrato de proparacaina 0,5% cada cinco minutos durante la media hora previa a la cirugía. Se utilizó un trépano epitelial diseñado para LASEK de 8,0 mm de diámetro con profundidad calibrada y hinge superior (E-Janah 2900, Como, Italia). Se instilaron tres o cuatro gotas de una solución de alcohol al 20% (una parte de alcohol, cuatro partes de agua destilada) a través de un cono de 8,5 mm de diámetro (E-Janah 2905, Como, Italia) colocado sobre la cornea, dejando actuar la solución durante 40 a 45 segundos. Luego se retiró la solución introduciendo a través del cono una esponja de Merocel (Medtronic Solan, Jacksonville, USA). Antes de despegar el epitelio se lo movilizó con otra esponja de Merocel. Luego, la cornea fue abundantemente irrigada con solución fisiológica. Con una microniada (E-Janah 2915, Como, Italia) se despegaron suavemente los bordes del flap epitelial y con una espátula acodada (E-Janah 2930, Como, Italia) se fue desprendiendo y plegando el flap hacia la hora doce.

Se preparó una ampolla de MMC 5 mg diluida en solución fisiológica al 0,02% (equivalente a 0,2 mg/ml) de la siguiente manera: se agregó 10 ml de solución fisiológica obteniendo una concentración de 0,5 mg/ml; luego se cargó en una jeringa y se diluyó para obtener la concentración deseada. Posteriormente se embebió una esponja de Merocel, dejando actuar la droga durante 75 segundos. Se realizó luego la ablación convencional del estroma con excimer laser (Technolas Keracor z217, Bausch & Lomb, Miami, USA). Se reposicionó suavemente el flap epitelial con una cánula acodada en 90 grados. Se colocó un lente de contacto blando terapéutico de poder plano, con curva base de 8,4 mm.

Finalmente se indicó dexametasona 0,1% con tobramicina 0,3% y ácido hialurónico cuatro veces por día durante el período de re-epitelización, indicando el uso de un oclusor plástico fenestrado durante las noches de dicho período. Una vez que la reepitelización se hubo completado, se retiró el lente de contacto y se indicó acetato de fluorometolona 0,1% cuatro veces por día durante el primer mes, tres veces por día durante el segundo mes y dos veces por día durante el tercer mes acompañado de un lubricante sin conservantes en la misma proporción de veces que el corticoide mencionado.

Los pacientes fueron examinados al primer, segundo, tercero y cuarto día postoperatorio, o hasta el momento en que se retiró el lente de contacto. El siguiente control se llevó a cabo en la primera semana postoperatoria. Luego se realizaron controles al primer mes, segundo mes, tercer mes, sexto mes y duodécimo mes (en todos los cuales se midió la PIO debido a la medicación corticoidea). Entre el segundo y tercer mes operatorio se evaluó y calificó la presencia de haze. Fue considerado como *haze incipiente* aquel vagamente detectable; *haze grado 1* como el que se

detecta muy ligeramente y no compromete prácticamente la transparencia corneal; *haze grado II* aquel que presenta una opacidad moderada y no impide ver las estructuras posteriores; *haze grado III* el que presenta una opacidad densa y marcada obstaculizando la visibilidad del iris y *haze grado IV* aquel que presenta una opacidad severa e impide la visibilidad del iris. Entre el tercer y sexto mes se realizó un control de la topografía corneal (Plácido y de elevación) y sensibilidad de contraste. Los pacientes con grado III y IV fueron excluidos del análisis postoperatorio de la elevación posterior por el artefacto de la opacidad. En todas las exámenes, a partir de la primera semana, se evaluó, además de la biomicroscopia, la agudeza visual sin corrección, la refracción y la mejor agudeza visual corregida.

### Análisis con microscopía confocal

El examen con microscopía confocal in vivo de los pacientes se realizó utilizando el Rostock Cornea Module/HRT II (Heidelberg Engineering GmbH, Dossenheim, Germany). El tiempo medio entre la cirugía y el examen con microscopía confocal fue  $1,86 \pm 1,49$  años. Inmediatamente antes del procedimiento se preparó al paciente con una gota de anestésico tópico (clorhidrato de proparacaina 0,5%) y un gota de viscoelástico de alta densidad (preferentemente ácido poliacrílico 0,2%, Acrylar, Poen, Argentina) en cada ojo. Se obtuvieron imágenes bidimensionales en escala de grises de la cornea y el limbo utilizando un objetivo de inmersión (X63) y un lente de campo 400 FOV, representando un área de  $400 \times 400 \mu\text{m}$ . La resolución de las imágenes es aproximadamente  $1 \mu\text{m}/\text{pixel}$  (transversal) and  $2 \mu\text{m}/\text{pixel}$  (longitudinal). El promedio de imágenes capturadas fue de 200 por ojo. Se obtuvieron imágenes

de todo el espesor de la cornea desde la superficie epitelial hasta el endotelio espaciadas entre sí entre  $2$  y  $5 \mu\text{m}$  en las mismas condiciones. Teniendo en cuenta la reflectividad de la matriz extracelular y células, se seleccionaron las imágenes más representativas obtenidas inmediatamente por debajo del epitelio y la membrana basal (debido al LASEK la capa de Bowman no estaba presente). Las imágenes fueron todas recortadas a una superficie de  $10 \times 10 \text{ mm}$  ( $384 \times 384$  pixels), equivalentes a  $147,456$  square pixels (sp) (formato gráfico bmp). En cada una de las imágenes se cuantificó el número de píxeles del área reflectiva que representaba al conjunto de células, depósitos y aumento de la reflectividad de la matriz extracelular en relación al "background" (programa Sion Image for Windows, Sion Corporation, USA). Debido a que la medición depende del nivel de umbral utilizado, el valor de reflectividad se obtuvo del promedio de tres imágenes con umbrales que mejor se ajustaban a la reflectividad de acuerdo a la imagen. Con el objeto de tener un valor de referencia para

evaluar el grado de reflectividad del estroma subepitelial en LASEK, se midió de la misma manera la reflectividad del estroma superficial en 10 ojos de cinco sujetos con miopía y usuarios de lentes de contacto con similares características basales (clínicas) prequirúrgicas a las de los pacientes tratados. Los valores de reflectividad se expresaron en píxeles al cuadrado y porcentajes en píxeles de la superficie total. En estos ojos se evaluaron las imágenes capturadas inmediatamente por debajo de la capa de Bowman. Las diferencias entre los grupos se analizó con el test de t, para muestras no apareadas de variancias desiguales y se lo considero significativo para  $p < 0,05$ .

### Resultados

La Tabla 1 presenta las características epidemiológicas de la población en estudio mediante microscopía confocal. El promedio de equivalente esférico postoperatorio del grupo operado con LASEK y Mitomicina C fue de  $-0,10 \pm 0,52$ , siendo la agudeza visual sin corrección de  $0,83 \pm 0,22$  y la agudeza visual mejor corregida de  $0,88 \pm 0,18$ .

Considerando la evaluación biomicroscópica, no se presentó haze en ninguno de los casos.

**Tabla 1.**  
Características epidemiológicas de la población estudiada mediante microscopía confocal (MC).

Características	Valores
Edad (años)	$36,25 \pm 7,60$
F/ M	18 / 11
Eq. Esférico (D)	$-6,24 \pm 2,24$
Ablación ( $\mu$ )	$92,45 \pm 10,4$
Haze Biomicroscópico	NO
Tiempo* (años)	$1,86 \pm 1,49$

\*Tiempo transcurrido entre la cirugía y el estudio con microscopía confocal.

### Análisis cualitativo de la celularidad corneal mediante microscopía confocal

En todos los casos tratados, el epitelio estaba en contacto directo con el estroma sin identificación de la capa de Bowman (Fig. 1). En 4 ojos de 3 pacientes se observaron células inflamatorias aisladas en epitelio y estroma superficial. En un ojo se observó aumento de espesor de la membrana basal y en otro un tracto cicatrizal en la interfase epitelio-estromal. El plexo nervioso sub-basal estaba alterado en todos los pacientes con disminución de nervios, irregularidad del espesor, recorrido tortuoso y terminaciones abruptas (Fig. 2). En el estroma anterior subepitelial se observó marcada disminución y desaparición de queratocitos (Fig. 2).

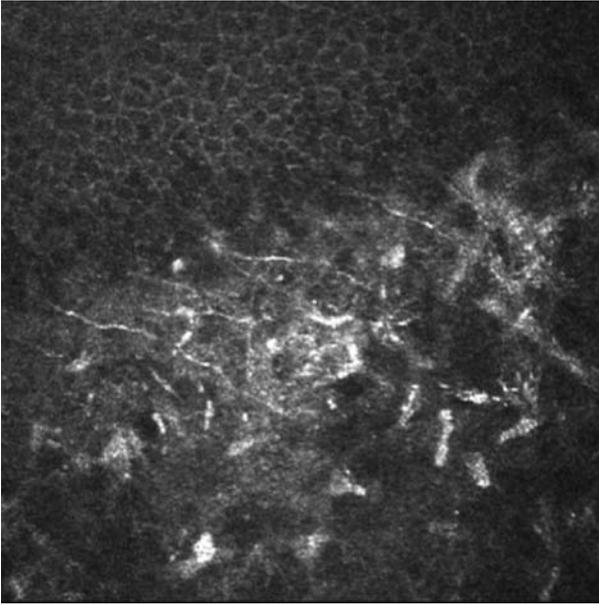


Figura 1. Imagen oblicua de la cornea superficial, con el epitelio arriba. Ausencia de membrana de Bowman y estroma adyacente con nervios regenerados, depósitos puntiformes y reflectividad aumentada de la matriz extracelular.

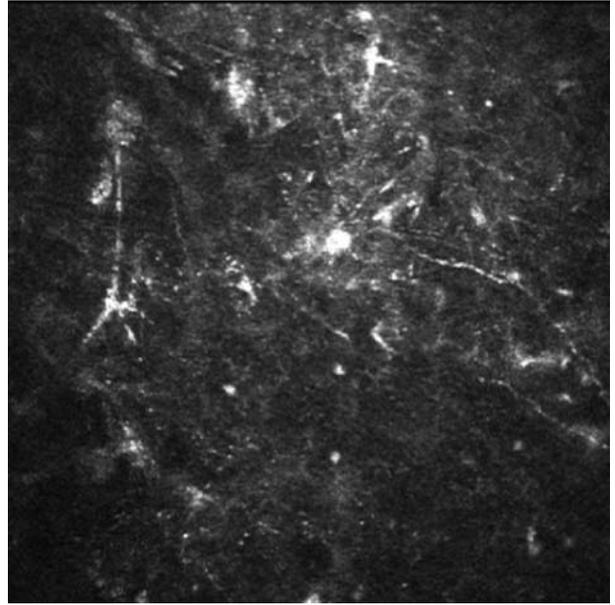


Figura 2. Pérdida de queratocitos en el estroma corneal superficial con nervios regenerados y células inflamatorias aisladas.

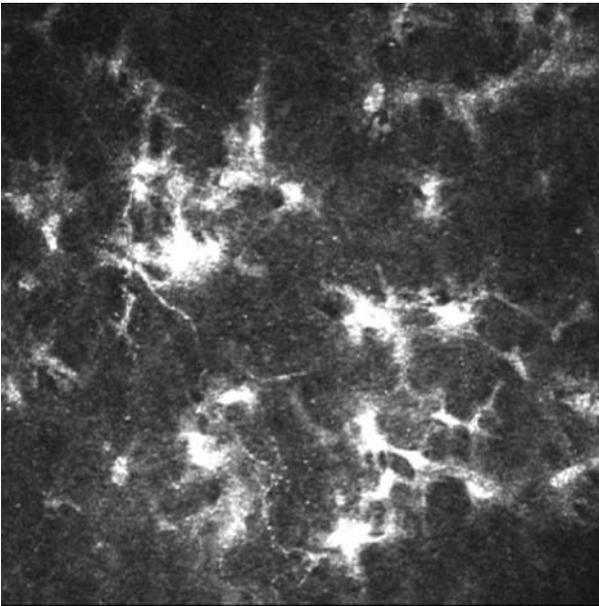


Figura 3. Imagen del estroma corneal superficial, 3 meses luego de LASEK con queratocitos estrellados.

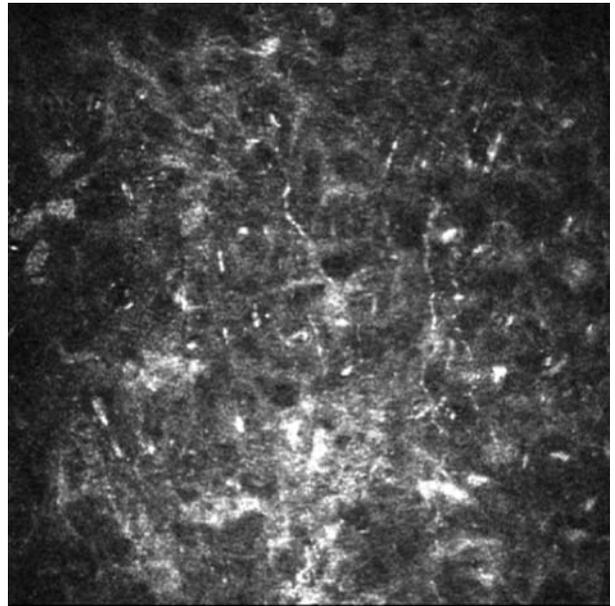


Figura 4. Imagen de la córnea superficial 16 meses luego de LASEK con aumento de la reflectividad de la matriz extracelular y depósitos puntiformes, núcleos de los queratocitos y nervios regenerados.

En 11 ojos de 6 pacientes fue notable la presencia no confluyente de células de configuración estrellada y citoplasma amplio correspondientes a queratocitos (Fig. 3). En la mayoría de los casos, el estroma superficial presentaba un aumento de reflectividad de la matriz extracelular con múltiples puntos hiperreflectivos y depósitos en forma de aguja (Fig. 4). El análisis temporal de los cambios en el

estroma anterior superficial reveló cambios en la presencia de células y reflectividad del estroma (Figs. 3-5). En 4 ojos de 3 pacientes se observaron células inflamatorias aisladas demostrando la presencia de leucocitos y linfocitos. El estroma medio y profundo no mostró cambios respecto a las imágenes observadas en los pacientes no tratados. El endotelio tenía aspecto normal con leve polimegatismo en todos

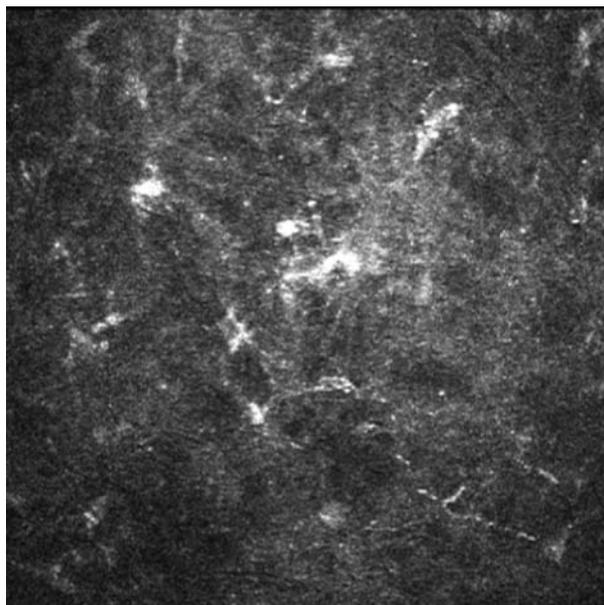


Figura 5. Imagen de la córnea superficial 36 meses luego de LASEK con estroma hipocelular, aumento de la reflectividad del tejido posterior y unos pocos nervios regenerados.

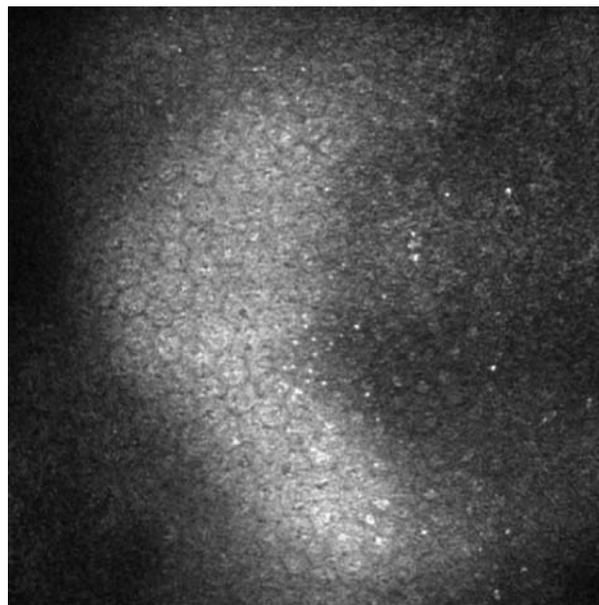


Figura 6. Tres meses luego de LASEK, el endotelio corneal muestra polimegatismo moderado y múltiples y pequeños puntos hiperreflectivos.

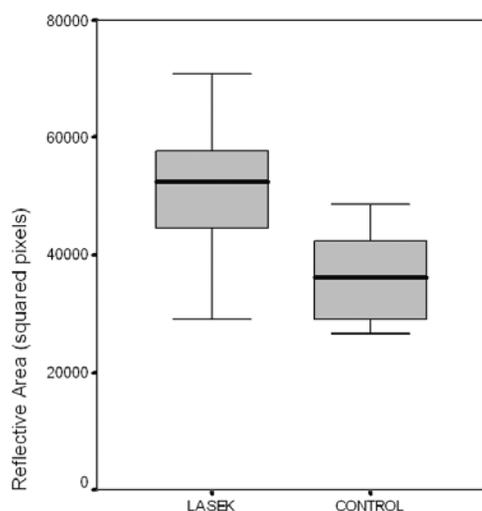


Figura 7. Box plot representando el porcentaje de reflectividad estromal superficial en ojos de pacientes no tratados (control) y luego de LASEK.

los ojos. En 6 ojos de 5 pacientes se observaron pequeños puntos refringentes sobre el endotelio (Fig. 6).

### Análisis cuantitativo de la celularidad corneal mediante microscopía confocal

En el grupo de ojos tratados con LASEK y Mitomicina C el área reflectiva media fue  $51.622 \pm 10.933$  sp, rango 29.050 a 70.922 sp. En el grupo control (ojos no operados) el área reflectiva media fue  $32.066 \pm 4.877$  sp, rango 28.033 a 37.487 sp ( $p=0,01$ ). La diferencia de reflectividad expresados en porcentajes entre los controles y los tratados

con LASEK se ve en la figura 6. Los valores de pixeles expresados en porcentajes se agruparon en cuartiles (0, 25, 50, 75, 100). En el grupo control, 8 ojos estuvieron dentro del primer cuartil (0-25%) y los dos restantes en el segundo cuartil (25-50%). En el grupo tratado con LASEK y Mitomicina C, 13 ojos estuvieron dentro del segundo cuartil (25-50%) y 16 ojos en el tercer cuartil (50-75%).

### Discusión

Aunque todavía subsisten controversias en el uso de LASEK, la técnica de LASEK con Mitomicina ha demostrado ser efectiva y segura para casos desafiantes (como corneas de bajo espesor, asimetrías corneales, y elevada queratometría) con nula incidencia de haze clínico en nuestra experiencia.<sup>16</sup>

La microscopía confocal de cornea es un método de observación a nivel celular en tiempo real no invasivo permite demostrar los eventos que ocurren a través del tiempo facilitando la reconstrucción temporal de las modificaciones estructurales en la cornea. La microscopía confocal de cornea in vivo ha permitido dilucidar los cambios titulares corneales asociados a la cicatrización luego de la cirugía refractiva. Si bien hay numerosos estudios publicados sobre análisis in vivo mediante microscopía confocal sobre la cicatrización luego de PRK y LASIK,<sup>29-33</sup> hasta muy recientemente no había publicaciones específicas referidas a LASEK. Nakano et al.,<sup>34</sup> publicaron recientemente un estudio comparativo, incluyendo microscopía confocal, entre LASEK y LASEK con mitomicina hasta 90 días después

del procedimiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios estructurales asociados con la cicatrización en una serie de pacientes operados con LASEK y Mitomicina hasta pasados los tres años postoperatorios.

Debido a la similitud conceptual básica en la ablación superficial del estroma entre PRK y LASEK es razonable comparar los resultados de las

observaciones con microscopía confocal entre las dos técnicas. Inmediatamente después de la PRK la reepitelización se completa en 92 hs.<sup>31</sup> Como en la PRK, el LASEK destruye el plexo nervioso sub-basal en el área de ablación. El plexo nervioso sub-basal destruido en el área ablacionada, se comienza a regenerar dentro del primer mes y la densidad se completa en períodos variables, hasta 2 años después de la cirugía.<sup>29,31</sup> Los nervios disminuyen en densidad, tamaño y longitud en el primer mes. La tortuosidad desaparece a los 3 meses y la densidad continua aumentado a los 6 meses.<sup>35-36</sup> Teóricamente la reposición epitelial inmediata en LASEK, produce una inhibición de la activación de los queratocitos mediada por citoquinas. En ambos procedimientos, PRK y LASEK, la densidad y forma de los queratocitos cambia en las capas superficiales del estroma. Estas transformaciones celulares, tiempo dependientes, incluyen la aparición de células activadas similares a miofibroblastos que luego se transforman en queratocitos migratorios. La presencia de células estrelladas en el estroma se ve dentro del primer mes, luego de la PRK. Entre el tercer y sexto mes, se observa el decrecimiento de los queratocitos activados y de la hiper reflectividad del estroma anterior. El estadio final de la cicatrización es una unión tisular entre el epitelio y el estroma altamente reflectiva. En nuestra serie de casos se observaron, aún luego de 3 años post-LASEK, modificaciones tisulares como regeneración de los nervios sub-basales, decrecimiento de la celularidad, células estromales activadas, depósitos y cambios en la matriz extracelular.<sup>33</sup> En estudios de PRK en corneas donantes ex vivo, sin y con mitomicina, se ha demostrado que la exposición a mitomicina C (0.2 mg/mL) no produce mayor pérdida de queratocitos y retarda la repoblación por queratocitos del estroma anterior.<sup>33</sup> Es razonable asumir que estos hallazgos pueden estar relacionados con el uso de Mitomicina. La cicatrización resultante en estos pacientes no estuvo asociada con haze. Algunos estudios han demostrado que ablaciones más profundas provocan mayor activación con aumento en el riesgo de haze.<sup>31</sup> El haze clínico puede representar, en verdad, una combinación de aumento de la reflectividad con depósitos en el tejido cicatrizal y densidad aumentada de los queratocitos.<sup>29,37-38</sup> Tanto en la PRK como en LASEK usualmente no hay daño del estroma medio y profundo, ni del endotelio.<sup>38</sup> Nakano et al.,<sup>34</sup> hallaron una reducción del recuento endotelial en pacientes tratados con LASEK y Mitomicina. Futuros estudios enfocados en el endotelio

podrán dilucidar la significancia de los depósitos puntiformes encontrados en el endotelio de 6 ojos de nuestra serie, no asociados con pérdida celular.

#### Bibliografía

- 1- Saltz JJ, Maguen E, Macy JI y col. One- year results of excimer laser photorefractive keratectomy for myopia. *Refract Corneal Surg* 1992;8: 269-73.
- 2- Saltz JJ, Maguen E, Nesburn AB y col. A two-year experience with excimer laser photorefractive keratectomy for myopia. *Ophthalmology* 1993;100:873-82.
- 3- Gartry DS, Kerr Muir MG, Marshall J. Excimer laser photorefractive keratectomy; 18 month follow-up. *Ophthalmology* 1992;99:1209-19.
- 4- Epstein D, Fagerholm P, Hamberg-Nyström H, Tengroth B. Twenty -four -month- follow- up of excimer laser photorefractive keratectomy for myopia: refractive and visual results. *Ophthalmology* 1994;101:1558-63.
- 5- Hersh PS, Brint SF, Maloney RK, Durrrie DS y col. Photorefractive keratectomy versus laser in situ keratomileusis for moderate to high myopia: a randomized prospective study. *Ophthalmology* 1998;105:1512-22.
- 6- Pop M, Aras M. Multizone/Multipass photorefractive keratectomy: six months results. *J Refract Surg* 1995;21:633-43.
- 7- Zhao K, Wang Y, Zuo T, Wang H. Multizone and transition zone photorefractive keratectomy for high myopia. *J Refract Surg* 1998;14: S222-225.
- 8- Seiler T, Holschbach A, Derser M y col. Complications of myopic photorefractive keratectomy with the excimer laser. *Ophthalmology* 1994;101:153-60.
- 9- Lowenstein A, Lipshitz I, Varssano D, Lazar M. Complications of excimer laser photorefractive keratectomy for myopia. *J Cataract Refract Surg* 1997;23:1174-6.
- 10- Alió JL, Artola, Claramente PJ y col. Complications of photorefractive keratectomy for myopia: two-year-follow-up of 3000 cases. *J Cataract Refract Surg* 1998;24:619-26.
- 11- Shahinian L. Laser-assisted subepithelial keratectomy for low to high myopia and astigmatism. *J Cataract Refract Surg* 2002;28:1334-42.
- 12- Autrata R, Recurek J. Laser-assisted subepithelial keratectomy for myopia: Two-year follow-up. *J Cataract Refract Surg* 2003;29:661-8.
- 13- Pallikaris I, Naoumidi I, Kalyvianaki M, Katsanevaki V. Epi-Lasik: comparative histological evaluation of mechanical and alcohol-assisted epithelial separation. *J Cataract Refract Surg* 2003;9:1496-501.
- 14- Autrata R, Recurek J. Laser-assisted subepithelial keratectomy and photorefractive keratectomy for the correction of hyperopia: Results of a 2-year follow-up. *J Cataract Refract Surg* 2003;29:2105-14.
- 15- Claringbold TV II. Laser-assisted subepithelial keratectomy for the correction of myopia. *J Cataract Refract Surg* 2002;28:18-22.
- 16- Argento C, Cosentino MJ. Use of mitomycin-c in lasek. *J Refract Surg* 2006;22:782-6.
- 17- Slowik C, Somodi S., Richter A, Guthoff R. Assessment of corneal alterations following LASIK by confocal slit scanning microscopy. *German J Ophthalmol* 1997;5:526-31.
- 18- Pisella PJ, Auserie O, Bokobza Y, Debbash C, Pharm D y col. Evaluation of corneal stromal changes in vivo after LASIK with confocal microscopy. *Ophthalmology* 2001;108:1744-50.
- 19- Perez Gomez I, Efron N. Change to corneal morphology after refractive surgery (myopic LASIK) as viewed with a confocal microscopy. *Optom Vis Sci* 2003;80:690-7.
- 20- Avunduk AM, Senft AJ, Emerah S, Varnell ED et al. Corneal healing after uncomplicated LASIK and its relationship to refractive changes at sixth- month prospective confocal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:1334-9.
- 21- Vinciguerra P, Torres I, Camesasca FL. Application of confocal microscopy in refractive surgery. *J Refract Surg* 2002;18 (suppl):5378- 81.
- 22- Gokmen F, Jester JB, Petroll WM, Mc Culley JP y col. In vivo confocal microscopy through-focusing to measure corneal flap thickness after LASIK. *J Cataract Refract Surg* 2002;28:962-70.
- 23- Vesaluoma M, Perez Santonja J, Petroll WM y col. Corneal stromal changes induced by myopic LASIK. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:369-76.

- 24- Ivarsen A, Laurberg T, Moller-Pedersen T. Characterization of corneal fibrotic wound repair at the LASIK flap margin. *Br J Ophthalmol* 2003;87:1272-8.
- 25- Patel SV, Erie JC, Aberrant regeneration of corneal nerves after LASIK. *J Cataract Refract Surg* 2003;29:387-9.
- 26- Calvillo Mp, Mc Laren JW, Hodge DO y col. Corneal reinnervation after LASIK: prospective 3-year longitudinal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:3991-6.
- 27- Lee BH, Mc Laren JW, Erie JC y col. Reinnervation in the cornea after LASIK. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:3660-4.
- 28- Vesaluoma M, Petroll WM, Perez Santonja JJ y col. LASIK flap margin: wound healing and complication imagen by in vivo confocal microscopy. *Am J Ophthalmol* 2000;130:564-73.
- 9- Kaufman SC, Kaufman HE. How has confocal microscopy helped us in refractive surgery? *Current Opinion in Ophthalmology* 2006;17:380-8.
- 30- Dhaliwala JD, Kaufman SC, Chiou AGY. Current applications of clinical confocal microscopy. *Curr Opin Ophthalmol* 2007;18:300-7.
- 31- Rajan M, Watters W, Patmore A y col. In vitro human corneal model to investigate stromal epithelial interactions following refractive surgery. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:1789-801.
- 32- Chew SJ, Beuerman RW, Kaufman HE y col. In vivo confocal microscopy of corneal wound healing after excimer laser photorefractive keratectomy. *CLAOJ* 1995;21:273-80.
- 33- Rajan MS, O'Brart DPS, Patmore A, Marshall J. Cellular effects of mitomycin-C on human corneas after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 2006;32:1741-7.
- 34- Nakano EM, Bains HS, Hirai FE, Portellinha W, Oliveira M, Nakano K. Comparison of laser epithelial keratomileusis with and without mitomycin C for wavefront customized surface ablations. *J Refract Surg*. 2007;23(Suppl):S1021-8.
- 35- Lee SJ, Kim JK, Seo KY, et al. Comparison of corneal nerve regeneration and sensitivity between LASIK and laser epithelial keratomileusis (LASEK). *Am J Ophthalmol* 2006;141:1009-15.
- 36- Darwish T, Brahma A, O'Donnell C, Efron N. Subbasal nerve fiber regeneration after LASIK and LASEK assessed by noncontact esthesiometry and in vivo confocal microscopy: Prospective study. *J Cataract Refract Surg* 2007;33:1515-21.
- 37- Ying L, Xiao Z, Liuxueying Z, Yumei J. Clinical use of in vivo confocal microscopy through focusing in corneal refractive surgery. *J Refract Surg*. 2006;22 (suppl):1011-6.
- 38- Ghirlando A, Gambato C, Midea E. LASEK and photorefractive keratectomy for myopia: clinical and confocal microscopy comparison. *J Refract Surg*. 2007;23:694-702.

## V Congreso Nacional de Investigación en Visión y Oftalmología

Ciudad de Córdoba - 25 de octubre de 2008

Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología (AIVO)  
(Argentinian Chapter of ARVO)

**LUGAR:** Salón de conferencias del Edificio Integrador, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba.

**INSCRIPCIONES: \$50.** La ficha de inscripción y pago de la misma serán recepcionados por el comité organizador y/o miembros de la comisión directiva en distintos lugares a confirmar.

**APOYO ECONÓMICO:** Se otorgaran becas de inscripción y ayuda para viaje a los primeros autores becarios de investigación y residentes de oftalmología.

**FECHA LÍMITE DE PRESENTACIÓN DE RESÚMENES:** serán recibidos hasta el 15 de septiembre de 2008 vía e-mail.

**MODALIDAD DEL CONGRESO:** Consistirá en una conferencia principal "Conferencia AIVO", cuatro conferencias cortas de actualización y comunicaciones orales referentes a investigaciones clínicas y básicas, en sesiones plenarias con activa participación de los asistentes.

**INFORMES, RECEPCIÓN DE RESÚMENES E INSCRIPCIÓN:** comite.aivo2008@gmail.com