

INDUCCIÓN DEL CROSS-LINKING DE COLÁGENO CON RIBOFLAVINA / RAYOS ULTRAVIOLETA – A PARA EL TRATAMIENTO DEL QUERATOCONO

Dr. Gregor Wollensak, Prof. Eberhard Spoerl, Prof. Dr. Theo Seiler

PROPÓSITO: En ojos de animales, se ha encontrado un incremento importante en la rigidez biomecánica corneal, después de un cross-linking de colágeno mediante un tratamiento combinado de riboflavina/rayos ultravioleta (UVA). El propósito del presente estudio, fue evaluar la utilidad clínica del cross-linking de colágeno de riboflavina/ inducción de UVA, para detener el progreso del queratocono.

DISEÑO: Estudio clínico piloto de prospección, no aleatorio.

MÉTODOS: Se incluyeron 23 ojos de 22 pacientes con queratocono progresivo moderado a avanzado (valor K máximo, 48-72 dioptrías). Después de una abrasión corneal central, se instilaron gotas fotosensibilizadoras de riboflavina y se expusieron los ojos a rayos UVA (370 nm, 3 mW/cm²) a una distancia de 1 cm durante 30 minutos. Se realizaron las evaluaciones postoperatorias en intervalos de 6 meses, incluyendo el test de agudeza visual, topografía corneal, examen con lámpara de hendidura, mediciones de la densidad de las células del endotelio y documentaciones fotográficas. El período de seguimiento fue de 3 meses a 4 años.

RESULTADOS: Al menos en todos los ojos tratados, se detuvo la progresión del queratocono.

En 16 ojos (70%), se encontró una regresión con una reducción de las lecturas máximas de queratometría en 2,01 dioptrías y del error refractivo en 1,14 dioptrías. La transparencia corneal y de la lente, la densidad de las células del endotelio y la presión intraocular, permanecieron sin cambio. La agudeza visual mejoró ligeramente en 15 ojos (65%).

CONCLUSIONES: El cross-linking de colágeno, podría ser una nueva manera para detener la progresión de la queratectasia en pacientes con queratocono. Se podría reducir significativamente la necesidad de una queratoplastia penetrante en queratocono. Dada la simplicidad y los costos mínimos del tratamiento, también podría ser muy adecuado para los países en desarrollo. Se necesitan resultados a largo plazo para evaluar la duración del efecto de rigidez y excluir efectos secundarios a largo plazo. (Am J. Ophthalmol 2003; 135:620-627. © by Elsevier Inc. Todos los derechos reservados.)

El Queratocono, es una ectasia, no inflamatoria y con forma de cono de la córnea, que usualmente es bilateral y progresa con el tiempo. Su frecuencia es de aproximadamente 1 en 2.000 personas de la población general.¹ Usualmente, la condición comienza en la pubertad, progresando aproximadamente en 20%, hasta el punto en que es necesaria una queratoplastia penetrante.^{2,3}

Además de la queratoplastia penetrante, las lentes de contacto rígidas son la principal modalidad de tratamiento para el queratocono. Raras veces pueden considerarse la epikeratoplastia, la queratectomía fotorrefractiva o los anillos intracorneales.^{1,4-7} No obstante, todas estas técnicas sólo corrigen los errores refractivos del queratocono, pero no tratan la causa de la ectasia corneal y, por lo tanto, no pueden detener la progresión del queratocono.

Se ha desarrollado una nueva técnica de cross-linking de colágeno mediante el fotosensibilizador de riboflavina y rayos UVA, similar a la fotopolimerización en polímeros.⁸

En extensos estudios experimentales en ojos de conejo y de cerdo, incluyendo mediciones biomecánicas de tensión-presión,⁹⁻¹¹, demostramos un incremento significativo de la rigidez

corneal de aproximadamente 70% en córneas tratadas, vs. ojos sin tratar después del crosslinking de colágeno mediante el tratamiento combinado de riboflavina/UVA. (**Figura 1**).

El propósito de este estudio piloto, fue evaluar el efecto del nuevo método de cross-linking en la progresión de queratectasia en pacientes con queratocono y excluir posibles efectos secundarios serios.

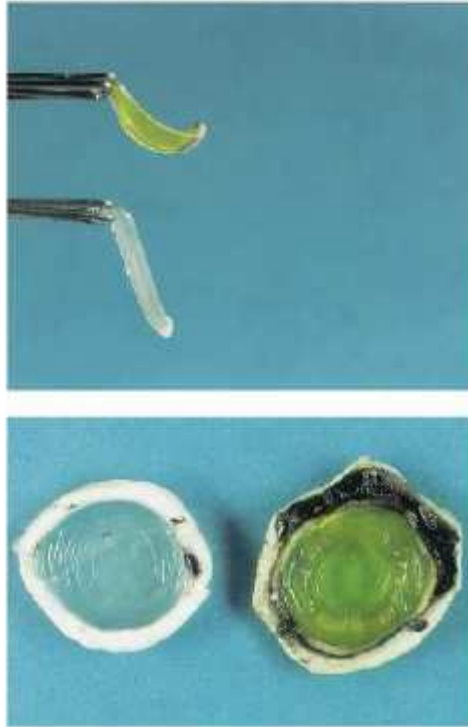


Figura 1. (Imagen superior), efecto de rigidez en una córnea porcina después del cross-linking con curvatura preservada en la córnea tratada (arriba) y doblamiento masivo de la córnea control sin tratar (abajo). (Imagen inferior) córnea porcina sin tratar arrugada (izq.) y estabilidad con uniformidad impresionante de la córnea porcina con cross-linking central.



Figura 2. Tratamiento de los 7 mm centrales de la córnea extraída centralmente con gotas de riboflavina y dos diodos de UVA .

DISEÑO ESTUDIO PILOTO DE PROSPECCIÓN, NO ALEATORIO

MÉTODOS

PREPARACIÓN PREOPERATORIA Y PACIENTES: Comenzando en 1998, en este estudio se incluyeron 23 ojos de 22 pacientes (10 mujeres, 12 hombres) de la *University Eye Clinic* de Dresden. El diagnóstico clínico de queratocono, se basó en la topografía corneal (**Figura 3**) y los signos clínicos del queratocono, tales como adelgazamiento estromal, anillo de Fleisher, estría de Vogt, o cicatriz estromal apical. La progresión preoperatoria del queratocono, se confirmó mediante historial médico de todos los pacientes y se documentó claramente mediante topografía corneal en serie en 12 ojos (52%; **Figura 4**). La edad promedio de los pacientes reclutados era de $31,7 \pm 11,9$ años, con un rango de 13 a 58 años (**Tablas 1 y 2**). A excepción del paciente 1 que tenía una amaurosis de Leber congénita y queratocono bilateral acuoso, los pacientes tenían un grado de progresión de queratocono de moderado a avanzado¹³, con valores queratométricos máximos entre 48 y 72 dioptrías (**Tablas 1 y 2**). Por razones de seguridad, en todos los casos, exceptuando el paciente 1, se trató un solo ojo; el ojo contra lateral sirvió como ojo de control. Los pacientes 11 y 22 utilizaban lentes de contacto rígidas en los ojos tratados, antes y después del tratamiento. El estudio de prospección no aleatorio, se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Antes de su participación, los sujetos leyeron y firmaron un formulario de consentimiento informado aprobado por un comité de ética institucional.

PROCEDIMIENTOS DE OBSERVACIÓN: La exploración preoperatoria y los exámenes postoperatorios, incluyeron la medición de agudeza visual mejor corregida, topografía corneal con videoqueratoscopio (C-Scan; Technomed, Baseweile, Alemania), presión intraocular mediante tonometría de aplanación de Goldmann, densidad de las células del endotelio centrales utilizando un microscopio para células de endotelio (EM-1200; Tomey, Erlangen, Alemania), fotografía corneal y examen con lámpara de hendidura y del fondo. Sólo en los últimos 8 pacientes con valores mínimos de paquimetría de 460 a 540 μ m, se realizó una paquimetría preoperatoria (Pachette; Technomed, Baseweile, Alemania).

PROCEDIMIENTO DE TRATAMIENTO: El procedimiento del tratamiento se llevó a cabo bajo condiciones estériles en la sala de operaciones. Se instilaron gotas oculares de Proximetacainhidroclorhídrico 0,5% como anestesia local preoperatoria. Se extrajeron cuidadosamente 7 mm centrales del epitelio corneal utilizando un cuchillito desafilado. Como fotosensibilizador, se aplicó una solución de riboflavina 0,1% (10 mg de riboflavina-5-fosfato en 10 ml de solución dextran-T-500 20%), 5 minutos antes de la irradiación y cada 5 minutos durante la irradiación. Después de permitir a la riboflavina penetrar en la córnea durante al menos 5 minutos, se comenzó la irradiación en series de UVA, utilizando dos diodos UV (370 nm; Roithner Lasertechnik, Viena, Austria) con potenciómetro, para regular el voltaje. Se utilizaron 3 acumuladores de 1,3-V como generadores de electricidad. Antes de cada tratamiento, se controló la irradiación deseada de 3 mW/cm² con un medidor de UVA (laserMate-Q; LASER 2000, Wessling, Alemania) a la distancia de 1 cm y, en caso de que hubiese sido necesario, se regularía con el potenciómetro. Se irradió la córnea del paciente con los diodos de luz UVA (370 nm) a una distancia de 1 cm durante 30 minutos utilizando una irradiación de 3 mW/cm², que corresponde a una dosis de 5,4 J/cm². Después del tratamiento, se aplicó pomada antibiótica hasta la repitalización.

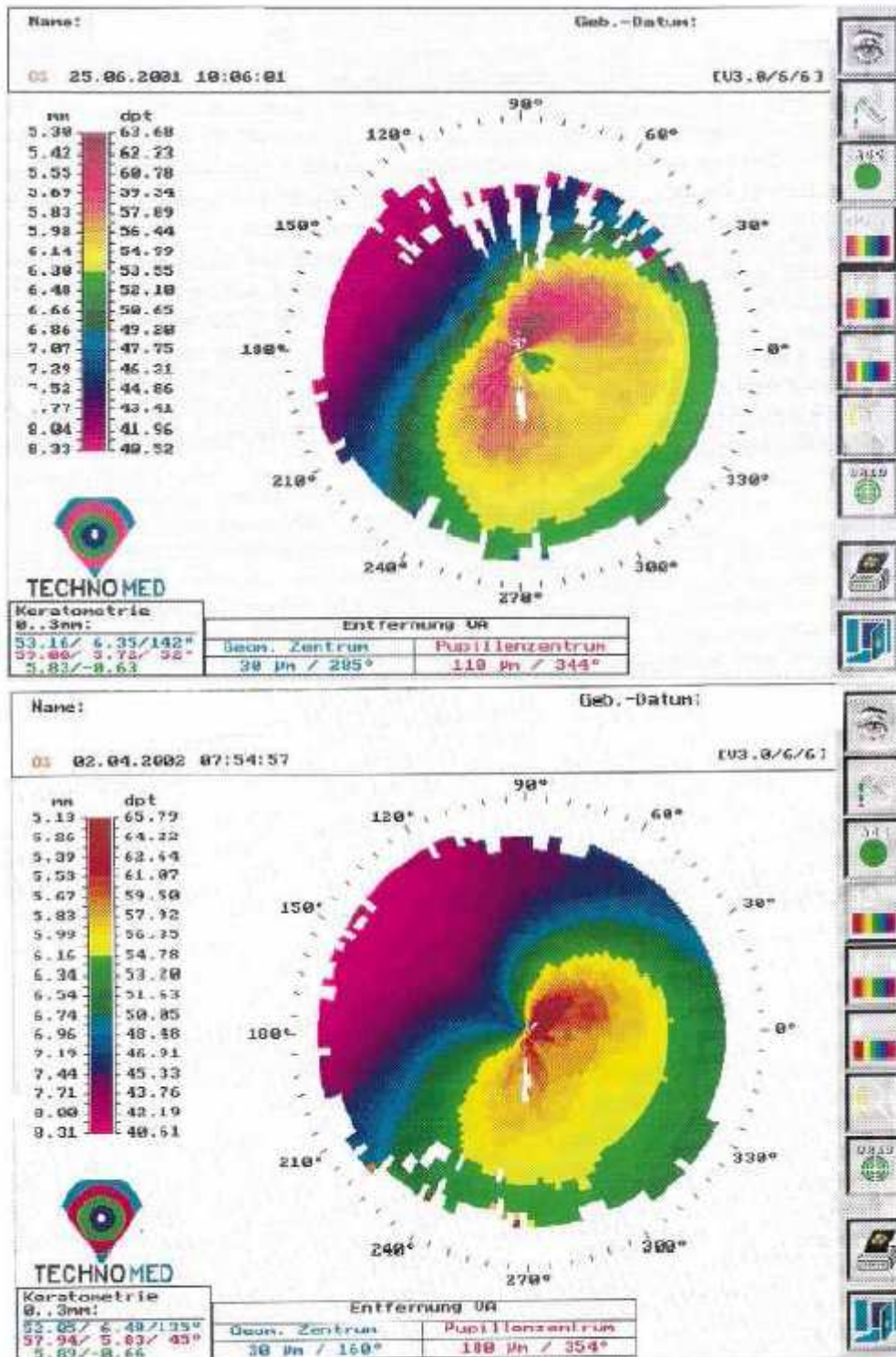


Figura 3. Topografía corneal de un paciente tratado (superior) inmediatamente antes de tratar y (inferior) 10 meses después del cross-linking con una ligera regresión del valor K máximo, en 1,06 dioptrías.

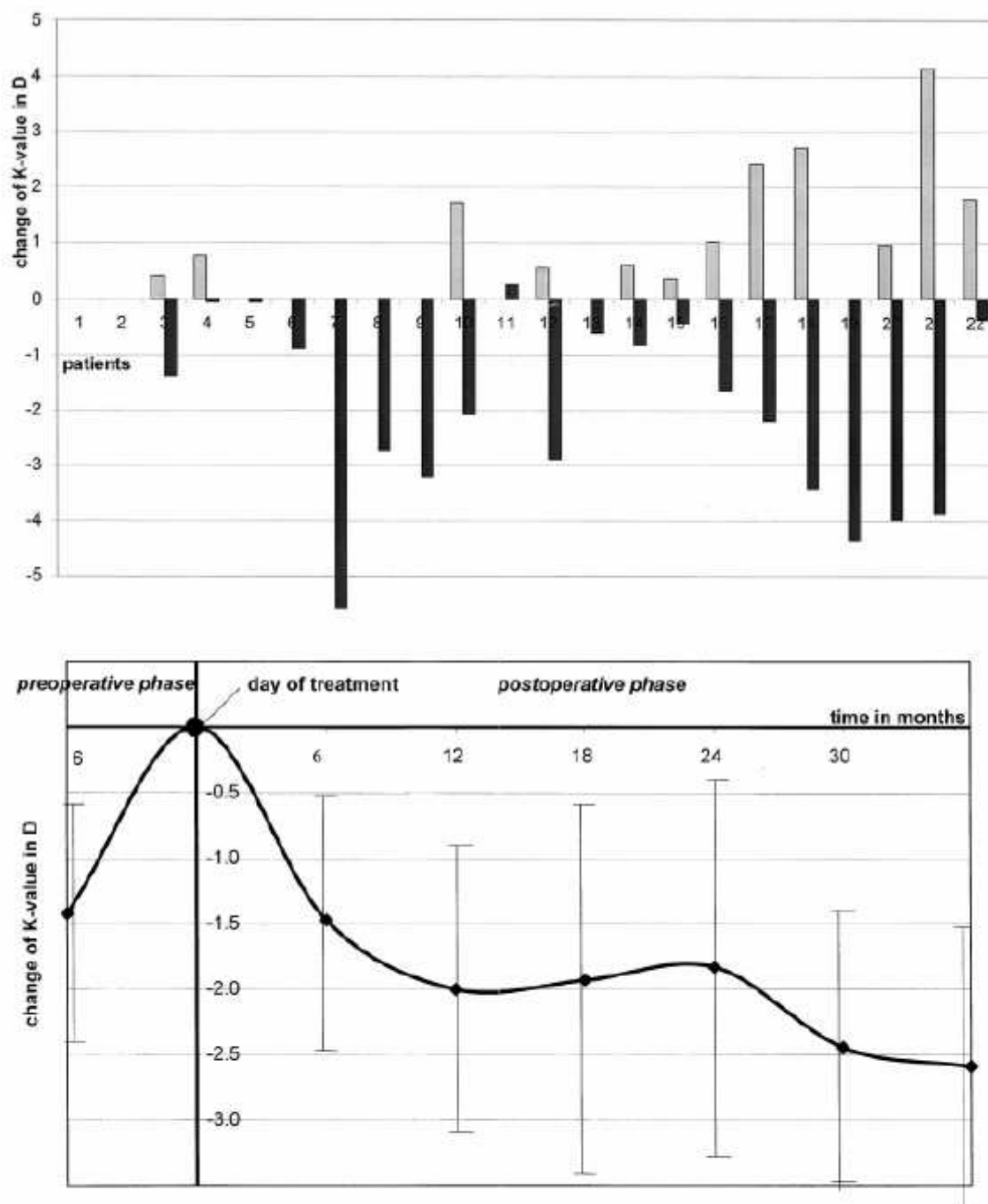


Figura 4. (Superior) diagrama de columnas demostrando la progresión pre-tratamiento del valor K máximo durante medio año antes del tratamiento y regresión post-tratamiento medida en el último examen del período de seguimiento de cada paciente. Eje Y: diferencia en el valor K máximo en dioptrías; Eje X: número de paciente. Las barras de color claro indican el cambio preoperatorio del valor K; las barras de color sólido indican el cambio postoperatorio del valor K. (Inferior) curva bifásica mostrando el cambio medio en el tiempo del valor K máximo relativo al valor K en el día del tratamiento con una progresión preoperatorio media en 1,4 dioptrías y una regresión postoperatoria en 2,0 dioptrías (eje X: tiempo en meses; eje Y: cambio del valor K máximo en D).



Tabla 1. Parámetros de Investigación

Paciente	Edad	Intervalo Postop	Agudeza Visual		Corrección Refractiva		Valor K Máximo		Densidad de Células del Endotelio		Transparencia Corneal y de la Lente
			Preop	Postop	Preop	Postop	Preop	Postop	Preop	Postop	
1 d	13	47	Sin PL	Sin PL	—	—	—	—	—	—	=
1 i	13	47	Sin PL	Sin PL	—	—	—	—	—	—	=
2	41	35	MM	20/400	—	—	—	—	—	—	=
3	32	33	20/50	20/22	-3	-1,5	49,69	48,30	2,300	2,300	=
4	19	33	20/40	20/33	-1,75	-1,5	57,94	57,90	2,400	2,390	=
5	38	31	20/25	20/20	-0,75	-0,75	49,36	49,32	2,200	2,250	=
6	58	31	MM	MM	-2,75	-2,75	49,10	48,20	1,700	1,700	=
7	49	30	20/25	20/25	3,5	3,5	50,32	44,45	—	—	=
8	36	29	20/33	20/28	-8,25	-3,5	50,94	48,20	2,600	2,640	=
9	29	29	20/66	20/33	-13	-13,125	56,49	53,29	2,580	2,600	=
10	36	27	20/25	20/22	-4,5	-2,125	53,19	51,11	—	2,700	=
11	31	27	20/40	20/33	-6	-7	48,85	50,13	2,150	2,130	=
12	29	24	20/50	20/28	-7	-5,5	55,50	52,61	2,450	2,450	=
13	39	20	20/66	20/40	-3	0	55,17	54,56	2,290	2,280	=
14	39	19	20/50	20/66	-2,75	-2,5	52,80	52,00	2,110	2,090	=
15	31	19	20/40	20/25	-6,75	-2,125	45,88	45,44	2,360	2,400	=
16	19	12	20/100	20/66	-10,25	-4,25	59,00	57,34	2,060	2,100	=
17	28	9	20/66	20/33	-0,75	-4	56,00	53,81	2,400	2,420	=
18	51	8	20/66	20/200	0,375	-0,875	55,60	52,18	2,100	2,050	=
19	32	7	20/66	20/50	-3,5	-2,5	67,07	62,72	2,700	2,700	=
20	30	6	20/33	20/20	-1,0	0,5	51,06	47,08	2,050	2,050	=
21	24	5	20/66	20/50	-3,0	-2,5	72,47	68,60	1,850	1,850	=
22	22	3	20/50	20/40	-1,25	-0,25	46,07	45,70	1,950	1,900	=

Los valores preoperatorios para la agudeza visual y los valores máximos de K, fueron determinados en el día del tratamiento. Los valores postoperatorios corresponden al día de las últimas visitas.

= indica sin cambio en transparencia; MM = movimiento de mano; PL = percepción de luz; postop = postoperatorio; preop = preoperatorio

Tabla 2. Resumen de los Datos del Paciente y Resultados

	Media ± SD	Valor P
Periodo de seguimiento medio	23,2 ± 12,9 meses	
Progresión preoperatoria en el valor K	1,42 ± 1,18 D	
Regresión postoperatoria en el valor K	2,01 ± 1,74 D	0,0001
Progresión postoperatoria en el error refractivo (equivalente esférico)	1,14 ± 2,18 D	0,030
Incremento postoperatorio en agudeza visual	1,26 ± 1,5 líneas	0,026
Presión Intraocular postoperatoria	Sin cambio	0,612
Transparencia postoperatoria en la lente y la córnea	Sin cambio	
Densidad postoperatoria de las células del endotelio	Sin cambio	0,45
Número de pacientes: 22		
Número de ojos: 23		
Género: 12 varones, 10 mujeres		
Edad: 31,7 ± 11,9 años		

Los valores postoperatorios se calcularon como la diferencia entre el valor en día del tratamiento y en la última visita de seguimiento. La progresión preoperatorio del valor K, se calculó como la diferencia en el valor K entre medio año antes del tratamiento y el día de tratamiento.

RESULTADOS

El período de seguimiento fue de 3 a 47 meses, con un tiempo medio de seguimiento de $23,2 \pm 12,9$ meses (**Tablas 1 y 2**). Estadísticamente, la agudeza visual mejor corregida mejoró significativamente en 15 pacientes (65%), en un promedio de 1,26 líneas (intervalo de confianza = 95%, -0,68 a 2,21; $P = 0,026$, test t de Student pareado), comparando los valores preoperatorios al día del tratamiento vs los valores postoperatorios del último examen. La refracción refractiva mejoró significativamente un promedio de 1,14 dioptrías (intervalo de confianza = 95%, 0,12 a 2,17; $P = 0,03$) en el equivalente esférico.



En 12 ojos (52%), la progresión preoperatoria media de los valores máximos K fue de $1,42 \pm 1,18$ dioptrías (**Figura 4, inferior**). En 16 pacientes (70%; **Figura 4, superior e inferior**), se encontró una regresión postoperatoria de queratocono al medirse mediante los valores K máximos (**Tabla 1**), con una reducción promedio de 2,01 dioptrías (intervalo de confianza = 95%, 1,23 a 3,07; $P = 0,001$, test t de Student pareado) comparando los valores preoperatorios en el día del tratamiento vs los valores postoperatorios del último examen (**Figura 3**). En 5 pacientes, el valor K permaneció estable y en un paciente, se presentó un incremento mínimo de 0,28 dioptrías del valor K. En el ojo de control colateral, sin embargo, 5 de 23 ojos (22%) mostraron una progresión continua del valor K máximo de 1,48 dioptrías en promedio, en el primer año después del tratamiento cross-linking del ojo colateral.

El proceso de recuperación postoperatorio fue normal, a excepción de un ligero edema estromal transitorio hasta la repitalización después de 3 días. No hubo efectos secundarios, tales como defectos o cicatrizaciones epiteliales persistentes. Durante la primera noche postoperatoria, se administró alguna medicación para el dolor. La transparencia corneal y de la lente y la densidad de las células del endotelio ($P = 0,45$), permanecieron sin cambio alguno (**Tablas 1 y 2**). El uso de lentes de contacto para la corrección refractiva en los pacientes 19 y 22, pudo continuarse sin problemas de estabilidad de la película lagrimal.

No se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la presión intraocular media preoperatoria de $13,6 \pm 2,0$ mm Hg del día del tratamiento y la presión intraocular media postoperatoria de la última visita de $13,8 \pm 2,5$ mmHg ($P = 0,615$).

DISCUSIÓN

Este estudio ha demostrado que el cross-linking de colágeno parece ser muy efectivo en la detención de la progresión del queratocono *quasi* "congelando" la córnea. Este efecto se corrobora por los siguientes datos del estudio: Se observó una regresión postoperatoria en 70% de los pacientes, con una disminución de los valores K medios en 2,01 dioptrías postoperatoriamente, a pesar de la progresión preoperatoria de 1,42 dioptrías en 52%.²

También pudieron reducirse las correcciones refractivas postoperatorias en un promedio de $1,14 \pm 2,18$ dioptrías.³ En 22% de los ojos colaterales sin tratar, se observó una progresión de queratectasia en 1,48 dioptrías.⁴ En las mediciones biomecánicas de experimentos previos, se midió un aumento de estabilidad biomecánica de aproximadamente 70%.

En contraste con otras medidas terapéuticas para tratar el queratocono, tales como la queratoplastia termal, anillos intracorneales, o epiqueratoplastia (que básicamente son sólo correcciones refractivas transitorias),⁴⁻⁷ el nuevo método mínimamente invasor presentado aquí, parece ser el primer acercamiento para detener, incluso reducir, la progresión del queratocono. Sólo en informes anecdóticos se ha descrito una detención de queratocono mediante lentes de contacto, pero nunca se ha confirmado mediante estudios sistemáticos.¹

El éxito del tratamiento cross-linking en queratocono no es sorprendente, puesto que anteriormente ya se había medido biomecánicamente una reducción importante de la resistencia de tensión¹⁴ en queratocono y un incremento significativo en la rigidez corneal en córneas de cerdo y de conejo, tratados con riboflavina/UVA y utilizando mediciones cuantitativas de tensión-presión.⁹⁻¹¹ El impresionante efecto de rigidez del tratamiento de riboflavina/UVA (**Figura 1**), es similar al endurecimiento y fijación de tejido mediante inducción de formaldehído en especímenes patológicos, causado mediante cross-linking de colágeno.

Patohistológicamente, somos capaces de demostrar un incremento significativo en el diámetro de la fibra de colágeno a medida que se correlaciona el problema histopatológico subyacente.¹⁵

Anteriormente, también se habían descrito el incremento en los diámetros de las fibras de colágeno y el incremento en la rigidez de colágeno, en pacientes con diabetes mellitas envejecimiento, donde el cross-linking de colágeno también se incrementa.¹⁶⁻¹⁸ En estas condiciones, ocurre raramente el queratocono.¹⁹ Se ha encontrado un incremento en la resistencia a la digestión de pepsina después del cross-linking,²⁰ lo que podría ser importante para el queratocono, puesto que se ha encontrado una importante elevada actividad de colagenosis.^{21,22}

La detención de la progresión de queratocono en nuestros pacientes podría haber sido espontánea, como el llamado queratocono forme fruste.²³ En estudios epidemiológicos, sin embargo, el 21% de pacientes con queratocono progresan hasta el punto donde se requiere una queratoplastia.^{2,3} En todos nuestros casos se conocía la progresión de queratocono antes del comienzo del tratamiento, al menos mediante el historial médico y claramente documentado mediante topografía corneal en 12 ojos (52%; **Figura 4**, superior).

Más aún, se observó una regresión postoperatoria en 16 pacientes (70%) después del tratamiento y esto nunca había sido observado en el curso natural de la enfermedad.

En los dos casos con uso de lentes de contacto rígidas (pacientes 11 y 22), las lecturas queratométricas podrían haber sido influenciadas por un efecto ortoqueratoplástico,²⁴ pero esto dos casos no mostraron regresión. Las lentes de contacto continuaron siendo toleradas después del cross-linking, y su uso no hubo de interrumpirse.

En el presente estudio, tratamos etapas de queratocono moderadas a avanzadas.¹³ Si los buenos resultados del nuevo método se corroboran con el tiempo, sería preferible tratar las etapas iniciales de la enfermedad para preservar una mejor agudeza visual. En este estudio no se incluyeron las etapas iniciales puesto que no se conocían los posibles riesgos involucrados.

Postoperatoriamente no encontramos un incremento en los valores medios de la presión intraocular. La tonometría de aplanación no es lo suficientemente sensitiva para reflejar el incremento en la rigidez corneal. Posiblemente un ligero incremento en la medición de presión intraocular podría haber sido enmascarado con la ligera variación normal de la presión intraocular.

No hemos encontrado complicaciones o eventos adversos en el nuevo método, especialmente la no-disminución de la densidad de células del endotelio, o formación de cataratas.

Anteriormente habíamos medido la cantidad de intensidad de radiación transmitida por la córnea porcina utilizando un fotómetro UVA. Con 3 mW/cm² de irradiación de UVA en una superficie de la córnea y una concentración de riboflavina al 0,1%, existe una reducción masiva de la luz UVA en 95%, lo que provoca una irradiación de 0,15 mW/cm² (= una dosis de irradiación, 0,27 mW/cm²) en el nivel del endotelio en una córnea con grosor de 500 µm.⁹

Sin riboflavina, la luz UVA hubiese sido reducida en la córnea solamente en un 30%, con aproximadamente 50% de absorción de UVA en la lente.²⁵

En experimentos con ojos de conejo, la tolerancia a la irradiación citotóxica para las células del endotelio, después de un tratamiento combinado de riboflavina/UVA, es de 0,36 mW/cm² (= 0,65 J/cm²), que podría alcanzarse con un grosor corneal menor a 400 µm utilizando una irradiación de 3 mW/cm² (=5,4 J/cm²) en el nivel epitelial.²⁶ La paquimetría preoperatoria es esencial y se incluyó en los últimos 8 pacientes del estudio. Usualmente, el grosor corneal central en queratocono no se reduce más de 400 µm.²⁷ No obstante, en caso de ser así se debería de evitar el tratamiento cross-linking.

La dosis de UVA de $0,65 \text{ J/cm}^2$ ($0,36 \text{ mW/cm}^2$), está muy por debajo de un nivel cataragenoso de 70 J/cm^2 .²⁸ Además, usualmente se induce daño a la lente mediante la luz UVB en el rango de frente de onda de 290 a 320 nm, que tiene una energía más alta debido a su frente de ondas más corto que el los UVA.^{28,29}

Se desconoce la duración del efecto de rigidez. Debido a que se estima que la renovación del colágeno en la córnea suele ser de 2 a 3 años,^{30,31} en el largo plazo podría ser necesario repetir el tratamiento.

El cross-linking de colágeno, también podría ser útil para el tratamiento de queratectasia iatrogénica resultante del láser in situ keratomileusis,^{32,33} ya sea como tratamiento profiláctico o postoperatorio. El nuevo tratamiento también puede utilizarse para tratar lesiones de fusión corneal o úlceras superficiales.³⁴ El grosor corneal residual debería ser, al menos, de $400 \mu\text{m}$ para dejar libre el endotelio.

Creemos que el cross-linking de colágeno podría convertirse en un tratamiento estándar para el queratocono progresivo. Los estudios a largo plazo deberían excluir complicaciones serias y confirmar la duración del efecto de rigidez. El nuevo método podría reducir la necesidad de material donado derivada del queratocono, que representa aproximadamente un 16% de todas las indicaciones de queratoplastia.³⁵ Dada la simplicidad y el bajo costo de este nuevo método, podría aplicarse en países en desarrollo, donde el acceso a la queratoplastia o a las lentes de contacto es un problema.

RECONOCIMIENTO

Los autores agradecen al Prof. Josef Wollensak (Berlín), por su continuo apoyo y motivación en el desarrollo de este nuevo método.



REFERENCIAS

1. Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv Ophthalmol* 1998;42: 297-319.
2. Tuft SJ, Moodaley LC, Gregory WM, Oavison CR, Buckley RJ. Prognostic factors for the progression of keratoconus. *Ophthalmology* 1994;101:439-447.
3. Kennedy RH, Boume WM, Dyer JA. A 48-year clinical and epidemiological study of keratoconus. *AmJ Ophthalmol* 1986; 101:267-273.
4. Sekundo W, Stevens JO. Surgical treatment of keratoconus at the turn of the 20th century. *J Refract Surg* 2001;17:69-73.
5. Collin J, Cochener B, Savary G, Malet F. Correcting keratoconus with intracorneal rings. *J Cataract Refract Surg* 2000; 26:1117-1122.
6. Dana MR, Putz JL, Viana MAG, Sugar J, McMahon IT. Contact lens failure in keratoconus management. *Ophthalmology* 1992;99:1187-1192.
7. Jaeger MJ, Berson P, Kaufman HE, Green WR. Epikeratoplasty for keratoconus. A clinicopathologic case report. *Cornea* 1987;6:131-139.
8. Hettlich HJ, Lucke K, Kreiner CF. Light induced endocapsular polymerization of injectable lens refilling materials. *Ger J Ophthalmol* 1992;1:346-349.
9. Spoerl E, Schreiber J, Hellmund K, Seiler T, Knuschke P. Untersuchungen zur Verfestigung der Hornhaut am Kaninchen. *Ophthalmologie* 2000;97:203-206.
10. Spoerl E, Huhle M, Seiler T. Induction of cross-links in corneal tissue. *Exp Eye Res* 1998;66:97-103.
11. Spoerl E, Huhle M, Seiler T. Erhöhung der Festigkeit der Hornhaut durch Vernetzung. *Ophthalmologie* 1997;94:902-906.
12. Maguire LJ, Lowry JC. Identifying progression of subclinical keratoconus by serial topography analysis. *Am J Ophthalmol* 1991;112:41-45.
13. Zadnik K, Barr JT, Gordon MO, Edrington TB. Biomicroscopic signs and disease severity in keratoconus. *Cornea* 1996;15:139-146.
14. Andreassen IT, Simonsen AH, Oxlund H. Biomechanical properties of keratoconus and normal corneas. *Exp Eye Res* 1980;31:435-441.
15. Wollensak G, Seiler T, Wilsch M, SpOrl E. Collagen fiber diameter after riboflavin/UV A induced collagen-crosslinking in the rabbit cornea. *Cornea*. Forthcoming.
16. Malik NS, Moss SJ, Ahmed N, Furth AJ, Wall RS, Meek KM. Ageing of the human corneal stroma: structural and biochemical changes. *Biochim Biophys Acta* 1992;1138: 222-228.
17. Sady C, Khosrot S, Nagaraj R. Advanced Maillard reaction and cross-linking of corneal collagen diabetes. *Biochem Biophys Res Com* 1995;214:793-797
18. Bailey AJ, Paul RG, Knott L. Mechanisms of maturation and aging of collagen. *Mech Aging Dev* 1998;106:1-56.
19. Seiler T, Hurler S, Spoerl E, Kunath H. Manifest diabetes and keratoconus: a retrospective case-control study. *Graefes Arch Clin Expo Ophthalmol* 2000; 238: 822-825.
20. Spoerl E, Seiler T, Wollensak G. Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion. *Br. J Ophthalmol*, forthcoming.
21. Abalain J. Levels of collagen degradation products (teleopeptides) in the tear film of patients with keratoconus. *Córnea* 2000; 19: 476-476.
22. Zhou L, Sawaguchi S, Twining SS, Sugar J, Feder RS, Yue BY. Expression of degradative enzymes and protease inhibitors in corneas with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:1117-1124.
23. Amsler M. Le k ratoc ne fruste au Javal. *Ophthalmologica* 1938;96:77-83.
24. Swarbrick HA, Wong G, O'Leary DJ. Corneal response to orthokeratology. *Optom Vis Sci* 1998;75:791-799.
25. Michael R. Development and repair of cataract induced by ultraviolet radiation. *Ophthalmic Res* 2000;32 (S1): 1-44.
26. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T, Wilsch M. Endothelial cell damage after riboflavin-UVA treatment in the rabbit. *J Cataract Refract Surg*, forthcoming.
27. Watters G, Owens H. Evaluation of mild, moderate and advanced keratoconus using ultrasound pachymetry and the EyeSys videokeratoscope. *Optom Vis Sci* 1998;75:640-646.
28. Pitts DG, Cullen AP, Hacker PD. Ocular effects of ultraviolet radiation from 295-365 nm. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977;16:932-939.
29. Jose JG, Pitts DG. Wavelength dependency of cataracts in albino mice following chronic exposure. *Exp Eye Res* 1985;41:545-563.
30. Smelser GK, Polack FM, Ozanics V. Persistence of donor collagen in corneal transplants. *Exp. Eye Res* 1965;4:349-354.
31. Nishida T. Basic Science: Cornea. In: Kramcher JH, Mannis MJ, Holland EJ, editors. *Cornea*, vol. 1. St. Louis: Mosby, 1997:13.
32. Seiler T, Koufala, Richter G. Iatrogenic keratectasia after laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg* 1998;14:312-317.
33. Argento C, Cosentino Mj, Tyliun A, Rapetti G, Zarate J. Corneal ectasia after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2001;27:1440-1448. *Behandlungsver- such bei einschmelzenden Hornhautprozessen, erste Erge- bnisse mit Patienten. Klin Mbl Augenheilk* 2000;217:190- 193. "
34. Maeno A, Naor J, Hunter WS, Rootman DS. Three decades of corneal transplantation: indications and patient characteristics. *Cornea* 2000;19:7-11.



OftalTech

Fuente: Am J Ophthalmol 2003;135: 620–627

NOTA: "La traducción al castellano no ha sido preparada por ningún traductor con titulación oficial al respecto. Ha sido preparada a título meramente informativo por Oftaltech sin ningún tipo de garantía ni responsabilidad sobre su exactitud ni aun en el caso de error. Tampoco se hace responsable Oftaltech sobre las informaciones contenidas en el documento original. El destinatario deberá efectuar sus propias comprobaciones al respecto y no efectuará ninguna actuación sobre la base de la información suministrada por Oftaltech. "