

INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS PINAR DEL RÍO
HOSPITAL DOCENTE-CLÍNICO-QUIRÚRGICO
“ABEL SANTAMARÍA CUADRADO”

**CIRUGÍA REFRACTIVA CON LÁSER EXCÍMER:
PREDICCIÓN MORFOMÉTRICA CORNEAL IN
VIVO A PARTIR DE LA AMETROPIA A TRATAR.**

TESIS PRESENTADA EN OPCIÓN AL GRADO CIENTÍFICO:
DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS

Autor: Dr. Eduardo Rojas Alvarez.

Pinar del Río, 2013.

INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS PINAR DEL RÍO
HOSPITAL DOCENTE-CLÍNICO-QUIRÚRGICO
“ABEL SANTAMARÍA CUADRADO”

**CIRUGÍA REFRACTIVA CON LÁSER EXCÍMER:
PREDICCIÓN MORFOMÉTRICA CORNEAL IN
VIVO A PARTIR DE LA AMETROPIA A TRATAR.**

TESIS PRESENTADA EN OPCIÓN AL GRADO CIENTÍFICO:
DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS.

Autor: Prof. Aux. Dr. Eduardo Rojas Alvarez.

Tutor: Prof. Tit. Miguel O. Mokey Castellanos Dr. C.

Pinar del Río, 2013.

AGRADECIMIENTOS:

A LOS DOCTORES:

- MIGUEL O. MOKEY CASTELLANOS, POR SU ORIENTACIÓN Y EXPERIENCIA.
- JANET GONZÁLEZ SOTERO, POR SU GRAN COLABORACIÓN EN LA REALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.
- TEDDY O. TAMARGO BARBEITO, POR SU GRAN AYUDA EN EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO.
- DIPIKA V. PATEL, POR TRASMITIRME SUS CONOCIMIENTOS SOBRE LA MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA Córnea.
- MELBA MÁRQUEZ FERNÁNDEZ, POR INCULCARMELA IMPORTANCIA DE LA FORMACIÓN DOCTORAL Y POR SU EJEMPLO.
- ISABEL LANTIGUA MALDONADO, MARÍA DEL C. BENÍTEZ MERINO, MARREL GARCÍA MARTÍN Y RAÚL PÉREZ SUÁREZ, POR MI FORMACIÓN EN LA CIRUGÍA REFRACTIVA CORNEAL CON LÁSER EXCÍMER.
- MARCELINO RÍO TORRES, ARMANDO CAPOTE CABRERA Y ANA M. MÉNDEZ DUQUE DE ESTRADA, POR LA GRAN AYUDA EN MI DESARROLLO PROFESIONAL.
- ROSENDO VILLAR VALDÉS, MARÍA E. DEL HUERTO MARIMÓN Y ALEIDA LAVANDERO ESPINA POR SU APOYO DESDE EL INICIO.
- HUMBERTO J. ALVAREZ PADRÓN, POR LA REVISIÓN GRAMATICAL Y ORTOGRÁFICA DE LA TESIS.

A TODOS LOS PROFESORES DEL INSTITUTO CUBANO DE OFTALMOLOGÍA RAMÓN PANDO FERRER Y DE LA FACULTAD CUBANA DE OFTALMOLOGÍA QUE HAN CONTRIBUIDO CON MI FORMACIÓN PROFESIONAL.

A MI FAMILIA.

A MIS PADRES Y HERMANOS.

A MI ESPOSA E HIJAS.

A TODOS MIS PACIENTES.

SÍNTESIS

La cirugía refractiva corneal se encarga del tratamiento de ametropías, posibilita mejorar la agudeza visual sin corrección y genera un número creciente de procedimientos cada año. Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo y longitudinal en 134 pacientes operados de ametropías con Láser Excímer, con los objetivos de determinar los cambios morfométricos corneales posteriores a este tratamiento a través de microscopía confocal de la córnea; la correlación entre estos cambios y la magnitud de la ametropía tratada, así como desarrollar modelos predictivos de variables morfométricas. Se utilizaron métodos de estadística descriptiva e inferencial, el análisis de varianza de medidas repetidas con corrección de Bonferroni, correlación de Pearson, Spearman y regresión lineal múltiple con validación cruzada. Se obtuvo una disminución de la paquimetría y densidad de queratocitos, aumento del grosor epitelial y modificaciones de las características del plexo nervioso subbasal, así como la correlación inversa significativa entre la magnitud de la ametropía tratada y la paquimetría, lecho estromal residual y densidad de queratocitos a ambos lados del corte lamelar en el LASIK y estroma anterior en el LASEK. Se obtienen modelos predictivos de morfometría corneal. Los datos obtenidos constituyen referentes para pacientes operados en Cuba con la novedosa tecnología Láser Excímer.

LASIK: Queratomileusis in situ asistida por Láser.

LASEK: Láser Epithelial in situ Queratomileusis.

INDICE

	Página
INTRODUCCIÓN.....	10
- NOVEDAD Y ACTUALIDAD DEL TEMA.....	11
- FUNDAMENTACIÓN.....	12
- PROBLEMA CIENTÍFICO.....	13
- HIPÓTESIS.....	14
- OBJETO DE LA INVESTIGACIÓN.....	14
- OBJETIVOS.....	15
- DISEÑO GENERAL DE LA TESIS.....	15
- MÉTODOS UTILIZADOS.....	15
- APOORTE DE LA INVESTIGACIÓN.....	17
 CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO Y CONTEXTUAL.....	 18
1.1- OBJETIVOS.....	19
1.2- PRINCIPIOS GENERALES DE FUNCIONAMIENTO DE LA MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA Córnea.....	19
1.3- LA Córnea NORMAL POR MICROSCOPIA CONFOCAL.....	21
1.4- TECNOLOGÍA LÁSER EXCÍMER.....	24
1.5- CONCLUSIONES.....	27
 CAPÍTULO 2. DISEÑO METODOLÓGICO.....	 28
2.1- TIPO DE INVESTIGACIÓN, DISEÑO Y CONTEXTO.....	29
2.2- DEFINICIÓN DE UNIVERSO Y MUESTRA. CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	29
2.3- OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	32
2.4- TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	39

2.4.1- EXÁMENES REALIZADOS.....	39
2.4.2- PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS.....	40
2.4.3- TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN.....	43
2.4.4- TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO.....	45
2.5- ASPECTOS ÉTICOS.....	46
 CAPÍTULO 3. RESULTADOS.....	 48
3.1- DESCRIPCIÓN MORFOMÉTRICA CORNEAL.....	49
3.2- CORRELACIÓN: VARIABLES MORFOMÉTRICAS - MAGNITUD DE LA AMETROPÍA.....	59
3.3- MODELOS PREDICTIVOS DE VARIABLES MORFOMÉTRICAS.....	69
 CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN.....	 77
 CONCLUSIONES.....	 96
RECOMENDACIONES.....	97
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98
BIBLIOGRAFÍA.....	123
ANEXOS.....	124

INDICE DE ANEXOS

	Página
1: PRINCIPIOS ÓPTICOS DE LA MICROSCOPIA CONFOCAL.....	125
2: CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA.....	125
3: EPITELIO CORNEAL APICAL.....	126
4: EPITELIO CORNEAL BASAL.....	126
5: PLEXO NERVIOSO SUBBASAL.....	127
6: ESTROMA CORNEAL.....	127
7: INTERFASE QUIRÚRGICA.....	128
8: ENDOTELIO CORNEAL.....	128
9: <u>HAZE</u> CORNEAL.....	129
10: MEDICIÓN DE PAQUIMETRÍA.....	130
11: MEDICIÓN DE GROSOR EPITELIAL.....	131
12: MEDICIÓN DE GROSOR DEL COLGAJO.....	132
13: MEDICIÓN DE LECHO ESTROMAL RESIDUAL.....	133
14: CÁLCULO DE LA DENSIDAD DE CÉLULAS DEL EPITELIO APICAL.....	134
15: CÁLCULO DE LA DENSIDAD DE CÉLULAS DEL EPITELIO BASAL.....	135
16: ESTROMA CORNEAL ANTERIOR.....	136
17: CÁLCULO DE DENSIDAD DE QUERATOCITOS.....	137
18: ESQUEMA DE SUBCAPAS ESTROMALES EN EL LASIK.....	138
19: ESQUEMA DE SUBCAPAS ESTROMALES EN EL LASEK.....	139
20: CÁLCULO DE VARIABLES ENDOTELIALES.....	140
21: CLASIFICACIÓN DEL PLEXO NERVIOSO SUBBASAL.....	141
22: MEDICIÓN DEL <u>HAZE</u> CORNEAL, POSTERIOR A LASEK.....	143
23: PROGRAMACIÓN DEL TRATAMIENTO.....	144
24: ESIRIS (<u>SCHWIND</u> - ALEMANIA).....	144
25: MICROSCOPIO CONFOCAL CONFOSCAN 4 DE NIDEK.....	145

26: MICROSCOPIA CONFOCAL CUANTITATIVA DE ENFOQUE COMPLETO.....	146
27: FLUJOGRAMA DEL ESTUDIO.....	147
28: CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	148
29: GRÁFICOS DE VARIABLES EN LA TÉCNICA LASIK.....	150
30: GRÁFICOS DE VARIABLES EN LA TÉCNICA LASEK.....	158
31: GRÁFICOS DE CORRELACIÓN. LASIK.....	164
32: GRÁFICOS DE CORRELACIÓN. LASEK.....	166
33: TABLA DE MUNNERYN.....	168
34: DIFERENCIAS ENTRE MICROSCOPIOS CONFOCALES.....	169
35: ESTUDIOS DE GROSOR EPITELIAL CORNEAL.....	170
36: ESTUDIOS DE DENSIDAD CELULAR EPITELIAL CORNEAL.....	171
37: ESTUDIOS DE DENSIDAD DE QUERATOCITOS.....	171
38: ESTUDIOS DE DENSIDAD CELULAR ENDOTELIAL.....	172
39: PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DEL AUTOR SOBRE EL TEMA.....	173

INTRODUCCIÓN

La humanidad, a lo largo de su proceso evolutivo, ha hecho de la visión uno de los sentidos más importantes. Gracias a la visión binocular, estereoscópica y cromática, el Homo Sapiens pudo desarrollar su sistema nervioso central y en especial su corteza cerebral, al grado de crear una diferencia notable en relación con el resto de los seres vivos. El fenómeno visual hoy en el tercer milenio, continúa siendo un tema importante de investigación.

Las alteraciones de la visión siempre han constituido una de las principales preocupaciones del hombre. Los trastornos de la refracción (miopía, hipermetropía, astigmatismo) se encuentran entre estas alteraciones. Su prevalencia varía con la edad, el país, el grupo étnico, el nivel educativo y la ocupación.¹ Existen reportes de que un 30% de la población occidental padece miopía;² aunque en países asiáticos la frecuencia es mayor, donde asciende hasta un 50%.^{3, 4} En Estados Unidos el 25% de la población entre 15 y 54 años tiene algún defecto refractivo.^{5, 6} En Segovia la prevalencia de miopía alcanza un 23% y en otras ciudades del norte de Europa llega al 40%. Varios estudios apuntan a la posibilidad de que este defecto aumente en los años venideros.^{7, 8}

En estudio realizado en el Instituto Cubano de Oftalmología, el astigmatismo miópico compuesto fue la ametropía más frecuente, superior al 85 % de los pacientes con ametropías.⁹ En Pinar del Río, el 23 % de la población presenta defectos refractivos, según datos obtenidos durante la Misión Milagro.¹⁰

NOVEDAD Y ACTUALIDAD DEL TEMA

La cirugía refractiva es una novedosa subespecialidad de la Oftalmología, que se encarga de los procedimientos quirúrgicos dirigidos al tratamiento de los defectos refractivos, lo cual posibilita mejorar la agudeza visual sin corrección y, por tanto, prescindir del uso de espejuelos y lentes de contacto, lo que genera un número creciente de esta operación cada año.

Como consecuencia del gran desarrollo científico-tecnológico de la Oftalmología, y en especial de la cirugía refractiva, la existencia de nuevos equipos Láser de alto impacto, en cuanto a resultados visuales en el mercado internacional, conjuntamente con los adelantos en la microscopía óptica, han posibilitado el redimensionamiento de los conceptos morfofisiológicos del tejido corneal y permiten estudiar fenómenos que hasta hace pocos años eran desconocidos para la especialidad. El estudio microscópico de la córnea con posterioridad a la cirugía refractiva corneal con Láser Excímer, se ha convertido, en los últimos años, en tema de investigación recurrente a nivel internacional, con vistas a obtener resultados in vivo del tejido corneal y por tanto, evaluar estas novedosas tecnologías.

En Cuba se introduce la cirugía refractiva corneal con Láser Excímer en el año 2002. Con el desarrollo tecnológico impulsado por la Misión Milagro, de forma paulatina y como parte de las grandes inversiones realizadas en este campo, se instaló en el 2006 la nueva tecnología ESIRIS de la firma alemana Schwind, en todas las provincias del país y en varios centros de la capital, lo cual propició el incremento constante de este tipo de procedimiento con estándares

de visión nunca antes alcanzados en Cuba, en cuanto a exactitud y predictibilidad en pacientes con defectos refractivos.

En el Centro Oftalmológico de Pinar del Río y en otros centros, existe la microscopía confocal de la córnea: única tecnología en Cuba que posibilita el estudio in vivo del tejido corneal, en poco tiempo (menos de cinco minutos), con anestesia tópica (colirio) y mínimas molestias a los pacientes sin reacciones adversas o efectos colaterales. La obtención secuencial de 350 imágenes con elevada resolución de las subcapas corneales permite la profundización del estudio cualicuantitativo de la estructura morfológica corneal in vivo en estos pacientes.

FUNDAMENTACIÓN

Es innegable el éxito actual de la cirugía refractiva corneal con Láser Excímer en cuanto a resultados visuales, rapidez de recuperación y mínimas posibilidades de complicaciones transoperatorias y posquirúrgicas; sin embargo, al modificar la curvatura corneal, crea una nueva arquitectura, que aunque logre altos estándares de visión en los pacientes, debe ser tenida en cuenta la respuesta tisular a este proceder, así como las modificaciones morfométricas que se producen en córneas que han recibido el tratamiento, factor este de extrema importancia, pues representa una variable determinante para valorar la seguridad, efectividad y predictibilidad de esta nueva tecnología de reciente incorporación en Cuba; más aún si tenemos en cuenta que a lo largo del desarrollo científico-tecnológico de estas técnicas quirúrgicas, algunas han sido sustituidas debido a sus resultados indeseables.

La mayoría de los pacientes que solicitan este proceder se encuentran en etapas útiles de sus vidas, con ojos sanos, que corrigen sus defectos con cristales o lentes de contacto, y alcanzan buena agudeza visual. Reciben este tratamiento con el objetivo fundamental de prescindir de esta corrección óptica, por lo que, toda vez que se presente alguna complicación o resultado indeseable, solucionarlo se convierte en un reto, el cual requiere, en el peor de los casos, un trasplante de córnea. Por tanto, el conocimiento de estas técnicas a profundidad se hace imprescindible.

A nivel internacional, varios investigadores han publicado los cambios morfométricos posteriores al tratamiento con Láser Excímer, específicamente las modificaciones del grosor corneal, nervios corneales, células del estroma y endotelio corneal. En algunos estudios se establece la relación entre estas variables y la ametropía tratada.^{7,11-14} Sin embargo, en pacientes cubanos, no se han descrito las modificaciones morfométricas corneales, posteriores a este tratamiento. No existen resultados que expongan la relación entre estos cambios y la magnitud de la ametropía tratada. No se han obtenido modelos predictivos de variables que desde el preoperatorio, permitan el conocimiento de la morfometría corneal en estos pacientes con antelación, factores que garantizan la evaluación y seguridad de la corrección de ametropías con Láser Excímer en Cuba.

PROBLEMA CIENTÍFICO

Existe la necesidad de evaluación, cada vez mayor, de la cirugía refractiva corneal con Láser Excímer, así como de la búsqueda de nuevos elementos

que perfeccionen el análisis que se realiza en consulta en la selección óptima de pacientes que requieren este proceder.

En pacientes cubanos con ametropías tratados con Láser Excímer, se desconocen: los cambios morfométricos corneales posteriores a esta operación así como la relación entre la magnitud de la ametropía tratada y estos cambios. Además no existen modelos predictivos que, desde el preoperatorio, permitan obtener los valores morfométricos corneales al año del tratamiento.

¿Qué modificaciones morfométricas corneales se generan posteriores a tratamiento con Láser Excímer? ¿Qué relación existe entre estas modificaciones y la magnitud de la ametropía tratada? ¿Es posible la predicción de variables morfométricas corneales desde el momento preoperatorio?

HIPÓTESIS

Posterior a tratamiento con Láser Excímer se genera la modificación de: grosores, densidad celular por subcapas y características de los nervios corneales. Estas modificaciones son superiores cuanto mayor es la magnitud de la ametropía tratada. Es posible desarrollar modelos predictivos de estas variables desde el momento preoperatorio.

OBJETO DE LA INVESTIGACIÓN

Cambios morfométricos corneales en pacientes con ametropías tratados con Láser Excímer.

OBJETIVOS

- 1- Determinar las modificaciones morfométricas corneales que se generan posteriores a tratamiento con Láser Excímer.
- 2- Identificar la correlación entre la magnitud de la ametropía a tratar y los cambios morfométricos corneales.
- 3- Desarrollar modelos predictivos de variables morfométricas, a partir de sus valores preoperatorios y de la magnitud de ametropía a tratar, para cada técnica quirúrgica.

DISEÑO GENERAL DE LA TESIS

La tesis está constituida por cuatro capítulos. El capítulo uno expone los aspectos teóricos y contextuales relacionados con la microscopía confocal y la tecnología Láser Excímer, en el capítulo dos se expone el diseño metodológico y en los capítulos tres y cuatro, los resultados y la discusión respectivamente. Los anexos incluyen imágenes de microscopía confocal de la córnea, gráficos de medias, correlaciones, entre otros elementos.

MÉTODOS UTILIZADOS

Se realizó una investigación observacional, descriptiva, longitudinal y prospectiva en el Hospital Abel Santamaría Cuadrado de Pinar del Río. El estudio cuenta con dos universos: el universo uno lo forman pacientes operados con la técnica quirúrgica LASIK. El universo dos lo constituyen

pacientes operados con la técnica quirúrgica LASEK. Ambos universos cumplieron con criterios de selección establecidos. La muestra quedó constituida por todos los pacientes (134) que asistieron a consulta de forma consecutiva del primero de noviembre de 2010 al 31 de mayo de 2011: 78 pacientes (151 ojos) operados con LASIK y 56 pacientes (111 ojos) operados con LASEK.

Los resultados parten de imágenes obtenidas por microscopía confocal, examen realizado en el preoperatorio y en varios momentos posteriores a la operación hasta el año de seguimiento. Los cálculos obtenidos por variable, fueron incorporados a una tabla de datos en SPSS versión 11.5.

De forma general se utilizaron métodos de estadística descriptiva e inferencial expresados en frecuencias absolutas, frecuencias relativas y el análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas para un factor con ajuste del intervalo de confianza por Bonferroni. Se evaluaron las correlaciones entre la magnitud de la ametropía y las variables morfométricas con el coeficiente de correlación bivariada de Pearson excepto la variable plexo nervioso subbasal con el coeficiente rho de Spearman.

Se aplicó el análisis de regresión lineal múltiple con obtención de modelos predictivos de variables morfométricas al año, a partir de la magnitud de la ametropía a tratar y del valor preoperatorio de la variable analizada. Se realizó la validación cruzada y el análisis de los supuestos de cada modelo de regresión.

APORTE DE LA INVESTIGACIÓN

Aporte teórico: Es el primer estudio en Cuba en el cual se obtienen los cambios morfométricos de la córnea en pacientes que han recibido tratamiento con Láser Excímer. Se obtienen valores in vivo con gran exactitud de grosores por subcapas corneales, densidad celular de diferentes estratos corneales: epitelio apical, epitelio basal, estroma dividido en cinco subcapas por profundidad, endotelio corneal; así como de los nervios del tejido corneal, con seguimiento durante un año posterior a la operación. Se obtiene además la correlación entre estos cambios y la magnitud de la ametropía tratada, así como modelos de predicción de variables morfométricas al año de tratamiento desde el preoperatorio para cada técnica quirúrgica.

Aporte práctico: La obtención desde el momento preoperatorio, a partir de la magnitud de la ametropía a tratar, de las variables morfométricas de la córnea al año de cirugía refractiva corneal con Láser Excímer, mediante ecuaciones predictivas, constituye un nuevo elemento que perfecciona el análisis que se realiza en consulta en la selección de pacientes con ametropías que requieren de este proceder, con vistas a elevar la seguridad y predictibilidad del mismo. Además, la obtención de modelos para cada técnica quirúrgica posibilitan la selección del proceder óptimo para cada paciente de acuerdo con la magnitud de la ametropía a tratar, con vistas a atenuar las modificaciones morfométricas corneales y por tanto, elevar el éxito quirúrgico a largo plazo y la óptima agudeza visual de los pacientes.

CAPÍTULO 1:

MARCO TEÓRICO

Y

CONTEXTUAL

CAPÍTULO 1: MARCO TEÓRICO Y CONTEXTUAL.

El presente capítulo expone los elementos fundamentales que constituyen basamentos teóricos del actual estudio. Se encuentra dividido en tres epígrafes que resumen los principios de funcionamiento de la microscopía confocal, las características de la córnea normal y aspectos generales relacionados con la tecnología Láser Excímer.

1.1- OBJETIVOS:

- Explicar los principios generales de funcionamiento de la microscopía confocal de la córnea.
- Describir la córnea normal a través de la microscopía confocal.
- Enunciar los aspectos teóricos generales relacionados con la tecnología Láser Excímer.

1.2- PRINCIPIOS GENERALES DE FUNCIONAMIENTO DE LA MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA CÓRNEA.

Hasta tiempos recientes el diagnóstico de enfermedades de la córnea y la superficie ocular ha estado basado en la tradicional biomicroscopía anterior. La evolución exponencial de tecnología que ha ocurrido en las últimas dos décadas ha estado liderada por la introducción de nuevos instrumentos como la topografía corneal, la biomicroscopía ultrasónica y la tomografía de coherencia óptica, entre otros, para el análisis del segmento anterior ocular.¹⁰⁻¹²

Estas técnicas ofrecen detalles de la curvatura corneal o secciones macroscópicas para el examen de estructuras. En cambio, la morfología microscópica de la superficie ocular solo se realizaba por histología ex vivo, lo cual presenta limitaciones como la degeneración del tejido, presencia de artefactos e imposibilidad de evaluar a través del tiempo los procesos de enfermedad.

La microscopía confocal es un método no invasivo para el estudio de imágenes microscópicas en tejidos vivos, que ha sido usado para la investigación de la microestructura corneal desde el principio de la década de 1990.¹³⁻¹⁵ El estudio de las imágenes ha evolucionado desde niveles experimentales en investigaciones de laboratorio, hasta las aplicaciones en pacientes saludables y enfermos.^{16, 17}

El microscopio confocal para el estudio de células del sistema nervioso in vivo, original de 1955, fue desarrollado por Minsky en 1988. Esto permitió que la teoría óptica fuera más formalmente desarrollada y extendida en los años de ese decenio (Wilson y Sheppard, 1984) y en el decenio siguiente (Hill; Masters y Thaer, 1994).^{18, 19} El principio básico de la microscopía confocal es que un punto aislado del tejido puede ser iluminado por un haz de luz y simultáneamente ser captado por una cámara en el mismo plano. Esto genera una imagen con elevada resolución.^{16, 19-22} (Anexo 1)

Actualmente, existen varios tipos de microscopios confocales, por ejemplo: el Confoscan P4 (Tomey, Estados Unidos), el Confoscan 4 (Nidek, Japón) y el Láser corneal confocal microscope (Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Corneal Module: HRTII) (Heidelberg, Alemania), entre otros.^{12, 23, 24}

Todos los microscopios confocales tienen los mismos principios básicos de funcionamiento.^{17, 19} La luz pasa a través de una abertura y es enfocada en un lente objetivo en una pequeña área. La luz es reflejada desde esta área y pasa a través de un segundo lente objetivo. Esta luz es enfocada en una segunda abertura, la luz fuera de foco es eliminada. La iluminación y la detección se encuentran en el mismo plano focal, por ello el término confocal es utilizado.^{19,}

25-28

El sistema tiene la habilidad de discriminar imágenes de alta resolución lateral y axial de la luz que no está en el plano focal, comparado con microscopios de luz. Claramente, como sistema es limitado por una pequeña visión de campo. La calidad de la imagen depende generalmente de dos factores: contraste y resolución. Depende además de la abertura numérica del lente objetivo, niveles de iluminación, la reflectividad de las estructuras estudiadas y la longitud de onda de la fuente de iluminación.^{17, 23}

El microscopio confocal ha sido ampliamente utilizado en el estudio de pacientes posterior a procedimientos refractivos. Se han descrito las modificaciones a nivel de diferentes subcapas de la córnea, mostrando elevada confiabilidad y reproducibilidad con estos fines.²⁵⁻²⁷

1.3- LA CÓRNEA NORMAL POR MICROSCOPIA CONFOCAL.

El epitelio superficial de la córnea se observa en forma de células hexagonales de bordes brillantes con núcleo definido y citoplasma homogéneo.²⁹⁻³¹ Las células tienen forma poligonal característica, casi hexagonal, las cuales se caracterizan por un citoplasma de alta reflectividad ya que se encuentran en un alto proceso de descamación continua, con un núcleo brillante y espacio

perinuclear oscuro claramente visible. El epitelio superficial ocupa cinco micras de grosor.^{20, 31-35}

Las células del estrato intermedio están caracterizadas por el brillo de los bordes y el citoplasma oscuro. El núcleo puede ser distinguido con gran dificultad.³⁶⁻³⁸ El promedio de densidad es aproximadamente 5000 cél/mm² en la córnea central y 5 500 cél/mm² en la periferia. Las células del estrato medio son las de reflectividad más baja en todo el epitelio corneal.^{21, 31, 39, 40}

Las células basales están localizadas inmediatamente encima de la membrana de Bowman. Ellas presentan bordes celulares brillantes en los cuales el núcleo no es visible.^{16, 21, 23, 41-43} La comparación entre células revela reflectividad no homogénea del citoplasma. Al igual que las células del estrato intermedio, las células basales muestran solo mínima variación en su forma y tamaño. En términos de densidad celular en sujetos normales, la relación entre células superficiales, intermedias y basales es 1:5:10. Las células basales tienen 10-15 µm de diámetro y forman un mosaico regular con cuerpos celulares oscuros y brillo en los bordes celulares.^{23, 44}

Las células de Langerhans se presentan como partículas corpusculares brillantes con morfología celular dendrítica y diámetro de 15 mm. La distribución de las mismas es en forma de gradiente desde bajos números en el centro a altas densidades celulares en la periferia de la córnea.^{39, 45, 46}

Los nervios subbasales están localizados entre la membrana de Bowman y el epitelio basal.⁴⁷⁻⁴⁹ Aparecen como estructuras lineales con reflectividad homogénea, aspecto dicotómico en forma de Y y fibras de interconexión finas en forma de H.^{16, 49, 50} La membrana de Bowman no es visible por microscopía

confocal. El plexo subepitelial se ubica entre la membrana de Bowman y el estroma anterior. Este plexo tiene una distribución en parche y difuso, limitado aparentemente a la córnea medioperiférica y probablemente ausente en la córnea central.^{49, 51-56}

El estroma se observa con imágenes de núcleos de queratocitos. El cuerpo celular, los procesos queratocitarios y el colágeno estromal no son usualmente visibles en la córnea normal. Los queratocitos en el estroma anterior son imágenes bien definidas con brillo, ovales, objetos con variada orientación que contrastan con un fondo oscuro.^{55, 57-60} En el estroma medio los queratocitos tienen una forma oval más regular. Los queratocitos del estroma posterior aparecen más elongados que los de capas anteriores.^{31, 54, 60, 61}

Los nervios estromales se ubican en el estroma anterior y medio, pero no pueden ser visualizados en el estroma posterior: aparecen como estructuras lineales, delgadas, reflectivas, en varias orientaciones, con patrón dicotómico, no se observan detalles internos de los nervios.⁶²⁻⁶⁷

La membrana de Descemet no es visible. Las células endoteliales aparecen como una línea regular de células hexagonales que exhiben cuerpos celulares brillantes con bordes más oscuros.^{3, 17, 22, 61, 68-70}

Teniendo como referencia las características de la córnea normal, se han descrito posterior a cirugía refractiva corneal, a través de la microscopía confocal, algunas variables como: el grosor del epitelio³⁶ y del colgajo corneal²⁵, la densidad celular queratocitaria en diferentes estratos⁵⁹, las características de los nervios corneales⁵⁰, la densidad celular endotelial, el pleomorfismo, polimegatismo⁶⁸, el grosor del haze corneal³⁸, entre otras

variables.

1.4- TECNOLOGÍA LÁSER EXCÍMER.

En el momento actual se ha demostrado un grado adecuado de eficacia y seguridad en varios tipos de intervenciones refractivas⁷¹⁻⁷³, destacándose el uso del Láser Excímer como herramienta de alta precisión y seguridad para dicho esculpido (aplanamiento) introducido por Stephen Trokel y Srinivasan del Centro Médico de la Universidad de Columbia (EEUU) en 1983.⁷⁴⁻⁷⁷

El Láser Excímer utiliza pulsos controlados de energía de luz ultravioleta de 193 nm de longitud de onda para aplicar ablación sobre tejido estromal produciendo un patrón de excisión refractivo, generando nuevos radios de curvatura.^{72, 74} El término excímer deriva de “dímero excitado”, es una forma química diatómica singular que solo existe en estado excitado y durante un tiempo minúsculo. Los pulsos de emisión Láser durante la operación se limitan a decenas de nanosegundos.⁷⁸⁻⁸⁰ Uno de los átomos del excímero corresponde siempre a un gas noble (argón, kriptón o xenón), mientras que el otro debe ser un halógeno (flúor, cloro, bromo o yodo).^{28, 75, 81}

Ambos elementos están en concentraciones muy pequeñas en una mezcla de helio y se combinan para formar un compuesto inestable que rápidamente se disocia y libera la energía en forma de luz ultravioleta. La fotoablación se produce pues cada fotón de luz ultravioleta de 193 nm posee 6,4 eV (electrón volt) que es suficiente para separar las uniones carbono-carbono de 3,5 eV, es decir: que la fotoablación se basa en la ruptura de uniones moleculares.^{1, 72, 75,}

Debido a que la energía de los fotones se concentra en un punto focal de una fina capa de tejido corneal, se produce una intensa liberación de energía y presión que eyecta, en forma perpendicular a la superficie, los fragmentos moleculares a una velocidad de aproximadamente 1500 m/s generándose al mismo tiempo ondas de choque que se propagan a través del ojo y generan un sonido característico.^{72, 74, 76, 82}

El pulso del Láser dura 15 ns. Los tejidos son removidos casi sin dejar residuos, con un mínimo daño térmico (daño colateral del tejido circundante) obteniéndose superficies de ablación muy uniformes. La emisión de pulsos de altísima potencia inferiores al microsegundo lo convierte en un bisturí perfecto que deja los límites de corte intactos.²⁸ El rayo Láser ultravioleta aplicado en el estroma corneal, rompe los enlaces covalentes de las proteínas solo en el tejido atravesado por el rayo, además con ajuste micrométrico de la profundidad deseada.^{80, 83} El corte responde a una fotoablación con eliminación de tejido corneal, penetrando 14 μm por cada dioptría a corregir, provocando cambios anatómicos que modifican las dioptrías necesarias para conseguir la visión emétrope.^{72, 76, 82}

Los avances en la tecnología del Láser Excímer marcan básicamente tres grupos; la primera generación es el Láser de haz ancho, tecnología que no toma en cuenta la asimetría del astigmatismo irregular, tratando todas las córneas por igual y su fluencia se controla por medio de un diafragma.^{84, 85}

Posteriormente surge el Láser de barrido que trabaja barriendo la superficie en forma de hendidura. Otra generación dentro de los Láser de barrido es la llamada flying spot (puntos volantes) y su principio incluye un pequeño punto

circular o elíptico de diámetro variable, moviéndose sobre la superficie de la córnea, creando así el diseño de ablación que se desee, lo que evidencia las ventajas de este último sobre el Láser de haz ancho, pues se logra una mejor cantidad y calidad de visión, al producirse una superficie corneal más lisa y uniforme, induciendo menor respuesta cicatrizal.^{72, 75, 76, 86}

Existen tres variantes de operación con Láser Excímer: la Queratectomía Fotorrefractiva (QRF), Láser Epithelial in situ Queratomileusis (LASEK) y el Queratomileusis In Situ Asistida Con Láser (LASIK). En la QRF la limitación principal es la respuesta lenta en la cicatrización, el dolor extremo posoperatorio, el haze corneal, la regresión del defecto refractivo y una escasa predictibilidad.⁸⁷ El LASEK logra conservar el epitelio, lo que redundará en un menor grado de molestias y de reacción que con la QRF, así como una recuperación visual relativamente rápida. Con LASEK es posible intervenir pacientes que por tener un espesor corneal menor no son aptos para la técnica intraestromal.^{60, 88}

En el LASIK se crea un colgajo corneal promedio de 160 micras de profundidad, se expone el lecho estromal subyacente para luego provocar una ablación del tejido estromal mediante el Láser Excímer, logrando la corrección deseada; el colgajo al ser reubicado y al fijarse exactamente en su lugar original sin suturas, no conlleva ningún astigmatismo operativo (cicatrización o sutura).^{45, 89-91} La rehabilitación visual es dramáticamente más rápida, hay menos dolor posoperatorio, menos susceptibilidad a las infecciones y virtualmente ningún riesgo de opacidad corneal, por lo que se ha convertido en una técnica quirúrgica prevaleciente.

Por este motivo las previsiones de futuro indican que podrá cambiar el tipo de técnica; pero no, de momento, el tipo de Láser. Los fabricantes ya hablan de una cuarta generación de Láser Excímer cuyas innovaciones han ido sucediéndose en el software y en una mejor adaptación a la práctica quirúrgica.

1.5- CONCLUSIONES

- La microscopía confocal es un método no invasivo para el estudio de imágenes en tejidos vivos. La luz es reflejada y pasa a través de un segundo lente objetivo. La iluminación y la detección se encuentran en el mismo plano focal, por ello el término confocal es utilizado.
- El estudio de la córnea por microscopía confocal permite la diferenciación de las subcapas del epitelio, el plexo nervioso subbasal, los queratocitos y nervios del estroma, así como las células del endotelio corneal.
- El Láser Excímer destaca entre los avances más sorprendentes de la cirugía moderna. Permite el moldeamiento de la curvatura corneal con vistas a lograr un resultado refractivo, con mínimas alteraciones al tejido circundante. Las técnicas quirúrgicas LASIK y LASEK posibilitan lograr este resultado con rápida recuperación visual y se han convertido en técnicas quirúrgicas prevaletentes a nivel internacional en el tratamiento de las ametropías.

CAPÍTULO 2:

DISEÑO METODOLÓGICO

CAPÍTULO 2: DISEÑO METODOLÓGICO

El presente capítulo expone los aspectos metodológicos del estudio, está formado por cinco epígrafes que incluyen el tipo de investigación, diseño del estudio y contexto, la definición de universo y muestra, la operacionalización de las variables, las técnicas y procedimientos realizados así como los aspectos éticos.

2.1- TIPO DE INVESTIGACIÓN, DISEÑO DEL ESTUDIO Y CONTEXTO.

Se realizó una investigación observacional, descriptiva, longitudinal y prospectiva en el servicio de Oftalmología del Hospital Abel Santamaría Cuadrado en Pinar del Río y en el Instituto Cubano de Oftalmología Ramón Pando Ferrer.

2.2- DEFINICIÓN DE UNIVERSO Y MUESTRA. CRITERIOS DE SELECCIÓN.

Universo: Constituido por los pacientes que asistieron a consulta de cirugía refractiva y cumplieron con los criterios establecidos. La investigación cuenta con 2 universos, de acuerdo a la técnica quirúrgica empleada.

Universo 1: Pacientes operados con la técnica quirúrgica LASIK.

Universo 2: Pacientes operados con la técnica quirúrgica LASEK.

Ambos universos cumplieron con los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

- Edad mayor de 20 años con estabilidad refractiva de dos años.
- Defecto refractivo: miopía hasta ocho dioptrías, astigmatismo hasta cuatro dioptrías, astigmatismo miópico compuesto con menos de ocho dioptrías (en suma algebraica de esfera y cilindro).
- Agudeza visual sin corrección de 0.5 o menos.
- Agudeza visual con corrección en el ojo de menor visión superior a 0.3.
- Lecho corneal residual programado mayor de 300 micras en LASIK y mayor de 400 micras en LASEK.
- Queratometría media inicial y programada final entre 36 y 48 dioptrías.
- Paquimetría preoperatoria superior a 500 micras.
- Topografía corneal normal.

Criterios de exclusión:

Generales:

- Pacientes que no cooperaron en la realización de la microscopía confocal.
- Pacientes que no asistieron a alguna de las consultas programadas en el estudio.
- Pacientes que no otorgaron su consentimiento para participar en el estudio.
- Enfermedades sistémicas como diabetes mellitus, epilepsia, enfermedades del colágeno, inmunodeprimidos, trastornos psiquiátricos, Síndrome Marfán, Ehlers Danlos, Psoriasis.
- Infecciones sistémicas.
- Embarazo y puerperio (hasta 6 meses).

Oculares:

- Ojo único.
- Alteración de los anexos oculares y de la lágrima (infección, inflamación, ojo seco).
- Configuraciones orbitarias anormales (órbitas pequeñas o profundas, hendidura palpebral pequeña, enoftalmos, arco superciliar prominente).
- Enfermedad corneal previa (queratitis por herpes simple, zóster, ectasia corneal confirmada o en sospecha, erosiones corneales recidivantes, leucomas, pannus, distrofias, degeneraciones).
- Uso continuo de lentes de contacto en el año previo al estudio.
- Estrabismo u operación previa del mismo.
- Cirugía refractiva corneal anterior.
- Glaucoma o hipertensión ocular.
- Esclerosis del cristalino o catarata.
- Uveítis.
- Historia de desprendimiento de retina, vitrectomía, degeneración macular, retinosis pigmentaria.

Muestra: La muestra quedó constituida por todos los pacientes (134) que asistieron a consulta de cirugía refractiva y cumplieron con los criterios establecidos del primero de noviembre de 2010 al 31 de mayo de 2011: 78 pacientes (151 ojos) operados con LASIK y 56 pacientes (111 ojos) operados con LASEK. (Anexo 2).

2.3- OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Para la operacionalización de las variables fueron definidas previamente por microscopía confocal las siguientes imágenes que constituyen límites de referencia:

Imagen de epitelio corneal apical: Definida como capa de células poligonales de bordes definidos, con núcleo brillante que resalta sobre el citoplasma homogéneo. (Anexo 3)

Imagen de epitelio corneal basal: Definida como capa de células con citoplasma homogéneo más oscuro que carecen de núcleo y presentan bordes definidos. (Anexo 4)

Imagen de plexo nervioso subbasal: Definida con presencia de fibras nerviosas que contrastan sobre el fondo oscuro, finas, brillantes, distribuidas de forma paralela u oblicua con diversas bifurcaciones que se conectan entre sí, ubicadas entre el epitelio basal y la membrana de Bowman. (Anexo 5)

Imagen de estroma corneal: Definida por la presencia de cuerpos ovales, alargados y brillantes (presumiblemente núcleos de queratocitos) que contrastan sobre el fondo oscuro. (Anexo 6)

Imagen de interfase quirúrgica: Definida por la presencia de cuerpos brillantes puntiformes que resaltan sobre el fondo oscuro, en pacientes operados por LASIK. (Anexo 7)

Imagen de endotelio corneal: Definida por células hexagonales de bordes definidos, anucleadas, con citoplasma homogéneo. (Anexo 8)

Imagen de haze corneal: Definida por imagen de estroma corneal donde no pueden ser definidos los límites de los queratocitos, con mayor brillo que el resto de las imágenes estromales y que coincide con picos en la curva CMTF.

(Anexo 9)

Operacionalización:

1- Paquimetría. (Cuantitativa continua)

Descripción: Medida por microscopía confocal de enfoque completo, representada como profundidad en la parte superior izquierda de la curva CMTF, expresada en micras. (Anexo 10)

2- Grosor epitelial. (Cuantitativa continua)

Descripción: Medido por microscopía confocal de enfoque completo desde la primera imagen de epitelio corneal apical hasta la última imagen visible de epitelio corneal basal, expresado en micras. (Anexo 11)

3- Grosor del colgajo. (Cuantitativa continua)

Descripción: Medido en pacientes operados con LASIK, por microscopía confocal de enfoque completo, desde la primera imagen de epitelio corneal apical hasta la primera imagen de interfase quirúrgica, expresado en micras. (Anexo 12) El valor del grosor del colgajo preoperatorio corresponde al valor programado en todos los casos: 160 micras.

4- Lecho estromal residual. (Cuantitativa continua)

Descripción: Medido en pacientes operados con LASIK, por microscopía confocal de enfoque completo desde la última imagen de interfase quirúrgica

hasta la última imagen de endotelio corneal, expresado en micras. (Anexo 13)

El valor del lecho estromal residual en el preoperatorio corresponde al valor que muestra el programa ORK-CAM para tratamientos esféricos utilizado en la programación de los casos, que resulta de la sustracción de 160 micras (grosor del colgajo programado) y de la ablación en micras, al valor de paquimetría preoperatoria medido por microscopía confocal.

5- Densidad de células del epitelio apical. (Cuantitativa continua)

Descripción: Determinada por método manual, expresada en células/mm². Se seleccionó la imagen de epitelio corneal apical ya descrita. En un área rectangular (A) de 0,0500 mm², para prevenir doble conteo fue marcada cada célula y las interceptadas por los límites del área fueron contadas solo en el sector superior y nasal. Se definió N como el número de células contadas en un área (A). La densidad fue expresada en células por milímetros cuadrados, obteniendo el cociente entre N y A. (Anexo 14)

6- Densidad de células del epitelio basal. (Cuantitativa continua)

Descripción: Determinada por método manual, expresada en células/mm². Se seleccionó la imagen de epitelio corneal basal ya descrita. En un área rectangular (A) de 0,0500 mm² fue marcada cada célula para prevenir doble conteo. Las células interceptadas por los límites del área fueron contadas solo en el sector superior y nasal. Se definió N como el número de células contadas en un área (A). La densidad fue expresada en células por milímetros cuadrados, obteniendo el cociente entre N y A. (Anexo 15)

7- Densidad de queratocitos. (Cuantitativa continua)

Descripción: Cantidad de queratocitos por mm^3 .

Se definió como queratocito a objetos brillantes alargados (núcleos de queratocitos) que aparecen en imágenes de estroma corneal sobre un fondo negro. (Anexo 16) Se calculó la densidad de queratocitos por cada subcapa estromal.

En un área rectangular (A) predefinida de $0,0500 \text{ mm}^2$, fue marcado cada objeto brillante alargado (asumido como núcleo de queratocito). Para prevenir el doble conteo, los objetos brillantes interceptados por los límites del área solo fueron contados en la porción nasal y superior. Se definió N como el número de objetos contados en un área (A). La densidad fue expresada en células por milímetros cúbicos, obteniendo por el software NAVIS un primer cociente entre N y A. Posteriormente se dividió este valor por la profundidad de campo efectiva del microscopio utilizado: 25 (Anexo 17)

La densidad de queratocitos fue obtenida en diferentes regiones del estroma corneal. Se definieron varias subcapas estromales de acuerdo con el nivel de profundidad de las mismas, a la técnica quirúrgica empleada y al momento de la medición: pre o posoperatorio. Cada subcapa estromal está representada por una imagen seleccionada.

En pacientes operados con LASIK fueron seleccionadas las siguientes subcapas estromales (Anexo 18)

-Colgajo anterior: Definido como la subcapa más anterior del estroma corneal en el preoperatorio y como la mitad anterior del colgajo estromal en el

posoperatorio. Representado por la primera imagen de estroma corneal inmediatamente posterior a la imagen de plexo nervioso subbasal en todo momento del estudio.

-Colgajo posterior: Definido como la segunda subcapa de estroma anterior en el preoperatorio representado por la imagen de estroma corneal a 100 micras de profundidad a partir del epitelio, medido por curva CMTF. Definido como mitad posterior del colgajo estromal durante el posoperatorio, representado por la imagen de estroma corneal inmediatamente anterior a la primera imagen de interfase quirúrgica.

-Retroablación anterior: Definido en el preoperatorio como estroma medio, representado por la imagen ubicada a 200 micras de profundidad a partir del epitelio corneal medido por curva CMTF. Definido en el posoperatorio como las primeras 100 micras posteriores a la interfase quirúrgica, representadas por la imagen de estroma corneal inmediatamente posterior a la última imagen de interfase quirúrgica.

-Retroablación posterior: Definido en todo momento del estudio como el estroma posterior representado por la imagen ubicada a 200 micras a partir del endotelio corneal medida por curva CMTF.

-Estroma posterior: Definido como las 50 micras más posteriores adyacentes a la membrana de Descemet (no visible por microscopía confocal). Representado por la imagen de estroma corneal inmediatamente anterior a la primera imagen de endotelio corneal, en todo momento del estudio.

En pacientes operados con LASEK fueron seleccionadas las siguientes subcapas estromales: (Anexo 19)

Estroma anterior: Definido como la subcapa más anterior del estroma corneal en el preoperatorio y posoperatorio. Representado por la primera imagen de estroma corneal inmediatamente posterior a la imagen de plexo nervioso subbasal en todo momento del estudio.

Estroma medio: Definido como la segunda subcapa de estroma en el preoperatorio y posoperatorio. Representado por la imagen de estroma corneal a 150 micras de profundidad a partir del epitelio, medido por curva CMTF.

Estroma posterior: Definido como las 50 micras más posteriores adyacentes a la membrana de Descemet (no visible por microscopía confocal). Representado por la imagen de estroma corneal inmediatamente anterior a la primera imagen de endotelio corneal, en todo momento del estudio.

8- Densidad de células endoteliales. (Cuantitativa continua)

Descripción: Definida como cantidad de células endoteliales por mm^2 , calculada por modo automático con corrección manual a través del software NAVIS del microscopio confocal especialmente diseñado para este cálculo, utilizando el área predeterminada y la imagen de endotelio corneal ya descrita. (Anexo 20)

9- Polimegatismo endotelial. (Cuantitativa continua)

Descripción: Definido como células gigantes en la población endotelial. Se considera polimegatismo cuando el diámetro celular es mayor que el doble de la célula endotelial normal (20 micras). Expresado en por ciento. Calculado por modo automático a través del software NAVIS que expresa como valor normal: menor del 30 %. (Anexo 20)

10-Pleomorfismo endotelial. (Cuantitativa continua)

Descripción: Definido como células de diferentes tamaños con pérdida de su forma hexagonal normal en la población endotelial. Expresado en por ciento. Calculado por modo automático a través del software NAVIS que expresa como valor normal: mayor del 60 %. (Anexo 20)

11- Magnitud de la ametropía. (Cuantitativa continua)

Descripción: Se definió como la sumatoria algebraica entre cilindro y esfera, obtenidos en refracción dinámica y visión con acomodación paralizada, expresado en dioptrías.

12- Plexo nervioso subbasal. (Cualitativa ordinal)

Descripción: Se definió como la imagen correspondiente ya descrita.

Se midió por microscopio confocal la longitud de cada segmento de las fibras del plexo nervioso visible en un área de $0,0750 \text{ mm}^2$. Se identificó la presencia o no de interconexiones entre las mismas, realizando la siguiente escala de cuatro grupos de acuerdo a estas características: (Anexo 21)

Grupo uno: No se visualizan imágenes de nervios.

Grupo dos: Visibles nervios cortos (menores de $200 \mu\text{m}$)

Grupo tres: Visibles nervios largos (mayores de $200 \mu\text{m}$) sin interconexiones.

Grupo cuatro: Visibles nervios largos (mayores de $200 \mu\text{m}$) con interconexiones.

13- Grosor del haze corneal. (Cuantitativa continua)

Descripción: Definido como la cantidad de micras donde existen imágenes continuas de haze corneal en pacientes operados con LASEK, medido por curva CMTF desde la primera imagen estromal con haze hasta la última, coincidente con picos en la curva CMTF (Anexo 22)

2.4- TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

2.4.1- Exámenes realizados para la selección de pacientes.

- Biomicroscopía anterior, lámpara de hendidura: Examen objetivo del segmento anterior ocular.
- Oftalmoscopia directa, Oftalmoscopio directo (Neitz Psu – 1): Examen objetivo de la transparencia de los medios y del polo posterior ocular.
- Oftalmoscopia indirecta, Oftalmoscopio indirecto (HEINE Omega 180): Examen objetivo del segmento posterior ocular.
- Tonometría de aplanación (Goldmann) (APO 20): Determinar valores de la presión intraocular (corregida por espesor corneal central)
- Mejor agudeza visual con corrección (MAVC) y sin ella (MAVSC): Unidad de refracción NIDEK: Examen subjetivo.
- Autorrefractómetro: Determinación automática de la esfera, cilindro y eje refractivo.
- Queratometría: Unidad de refracción NIDEK: Determinación de la curvatura corneal en sus diferentes meridianos.
- Visión con acomodación paralizada (en menores de 40 años): Determinación subjetiva de la MAVC, esfera y cilindro refractivos, bajo midriasis ciclopléjica.
- Paquimetría ultrasónica: Determinar el grosor corneal en micras.

- Biometría (IOL Máster): Determinar la longitud axial del globo ocular y profundidad de la cámara anterior.
- Topografía corneal (Magellan): Determinar mapa de curvatura corneal e índices predictivos de alteraciones corneales.
- Aberrometría (Hart Chartman): Determinar las aberraciones del frente de onda.
- Examen de la motilidad ocular, estado de la visión binocular y estereopsia.
- Test de Schirmer. Estudio de la película lagrimal precorneal.
- Dominancia ocular.

2.4.2- Procedimientos quirúrgicos y seguimiento de los pacientes.

Todos los casos fueron operados por el autor de la investigación. La planificación de la operación se realizó con el programa ORK-CAM para tratamientos esféricos. El LASIK con microquerátomo pendular, programación de grosor del colgajo de 160 μm y lecho estromal residual mayor de 300 μm . El LASEK con mitomicina C y lecho estromal residual mayor de 400 μm . En ambas técnicas las zonas ópticas de 6.50 mm en todos los casos. (Anexo 23)

El tratamiento se realizó con el ESIRIS (Schwind- Alemania) (Anexo 24) el cual posee las siguientes características: diámetro del spot 0,8 mm, perfil de ablación gaussiano, tasa de repetición 200 hz, eyetracking activo de alta velocidad (328 hz), distancia de trabajo 29,5 cm., tubo Láser cerámico y protección del sistema de transmisión del Láser por compresión de aire. Las operaciones se efectuaron con valores de temperatura de 18-22 °C, humedad

relativa de 38-42 % y la ablación por capas entre 0,530 y 0,580. Se operaron los dos ojos el mismo día. No hubo complicaciones transoperatorias.

Se siguió el siguiente protocolo quirúrgico:

Preoperatorio:

- Medidas de higiene palpebral.
- Cloranfenicol (colirio oftálmico) (Quimefa, Cuba) una gota cada cuatro horas, desde 24 horas antes de la operación.

Transoperatorio:

LASIK:

- Instilación de Anestésico (colirio oftálmico) (Quimefa, Cuba) una gota en el ojo a operar.
- Aislamiento del área quirúrgica con paño hendido y colocación de blefarostato exponiendo el globo ocular.
- Lavado con solución salina balanceada en fondos de saco conjuntivales.
- Colocación de anillo de succión 9,0 mm en córneas con curvatura superior o igual a 43,0 dioptrías y anillo de succión 10,0 mm en córneas inferiores a 43,0 dioptrías de curvatura.
- Se realizó la succión con valores entre 609 y 612 mmHg.
- Corte del colgajo con microquerátomo pendular Carriazo, velocidad de avance 3,5 mm/s, ubicación de la bisagra nasal. Secado debajo y anterior a la bisagra con hemosteta.
- Enfoque y aplicación del Láser con protección de la bisagra.
- Lavado con solución salina balanceada de la zona tratada y la cara estromal del colgajo.

- Recolocación del colgajo en su posición original, procediendo a la limpieza de partículas o residuos que puedan permanecer en el lecho.
- Secado de los márgenes con ayuda de hemostetas y comprobación de la adhesión del colgajo.
- Instilación de una gota de cloranfenicol, prednisolona y lágrimas artificiales en fondo de saco inferior.
- Se realizó biomicroscopía anterior en el quirófano con el objetivo de precisar adhesión y regularidad del colgajo así como la ausencia de cuerpos extraños en la interfase.

LASEK

- Instilación de Anestésico (colirio oftálmico) (Quimefa, Cuba) una gota en el ojo a operar.
- Aislamiento del área quirúrgica con paño hendido y colocación de blefarostato exponiendo el globo ocular.
- Lavado con solución salina balanceada en fondos de saco conjuntivales.
- Aplicación de iodopovidona al 5 % en fondos de sacos conjuntivales por tres minutos.
- Colocación de contenedor de alcohol de 8,5 mm con centro en pupila, previo marcado corneal, durante 30 segundos.
- Lavado profuso con solución salina balanceada.
- Separación del epitelio corneal desde los bordes de marcado, excepto en córnea superior. Enfoque y aplicación del Láser.
- Colocación de hemosteta con mitomicina C (0,02 %) durante 20 segundos en lecho estromal. Lavado profuso con solución salina balanceada.

- Recolocación del epitelio corneal. Colocación de lente de contacto blando.
- Instilación de una gota de cloranfenicol, prednisolona y lágrimas artificiales en fondo de saco inferior.
- El tratamiento posoperatorio consistió en:
Lágrimas artificiales (colirio oftálmico) (Quimefa, Cuba) una gota cada dos horas.
Cloranfenicol (colirio oftálmico) (Quimefa, Cuba) una gota cada cuatro horas.
Prednisolona (colirio oftálmico) (Quimefa, Cuba) una gota cada 12 horas.
En el LASEK se retiró el lente de contacto a los siete días del proceder.

Se realizaron consultas a las 24 horas, siete días, al mes, tres, seis meses y al año posterior a la operación. Se realizaron los exámenes programados por consulta (agudeza visual sin corrección, topografía corneal, refracción dinámica). No existieron complicaciones posoperatorias hasta el año de la operación. La agudeza visual sin cristales fue la estimada previamente y permaneció sin variaciones durante todo el año en todos los casos.

2.4.3- Técnicas de recolección.

Se utilizó el microscopio confocal ConfoScan cuatro de NIDEK para la obtención y estudio de las imágenes in vivo del tejido corneal (Anexo 25). Se acopló el anillo Z para la fijación del globo ocular con el lente 40x (Anexo 25A). Se programó en modo escaneo automático, con fijación central, velocidad de adquisición de la imagen a 25 imágenes por segundo, magnificación de 500x, resolución lateral de 0.6 μm /píxel, con 350 imágenes por escaneo, distancia de trabajo de 1,98 mm.

Se instiló colirio anestésico (Quimefa) y posteriormente Viscotears (gel) como medio de acoplamiento entre la córnea y el anillo Z (Anexo 25B y C). Se avanzó el lente hasta hacer contactar el anillo con la sustancia de acoplamiento (Anexo 25D). El lente objetivo fue alineado con el centro de la córnea hasta observar las primeras imágenes de epitelio corneal. Las imágenes digitales obtenidas fueron capturadas en modo automático y grabadas en computadora Pentium cuatro con ambiente Windows 2000 para su posterior análisis. Antes y después de cada examen se realizó la limpieza del lente objetivo con isopropyl alcohol.

Cada imagen obtenida se encontraba separada de la imagen adyacente por cuatro micras, una profundidad de campo de 25 μm , nivel de intensidad de 0 a 255, presión del anillo Z de 20 %. Todas las tomas pertenecieron a los cuatro mm centrales de la córnea. Ninguno de los sujetos experimentó síntomas visuales o complicaciones corneales durante o con posterioridad al examen.

Se realizó microscopía confocal de la córnea en el preoperatorio, a los siete días, un mes, tres, seis meses y al año de la operación. En los pacientes operados por LASEK no se realizó microscopía a los siete días, porque coincidió con la retirada del lente de contacto, aspecto que afecta el resultado del examen. Se realizaron los exámenes necesarios en cada paciente hasta obtener, por microscopía confocal cuantitativa de enfoque completo (curva CMTF), escaneos e imágenes de máxima estabilidad en cuanto a presión aplicada por el anillo Z con variaciones inferiores al 10 %, representado por la curva amarilla. (Anexo 26)

Las imágenes seleccionadas no fueron modificadas en brillo y contraste, se codificaron para realizar el análisis sin conocer el momento posoperatorio, la magnitud de la ametropía tratada y la técnica quirúrgica utilizada. El análisis fue realizado con el software NAVIS.

2.4.4- Técnicas de procesamiento estadístico.

Los cálculos obtenidos por variable, fueron incorporados a una tabla de datos en SPSS versión 11.5 Para el cumplimiento del objetivo uno se utilizaron métodos de estadística descriptiva e inferencial expresados en frecuencias absolutas, frecuencias relativas y el ANOVA de medidas repetidas para un factor con ajuste del intervalo de confianza por Bonferroni.

Para el cumplimiento del objetivo dos se evaluaron las correlaciones entre la magnitud de la ametropía y las variables morfométricas con el coeficiente de correlación bivariada de Pearson, excepto la variable plexo nervioso subbasal con el coeficiente rho de Spearman.

Para el cumplimiento del objetivo tres, en las variables morfométricas donde se obtuvo correlación significativa superior a 0,5 con la magnitud de la ametropía, se aplicó el análisis de regresión lineal múltiple para la obtención de los modelos predictivos de variables morfométricas en el momento más avanzado del posoperatorio, a partir de la magnitud de la ametropía a tratar e incluyendo el valor preoperatorio de la variable analizada. En el caso de las variables inexistentes en el preoperatorio la regresión se aplicó solo con la magnitud de la ametropía.

La muestra, por cada técnica quirúrgica, fue dividida de forma aleatoria en dos grupos. Los modelos de regresión fueron obtenidos en el primer grupo

(estimación), y en el segundo grupo se realizó la validación de los mismos. Se realizó la validación cruzada, que consistió en calcular dos coeficientes de correlación, el primero (R^2_a) entre los valores de variables morfométricas observados y los pronósticos, en el primer grupo de pacientes, cuyo valor coincide con el R^2 . El segundo coeficiente (R^2_b) en el segundo grupo, se obtuvo entre las variables morfométricas observadas y los valores pronosticados mediante la función estimada en el primer grupo. Se obtuvo el índice de reducción en la validación cruzada ($R^2_a - R^2_b$) para cada modelo con valores inferiores a 0,1 en todos los casos.

Para garantizar la validez de las funciones, se obtuvieron óptimos resultados de los supuestos del modelo de regresión lineal: gráficos de regresión, análisis estadístico de los residuos y no colinealidad (autovalores, índices de condición, tolerancia, factores de inflación de la varianza). Se utilizó un nivel de significación del 95 %. Los resultados fueron presentados en tablas y gráficos. El flujograma del estudio resume los aspectos señalados en este epígrafe. (Anexo 27)

2.5- ASPECTOS ÉTICOS

Se efectuaron los flujogramas correspondientes contenidos en los protocolos diagnósticos y terapéuticos existentes en nuestro país para todo paciente con el diagnóstico de ametropías. Se aclararon todas las dudas necesarias referentes al estudio y no se coaccionó a los pacientes con vistas a la aceptación del mismo. Luego de asegurar a cada participante la confidencialidad del estudio, se recogió la voluntariedad y consentimiento para ser incluidos en el mismo. (Anexo 28)

Los aspectos que se trataron fueron: propósito del estudio, procedimientos a realizar, riesgos y molestias a que pudieran estar sometidos, beneficio de la investigación, alternativa de participar o no y la declaración de consentimiento. El protocolo de investigación fue previamente aprobado en el Consejo Científico y el Comité de Ética de la institución.

CAPÍTULO 3:

RESULTADOS

CAPÍTULO 3: RESULTADOS

El actual capítulo contiene los resultados de la investigación; está formado por tres epígrafes que exponen la morfometría corneal en ambas técnicas quirúrgicas, la correlación entre la magnitud de la ametropía y estos cambios así como los modelos de regresión obtenidos.

3.1- DESCRIPCIÓN MORFOMÉTRICA CORNEAL EN AMBAS TÉCNICAS QUIRÚRGICAS.

En cuanto a los valores de grosores corneales posterior a LASIK, como muestra la Tabla 1, se obtuvo una disminución significativa de la paquimetría a los siete días del posoperatorio con respecto a valores preoperatorios. Esta disminución se mantuvo a lo largo del posoperatorio durante un año, existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre los valores obtenidos en todos los momentos posoperatorios y los valores preoperatorios.

Tabla 1: Paquimetría y grosores corneales (μm) en el LASIK.

	Preop.	7 días	1 mes	3 meses	6 meses	1 año	p
Paquimetría	564,6	516,3	515,8	515,7	515,4	513,5	<0,0001
Grosor epitelial	35,7	39,8	39,0	38,2	36,8	35,7	<0,0001
Grosor del colgajo	160,0	138,0	136,8	136,5	136,7	136,7	<0,0001
Grosor de lecho estromal residual	351,8	351,3	352,2	351,9	352,7	352,1	0,180

El grosor epitelial a los siete días del posoperatorio fue significativamente superior a los valores obtenidos en el preoperatorio, con disminución significativa durante un año hasta alcanzar niveles similares al preoperatorio. Se obtuvo una diferencia significativa entre el grosor del colgajo programado y su valor a los siete días del proceder, manteniendo niveles similares hasta el año de la operación. El grosor del lecho estromal residual se mantuvo en valores similares a los programados en el preoperatorio, durante un año.

La densidad de células del epitelio basal posterior a LASIK se mantuvo en valores semejantes a los obtenidos en el preoperatorio, no existiendo variaciones significativas durante todo el año. La densidad de células del epitelio apical se mantuvo sin diferencias significativas en todos los momentos posoperatorios. (Tabla 2)

Tabla 2: Densidad de células epiteliales (cél/mm²) en el LASIK.

	Preop.	7 días	1 mes	3 meses	6 meses	1 año	p
Células basales	5679,6	5626,9	5654,1	5665,3	5691,6	5669,5	0,846
Células apicales	937,5	937,0	936,3	935,9	937,0	938,1	0,053

Como muestra la Tabla 3, la densidad de queratocitos disminuyó de forma significativa en el colgajo posterior y en la zona de retroablación anterior, y se mantuvo esta disminución durante todo el año. En el estroma posterior hubo variaciones significativas en varios momentos posoperatorios hasta el año de la operación. La densidad obtenida es superior en las capas superficiales del estroma (colgajo anterior y posterior) comparada con los valores obtenidos en las capas más profundas (zona de retroablación posterior y estroma posterior).

Tabla 3: Densidad de queratocitos (cél/mm³) por subcapas estromales en el LASIK.

Subcapa estromal	Preop.	7 días	1 mes	3 meses	6 meses	1 año	p
Colgajo Anterior	28,1	28,1	28,1	28,1	28,1	28,1	0,452
Colgajo posterior	28,1	27,9	27,5	27,2	26,9	26,6	<0,0001
Zona retroablación anterior	27,7	27,4	26,8	26,4	25,9	25,6	<0,0001
Zona retroablación posterior	22,2	22,3	22,4	22,4	22,4	22,4	0,211
Estroma posterior	16,8	16,7	17,7	16,7	16,9	17,1	<0,0001

Los valores obtenidos de pleomorfismo, polimegatismo y densidad de células endoteliales no tuvieron variaciones significativas con respecto a los niveles preoperatorios. (Tabla 4)

Tabla 4: Características del endotelio corneal en el LASIK.

	Preop.	7 días	1 mes	3 meses	6 meses	1 año	p
Densidad células endoteliales (cél/mm ²)	2607,8	2602,7	2607,8	2605,5	2605,7	2610,4	0,551
Polimegatismo (%)	25,5	25,6	25,9	25,6	25,7	25,8	0,228
Pleomorfismo (%)	65,7	65,6	65,8	65,8	69,4	65,7	0,720

La Tabla 5 muestra las características del plexo nervioso subbasal posterior a LASIK. En el preoperatorio todos los pacientes poseían características del plexo nervioso subbasal correspondientes al grupo tres (12,6 %) y cuatro (87,4 %). Sin embargo, a los siete días de LASIK, la mayoría de la muestra se encontraba distribuida en los grupos uno (50,9 %) y dos (47,0 %).

Esta distribución se mantuvo hasta los seis meses de la operación, donde la mayoría de los pacientes se encontraban en los grupos dos (56,3 %) y tres (41,7 %). Al año del proceder se incrementa el número de pacientes en el grupo cuatro (20,5 %); sin embargo, no se igualan los parámetros preoperatorios.

Tabla 5: Características del plexo nervioso subbasal en el LASIK.

	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4		Total	
	#	%	#	%	#	%	#	%	#	%
Preop.	0	0	0	0	19	12,6	132	87,4	151	100
7 días	77	50,9	71	47,0	3	1,9	0	0	151	100
1 mes	76	50,3	71	47,0	4	2,6	0	0	151	100
3 meses	28	18,5	119	78,8	4	2,6	0	0	151	100
6 meses	0	0	85	56,3	63	41,7	3	1,9	151	100
1 año	0	0	49	32,5	71	47,0	31	20,5	151	100

Se anexan los gráficos de las variables analizadas en el LASIK. (Anexo 29)

La Tabla 6 muestra que la magnitud de la ametropía tratada con LASIK fluctuó entre una y siete dioptrías. El 54,3 % de la muestra tenía tres dioptrías a tratar o menos.

Tabla 6: Magnitud de la ametropía (dioptrías) tratada con LASIK.

Magnitud ametropía	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
1,00	2	0,9	1,3
1,25	5	2,3	4,6
1,50	4	1,9	7,3
1,75	9	4,2	13,2
2,00	10	4,6	19,9
2,25	10	4,6	26,5
2,50	16	7,4	37,1
2,75	11	5,1	44,4
3,00	15	6,9	54,3
3,25	6	2,8	58,3
3,50	7	3,2	62,9
3,75	3	1,4	64,9
4,00	5	2,3	68,2
4,25	5	2,3	71,5
4,50	11	5,1	78,8
4,75	3	1,4	80,8
5,00	6	2,8	84,8
5,25	1	0,5	85,4
5,50	4	1,9	88,1
5,75	1	0,5	88,7
6,00	4	1,9	91,4
6,25	3	1,4	93,4
6,50	5	2,3	96,7
7,00	5	2,3	100,0
Total	151	100,0	100,0

La Tabla 7 muestra una disminución significativa de la paquimetría corneal posterior a LASEK, con valores similares durante todo el posoperatorio. El grosor epitelial no se modificó significativamente. El grosor del haze corneal mostró variaciones significativas durante todo el posoperatorio alcanzando su mayor valor a los 3 meses de la operación, y disminuyó posteriormente con el menor valor al año de la operación.

Tabla 7: Paquimetría y grosores corneales (μm) en el LASEK.

	Preop.	1 mes	3 meses	6 meses	1 año	p
Paquimetría	524,6	436,8	437,6	434,2	435,5	<0,0001
Grosor epitelial	34,9	35,2	34,7	35,6	35,9	0,226
Grosor del <u>haze</u>	-	51,8	63,7	29,3	22,4	<0,0001

La Tabla 8 muestra que no hubo modificaciones estadísticamente significativas en la densidad de células del epitelio corneal.

Tabla 8: Densidad de células epiteliales (cél/mm²) en el LASEK.

	Preop.	1 mes	3 meses	6 meses	1 año	p
Células basales	5657,8	5648,6	5651,3	5651,6	5661,8	0,673
Células apicales	934,7	934,1	935,5	936,7	933,4	0,137

La densidad de queratocitos disminuye de forma significativa posterior a LASEK en el estroma anterior como muestra la Tabla 9. En el estroma medio y posterior no existieron variaciones significativas posteriores al tratamiento.

Tabla 9: Densidad de queratocitos (cél/mm³) por subcapas estromales en el LASEK.

Subcapa estromal	Preop.	1 mes	3 meses	6 meses	1 año	p
Estroma anterior	29,6	29,1	28,8	28,9	28,5	<0,0001
Estroma medio	28,7	28,4	28,5	28,6	28,8	0,217
Estroma posterior	15,9	15,4	15,5	15,7	15,6	0,156

El endotelio corneal, como se observa en la Tabla 10, no tuvo variaciones significativas en cuanto a la densidad celular, pleomorfismo y polimegatismo durante el posoperatorio.

Tabla 10: Características del endotelio corneal en el LASEK.

	Preop.	1 mes	3 meses	6 meses	1 año	p
Densidad células endoteliales (cél/mm ²)	2587,1	2592,6	2589,4	2585,4	2588,7	0,462
Polimegatismo (%)	26,2	26,4	26,1	25,9	26,3	0,117
Pleomorfismo (%)	66,2	65,9	65,4	66,6	66,1	0,328

La Tabla 11 muestra las características del plexo nervioso subbasal en el LASEK. En el preoperatorio la muestra se encontraba distribuida en los grupos tres y cuatro de características del plexo; sin embargo, en el primer mes posterior a LASEK, la mayoría de la muestra se encontraba en el grupo uno y dos con menor cantidad de pacientes en el grupo tres y no presencia de pacientes en el grupo cuatro. A partir de los tres meses y hasta el año del posoperatorio, se obtuvo una recuperación de características del plexo y aumentaron paulatinamente los casos en el grupo cuatro, los cuales recuperaron similares características preoperatorias al año de la operación.

Tabla 11: Características del plexo nervioso subbasal en el LASEK.

	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4		Total	
	#	%	#	%	#	%	#	%	#	%
Preop.	0	0	0	0	15	13,5	96	86,5	111	100
1 mes	31	27,9	63	56,8	17	15,3	0	0	111	100
3 meses	7	6,3	27	24,3	48	43,2	29	26,1	111	100
6 meses	0	0	12	10,8	33	29,7	66	59,5	111	100
1 año	0	0	0	0	19	17,1	92	82,9	111	100

Se anexan los gráficos de las variables morfométricas en el LASEK. (Anexo 30)

La Tabla 12 muestra las magnitudes de las ametropías tratadas con LASEK. Se observa que más del 60 % de los pacientes presentan ametropía superior a cinco dioptrías, y algunos pacientes presentaron hasta ocho dioptrías de tratamiento, que constituye el límite de la muestra seleccionada.

Tabla 12: Magnitud de la ametropía (dioptrías) tratada con LASEK.

Magnitud ametropía	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
1,00	2	1,8	1,8
1,25	2	1,8	3,6
1,50	2	1,8	5,4
1,75	2	1,8	7,2
2,00	4	3,6	10,8
2,25	2	1,8	12,6
2,50	2	1,8	14,4
2,75	4	3,6	18,0
3,00	4	3,6	21,6
3,25	2	1,8	23,4
3,50	4	3,6	27,0
3,75	4	3,6	30,6
4,00	5	4,5	35,1
4,25	6	5,4	40,5
4,50	7	6,3	46,8
4,75	8	7,2	54,0
5,00	8	7,2	61,2
5,25	4	3,6	64,8
5,50	6	5,4	70,2
5,75	2	1,8	72,0
6,00	2	1,8	73,8
6,25	2	1,8	75,6
6,50	4	3,6	79,2
7,00	5	4,5	83,7
7,25	6	5,4	89,1
7,50	4	3,6	92,7
7,75	4	3,6	96,3
8,00	4	3,6	99,9
Total	111	100,0	100,0

3.2- CORRELACIÓN ENTRE VARIABLES MORFOMÉTRICAS Y MAGNITUD DE LA AMETROPÍA.

La Tabla 13 muestra que no se obtuvo correlación entre la magnitud de la ametropía y la densidad de células del epitelio basal y apical en diferentes momentos posoperatorios de LASIK.

Tabla 13: Correlación entre magnitud de la ametropía y densidad de células epiteliales en el LASIK.

Variables	Pearson	p
Densidad células epitelio basal		
Preoperatorio	-0,015	0,851
7 días	0,042	0,609
1 mes	0,027	0,742
3 meses	0,049	0,552
6 meses	0,057	0,484
1 año	-0,028	0,737
Densidad células epitelio apical		
Preoperatorio	-0,082	0,318
7 días	0,027	0,746
1 mes	-0,021	0,801
3 meses	0,016	0,848
6 meses	0,027	0,745
1 año	-0,119	0,147

La Tabla 14 muestra una correlación directa significativa entre magnitud de la ametropía y grosor epitelial en varios momentos del posoperatorio de LASIK: a los siete días, uno, tres y seis meses. Esta correlación fue mayor a los siete días de posoperatorio con disminución paulatina hasta no existir correlación significativa al año de la operación. El grosor del epitelio corneal es mayor,

cuanto mayor es la magnitud de la ametropía tratada, hasta los 6 meses posteriores a LASIK.

Tabla 14: Correlación entre magnitud de la ametropía y grosores corneales en el LASIK.

Variables	Pearson	p
Grosor epitelial		
preoperatorio	0,133	0,103
7 días	0,774	<0,0001
1 mes	0,768	<0,0001
3 meses	0,750	<0,0001
6 meses	0,574	<0,0001
1 año	0,157	0,054
Paquimetría		
preoperatorio	-0,070	0,391
7 días	-0,601	<0,0001
1 mes	-0,605	<0,0001
3 meses	-0,608	<0,0001
6 meses	-0,605	<0,0001
1 año	-0,626	<0,0001
Grosor del colgajo		
7 días	0,510	<0,0001
1 mes	0,430	<0,0001
3 meses	0,439	<0,0001
6 meses	0,425	<0,0001
1 año	0,429	<0,0001
Lecho estromal residual		
preoperatorio	-0,231	<0,0001
7 días	-0,234	<0,0001
1 mes	-0,231	<0,0001
3 meses	-0,218	<0,0001
6 meses	-0,226	<0,0001
1 año	-0,232	<0,0001

La Tabla 14 muestra además la correlación inversa significativa entre magnitud de la ametropía y paquimetría, con un aumento progresivo de esta correlación hasta el año de la operación. La paquimetría corneal es menor cuanto mayor es la magnitud de la ametropía tratada por LASIK. En el caso del grosor del colgajo se obtuvo una correlación directa significativa en todo momento del posoperatorio, mayor a los siete días posteriores a LASIK, es decir: el grosor del colgajo es mayor cuanto mayor es la magnitud de la ametropía tratada.

Se obtuvo además una correlación inversa entre la magnitud de la ametropía tratada y el lecho corneal residual, existe un menor lecho corneal residual a mayor magnitud de la ametropía tratada en todo momento del posoperatorio de LASIK. Los valores de correlación obtenidos con el grosor del colgajo y lecho estromal residual, aunque significativos, no son tan elevados como los de paquimetría y grosor epitelial.

La Tabla 15 muestra la baja correlación no significativa entre magnitud de la ametropía tratada con LASIK y variables endoteliales.

Tabla 15: Correlación entre magnitud de ametropía y características del endotelio corneal en LASIK.

Variable	Pearson	p
Densidad células endoteliales		
preoperatorio	-0,154	0,059
7 días	-0,013	0,879
un mes	0,046	0,578
3 meses	0,018	0,829
6 meses	0,015	0,851
1 año	0,035	0,666
Pleomorfismo		
preoperatorio	0,056	0,497
7 días	0,142	0,083
1 mes	-0,027	0,741
3 meses	-0,090	0,272
6 meses	0,141	0,084
1 año	-0,005	0,956
Polimegatismo		
preoperatorio	0,159	0,052
7 días	-0,002	0,976
1 mes	0,015	0,855
3 meses	0,107	0,190
6 meses	0,082	0,315
1 año	0,036	0,659

La Tabla 16 muestra la correlación inversa significativa entre magnitud de la ametropía y densidad de queratocitos en las subcapas colgajo posterior y zona de retroablación anterior, durante el posoperatorio hasta el año de la operación. La densidad de queratocitos a ambos lados del corte lamelar es menor cuanto mayor es la magnitud de la ametropía tratada en pacientes operados con LASIK. Esta correlación inversa es superior en el colgajo posterior y aumenta el

nivel de correlación en ambos casos, a medida que avanza el posoperatorio, hasta alcanzar el mayor nivel de correlación al año de la operación. En el resto de las subcapas estromales hubo correlaciones muy bajas no significativas.

Tabla 16: Correlación entre magnitud de la ametropía y densidad de queratocitos (Q) por subcapas estromales en LASIK.

Variable	Pearson	p
(Q) colgajo anterior		
preoperatorio	-0,042	0,607
7 días	-0,098	0,230
1 mes	-0,084	0,307
3 meses	-0,190	0,019
6 meses	-0,066	0,423
1 año	-0,052	0,526
(Q) colgajo posterior		
preoperatorio	-0,042	0,607
7 días	-0,580	<0,0001
1 mes	-0,745	<0,0001
3 meses	-0,806	<0,0001
6 meses	-0,806	<0,0001
1 año	-0,826	<0,0001
(Q) retroablación anterior		
preoperatorio	-0,568	<0,0001
7 días	-0,582	<0,0001
1 mes	-0,630	<0,0001
3 meses	-0,611	<0,0001
6 meses	-0,642	<0,0001
1 año	-0,645	<0,0001
(Q) retroablación posterior		
preoperatorio	0,056	0,492
7 días	0,125	0,126
1 mes	0,003	0,975

3 meses	0,042	0,610
6 meses	0,036	0,661
1 año	0,058	0,476
(Q) estroma posterior		
preoperatorio	0,070	0,390
7 días	0,191	<0,0001
1 mes	-0,178	<0,0001
3 meses	0,099	0,226
6 meses	-0,062	0,453
1 año	-0,121	0,140

La Tabla 17 muestra que no se obtuvo correlación entre la magnitud de la ametropía y las características del plexo nervioso subbasal en pacientes operados con LASIK.

Tabla 17: Correlación entre magnitud de ametropía y características del plexo nervioso subbasal en el LASIK.

Variable	Spearman	p
preoperatorio	0,044	0,595
7 días	-0,135	0,098
un mes	-0,135	0,098
3 meses	0,084	0,307
6 meses	0,145	0,076
1 año	0,094	0,251

En pacientes operados con LASEK no se obtuvo correlación entre la densidad del epitelio basal y apical con la magnitud de ametropías tratadas, como muestra la Tabla 18.

Tabla 18: Correlación entre magnitud de la ametropía y densidad de células epiteliales por LASEK.

Variables	Pearson	p
Densidad células epitelio basal		
preoperatorio	-0,019	0,562
1 mes	0,017	0,667
3 meses	0,014	0,465
6 meses	0,013	0,459
1 año	-0,013	0,512
Densidad células epitelio apical		
preoperatorio	-0,055	0,465
1 mes	-0,033	0,732
3 meses	0,026	0,796
6 meses	0,029	0,751
1 año	-0,116	0,543

La Tabla 19 expresa una elevada correlación inversa significativa entre la paquimetría y la magnitud de la ametropía tratada. Cuanto mayor es la magnitud de ametropía tratada por la técnica LASEK, menor es la paquimetría corneal obtenida, siendo mayor esta correlación al año de la operación. Se

obtuvo además correlación directa significativa entre el grosor del haze corneal y la magnitud de la ametropía. A mayor valor de esta variable, mayor es el grosor del haze corneal obtenido posterior a LASEK, y existe mayor correlación a los tres meses de la operación. No se obtuvo correlación entre el grosor epitelial y la magnitud de la ametropía.

Tabla 19: Correlación entre magnitud de la ametropía y grosores corneales posterior a LASEK.

Variables	Pearson	p
Grosor epitelial		
preoperatorio	0,133	0,252
1 mes	0,268	0,342
3 meses	0,250	0,276
6 meses	0,209	0,309
1 año	0,187	0,384
Paquimetría		
preoperatorio	-0,070	0,391
1 mes	-0,715	<0,0001
3 meses	-0,712	<0,0001
6 meses	-0,714	<0,0001
1 año	-0,721	<0,0001
Grosor del <u>haze</u>		
1 mes	0,631	<0,0001
3 meses	0,634	<0,0001
6 meses	0,625	<0,0001
1 año	0,628	<0,0001

La Tabla 20 muestra que no se obtuvo correlación entre las variables endoteliales y la magnitud de la ametropía tratada posterior a LASEK.

Tabla 20: Correlación entre magnitud de la ametropía y características del endotelio corneal en LASEK.

Variable	Pearson	P
Densidad células endoteliales		
preoperatorio	-0,207	0,051
1 mes	0,046	0,603
3 meses	0,037	0,587
6 meses	0,113	0,592
1 año	0,135	0,509
Pleomorfismo		
preoperatorio	0,176	0,504
1 mes	-0,284	0,688
3 meses	-0,187	0,216
6 meses	0,173	0,167
1 año	-0,239	0,474
Polimegatismo		
preoperatorio	0,312	0,176
1 mes	0,428	0,783
3 meses	0,454	0,477
6 meses	0,562	0,508
1 año	0,438	0,603

Se obtuvo correlación inversa significativa entre la densidad de queratocitos en el estroma anterior y la magnitud de la ametropía tratada. Posterior a LASEK cuanto mayor es la ametropía tratada, menor es la densidad de queratocitos en el estroma anterior. La correlación es mayor a los tres meses de la operación.

No se obtuvo correlación entre la densidad de queratocitos en otras subcapas del estroma corneal y la magnitud de la ametropía tratada. (Tabla 21)

Tabla 21: Correlación entre magnitud de la ametropía y densidad de queratocitos (Q) por subcapas estromales en LASEK.

Variable	Pearson	p
(Q) estroma anterior		
preoperatorio	-0,056	0,305
1 mes	-0,782	<0,0001
3 meses	-0,797	<0,0001
6 meses	-0,786	<0,0001
1 año	-0,788	<0,0001
(Q) estroma medio		
preoperatorio	-0,042	0,607
1 mes	-0,132	0,509
3 meses	-0,248	0,446
6 meses	-0,236	0,462
1 año	-0,261	0,508
(Q) estroma posterior		
preoperatorio	0,164	0,492
1 mes	-0,228	0,376
3 meses	0,342	0,508
6 meses	-0,229	0,480
1 año	-0,308	0,347

La Tabla 22 muestra que no se obtuvo correlación entre la magnitud de la ametropía tratada y las características del plexo nervioso subbasal en pacientes operados con LASEK.

Tabla 22: Correlación entre magnitud de la ametropía y características del plexo nervioso subbasal en LASEK.

Variable	Spearman	p
preoperatorio	0,068	0,405
1 mes	0,052	0,986
3 meses	0,067	0,087
6 meses	0,070	0,115
1 año	0,066	0,221

Se anexan los gráficos de correlación de ambas técnicas quirúrgicas (Anexos 31 y 32)

3.3- MODELOS PREDICTIVOS DE VARIABLES MORFOMÉTRICAS.

A continuación se exponen los análisis de regresión lineal múltiple en las variables morfométricas, donde existió correlación significativa superior a 0,5 con la magnitud de la ametropía, incluyendo además los valores preoperatorios de las mismas. El análisis de los residuos en todos los casos mostró buen ajuste, y los índices de reducción obtenidos en la validación cruzada fueron inferiores a 0,1 en todos los modelos, lo que demuestra la fiabilidad de los mismos.

Como expone la Tabla 23, el 84,3 % de las variaciones del grosor epitelial a los seis meses de LASIK se deben a la magnitud de la ametropía tratada y al grosor epitelial preoperatorio. El sentido de la asociación univariada se conserva: a mayor magnitud de la ametropía a tratar, es mayor el grosor epitelial posoperatorio. En este modelo tiene mayor importancia el valor preoperatorio de la variable de acuerdo con los valores absolutos de los coeficientes estandarizados.

Tabla 23: Regresión lineal múltiple: grosor epitelial seis meses de LASIK.

Variable	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	IC 95 %		p
	B	ET		LI	LS	
Constante	4,331	1,901		0,605	8,057	0,026
MA	0,723	0,073	0,467	0,580	0,866	<0,0001
GEp	0,842	0,054	0,735	0,736	0,948	<0,0001

Modelo $R = 0,918$, $R^2 = 0,843$, R^2 corregida= 0,839

Validación $R^2_a - R^2_b = 0,017$.

Función **$GE = 4,331 + 0,723 \times MA + 0,842 \times GEp$**

ET: Error típico.

GE: Grosor epitelial a los 6 meses.

IC: Intervalo de confianza.

GEp: Grosor epitelial preoperatorio.

La Tabla 24 muestra que el 80,1 % de las variaciones de paquimetría al año de la operación se deben al valor paquimétrico preoperatorio y a la magnitud de la ametropía tratada con LASIK, con mayor influencia en el modelo de la magnitud de la ametropía. Se mantiene la asociación univariada: a mayor magnitud de la ametropía menor valor de paquimetría al año de la operación.

Tabla 24: Regresión lineal múltiple: paquimetría un año de LASIK.

Variable	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	IC 95 %		p
	B	ET		LI	LS	
Constante	62,867	40,454		0,273	142,2	0,124
MA	-10,560	0,985	-0,560	-16,423	-9,641	<0,0001
PAQp	0,863	0,071	0,637	0,724	1,002	<0,0001

Modelo $R = 0,895$ $R^2 = 0,801$ R^2 corregida= 0,795

Validación $R^2_a - R^2_b = 0,013$

Función **PAQ= 62,867 - 10,560 x MA + 0,863 x PAQp**

ET: Error típico.

PAQ: Paquimetría 1 año.

IC: Intervalo de confianza.

PAQp: Paquimetría preoperatorio.

Como muestran las Tablas 25 y 26, el análisis de regresión lineal de densidad de queratocitos a ambos lados del corte lamelar, también alcanzó niveles adecuados de R^2 . El 68,8 % de las variaciones de la densidad de queratocitos en el colgajo posterior se deben al valor de esta variable antes de LASIK, y a la magnitud de la ametropía tratada. El 48,2 % de las variaciones de la densidad de queratocitos en la zona de retroablación anterior se deben al valor de esta variable en el preoperatorio y a la magnitud de la ametropía tratada.

Tabla 25: Regresión lineal múltiple: densidad de queratocitos colgajo posterior un año de LASIK.

Variable	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	IC 95 %		p
	B	ET		LI	LS	
Constante	20,861	8,937		3,344	38,378	0,022
MA	-1,209	0,096	-0,822	-1,397	-1,021	<0,0001
(Q) FPp	0,352	0,316	0,073	-0,267	0,971	<0,0001

Modelo $R = 0,829$ $R^2 = 0,688$ R^2 corregida= 0,679

Validación $R^2_a - R^2_b = 0,006$

Función **(Q) FP = 20,861- 1,209 x MA + 0,352 x (Q) FPp**

ET: Error típico.

IC: Intervalo de confianza.

(Q) FP: Densidad de queratocitos colgajo posterior 1 año.

(Q) FPp: Densidad de queratocitos colgajo posterior preoperatorio.

Tabla 26: Regresión lineal múltiple: densidad de queratocitos retroablación anterior un año de LASIK.

Variable	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	IC 95 %		p
	B	ET		LI	LS	
Constante	8,941	10,672		-11,976	29,858	0,405
MA	-0,952	0,213	-0,519	-1,369	-0,535	<0,0001
(Q) RAp	0,724	0,368	0,228	0,003	1,445	0,032

Modelo $R = 0,694$ $R^2 = 0,482$ R^2 corregida= 0,467

Validación $R^2_a - R^2_b = 0,032$

Función **(Q) RA = 8,941- 0,952 x MA + 0,724 x (Q) RAp**

ET: Error típico.

IC: Intervalo de confianza.

(Q) RA: Densidad de queratocitos retroablación anterior 1 año.

(Q) RAp: Densidad de queratocitos retroablación anterior preoperatorio.

La disminución de la densidad queratocitaria al año en ambos modelos está más influenciada por la magnitud de la ametropía de acuerdo con los valores absolutos de los coeficientes estandarizados. Se mantienen las asociaciones univariadas: a mayor magnitud de la ametropía a tratar, menor es la densidad de queratocitos a ambos lados del corte lamelar.

Las Tablas 27, 28, 29 muestran las funciones de regresión lineal en el LASEK. El 90 % de las variaciones de paquimetría corneal al año de LASEK se deben al valor de esta variable en el preoperatorio, y a la magnitud de la ametropía tratada, teniendo mayor influencia la paquimetría preoperatoria.

Tabla 27: Regresión lineal múltiple: paquimetría un año de LASEK.

Variable	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	IC 95 %		p
	B	ET		LI	LS	
Constante	52,216	26,352		0,5661	103,867	0,046
MA	-10,031	0,628	-0,537	-11,262	-8,800	<0,0001
PAQp	0,871	0,044	0,624	0,785	0,957	<0,0001

Modelo $R = 0,952$ $R^2 = 0,904$ R^2 corregida= 0,893

Validación $R^2_a - R^2_b = 0,012$

Función **PAQ = 52,216- 10,031x MA + 0,871x PAQp**

ET: Error típico.

IC: Intervalo de confianza.

PAQ: Paquimetría 1 año.

PAQp: Paquimetría preoperatorio.

El 53 % de las variaciones de densidad de queratocitos en el estroma anterior al año de LASEK, se deben al valor de esta variable en el preoperatorio, y a la magnitud de la ametropía tratada. En este caso toma mayor importancia en el modelo la magnitud de la ametropía.

Tabla 28: Regresión lineal múltiple: densidad de queratocitos estroma anterior a un año de LASEK.

Variable	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	IC 95 %		p
	B	ET		LI	LS	
Constante	21,018	5,219		10,789	31,247	<0,0001
MA	-1,207	0,064	-0,812	-1,332	-1,082	<0,0001
(Q) EAp	0,366	0,194	0,084	-0,014	0,746	0,044

Modelo $R = 0,730$ $R^2 = 0,533$ R^2 corregida= 0,529

Validación $R^2_a - R^2_b = 0,016$

Función **(Q) EA = 21,018- 1,207x MA + 0,366x (Q) EAp**

ET: Error típico.

IC: Intervalo de confianza.

(Q) EA: Densidad de queratocitos estroma anterior 1 año.

(Q) EAp: Densidad de queratocitos estroma anterior preoperatorio.

El valor de R^2 obtenido no es óptimo en el caso del haze corneal posterior a LASEK. Solo el 39 % de las variaciones del mismo son dependientes de la magnitud de la ametropía tratada. Se mantienen las asociaciones univariadas ya descritas en el LASEK.

Tabla 29: Regresión lineal múltiple: grosor del haze corneal un año de LASEK.

Variable	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	IC 95 %		p
	B	ET		LI	LS	
Constante	19,886	8,121	0,461	3,969	35,803	0,034
MA	0,753	0,409	0,382	-0,049	1,555	<0,0001

Modelo $R = 0,628$ $R^2 = 0,394$ R^2 corregida= 0,391

Validación $R^2_a - R^2_b = 0,008$

Función **Gh = 19,886- 0,753x MA**

ET: Error típico.

IC: Intervalo de confianza.

Gh: Grosor del haze.

CAPÍTULO 4:

DISCUSIÓN

CAPÍTULO 4- DISCUSIÓN

El presente capítulo resume las explicaciones teóricas de los resultados obtenidos, se realiza la comparación entre los resultados de la investigación y los de otros autores, además se abordan las proyecciones futuras del tema, la opinión del autor y elementos de la bibliografía consultada.

El epitelio corneal no recibe la acción del Láser Excímer con el consiguiente efecto fotoablativo, por tanto pudiera pensarse que no existen cambios microscópicos a este nivel, posterior a LASIK; sin embargo, los resultados muestran lo contrario. El aumento de grosor epitelial puede atribuirse a varios factores que se agrupan en transoperatorios y posoperatorios.

Dentro de los primeros se encuentra el factor presión intraocular. Uno de los pasos decisivos en esta técnica quirúrgica es la succión. El anillo de succión realiza tres funciones: fijación del globo, elevación de la presión intraocular para hacer posible una queratectomía de espesor uniforme y un riel para guiar el desplazamiento de la cabeza del microquerátomo.^{72,74} Para la realización de un corte altamente satisfactorio, la presión intraocular debe alcanzar los 65 mmHg o valores superiores.⁹²

La hidratación de la córnea es el resultado de la presión de hidratación estromal, la función de barrera del epitelio y endotelio, la bomba endotelial, la evaporación del film lagrimal y la presión intraocular. La tendencia a edematizarse de una córnea se debe a la resultante entre la presión de edema, es decir, la tendencia a retener agua por el estroma debido a las cargas negativas de glucosalinos, fenómeno que se ve contrarrestado por el aumento

de la presión intraocular.^{31, 93} El aumento transitorio de este parámetro durante el LASIK, hace que exceda la presión de edema y se produzca imbibición de agua desde el humor acuoso. El factor presión favorece la aparición de edema epitelial transquirúrgico subclínico que se mantiene en la primera etapa del posoperatorio y coadyuva al aumento de grosor epitelial.

Posterior al proceso de succión, durante el LASIK con microquerátomo pendular, al formarse el colgajo, se produce el corte del epitelio corneal casi en la totalidad del perímetro circular, excepto a nivel de la bisagra. Este corte produce una herida epitelial regular y curvilínea; posteriormente, al recolocar el colgajo a su posición original, los bordes epiteliales afrontan entre sí.^{72, 82, 94,}

95

Como ocurre con otros epitelios planos estratificados, las células se encuentran conectadas por prolongaciones interdigitadas unidas por desmosomas. Como es una lesión menor las células epiteliales vecinas por deslizamiento llenan el defecto.⁹⁶

Durante la técnica quirúrgica se realiza el secado de este borde durante dos minutos, lo que garantiza el inicio del proceso de reparación. El epitelio es un denso entramado intercelular que le permite resistir a esta noxa sin cicatrizar con una elevada capacidad de regeneración. A las 24 horas del proceder, en el primer examen clínico y biomicroscópico posoperatorio, a pesar de que el epitelio fue seccionado, el paciente no presenta signos o síntomas de causa epitelial, lo que justifica que no existen áreas con ausencia del mismo.

El proceso de corte de cualquier tejido, en este caso con una cuchilla insertada en el microquerátomo pendular, desencadena respuesta celular local con el

consiguiente edema de origen inflamatorio. A las 24 horas posteriores a LASIK, se ha documentado adhesión y extravasación de leucocitos en los vasos conjuntivales, lo que corresponde con las recientes observaciones en humanos.⁹⁷ Cerca del limbo, estas células inflamatorias se organizan en largas hileras indicando migración direccional a lo largo de la incisión con el microquerátomo.⁹⁸ La dirección migracional y la acumulación de leucocitos próximos al corte del colgajo, sugieren que citoquinas proinflamatorias están presentes en esta región.⁹⁹

La localización del corte es periférica; sin embargo, el epitelio corneal se comporta como unidad anatómica y funcional. La respuesta a esta noxa se refleja en el tejido en su totalidad, por lo que el corte epitelial es otro de los factores transoperatorios que influyen en el aumento de grosor corneal posterior a LASIK.

La magnitud de la ametropía tratada condiciona de forma proporcional directa la profundidad de la ablación y el tiempo de tratamiento con Láser Excímer, según la fórmula de Munnerlyn: $T = S^2D/3$, donde T corresponde a la profundidad de la ablación central (micras), S corresponde al diámetro de la zona óptica (mm) y D corresponde a la magnitud de la ametropía a tratar (dioptrías). (Anexo 33)

El modelo teórico-matemático desarrollado por Huang simula la migración epitelial posterior a cirugía refractiva corneal con Láser, el mismo predice el grosor epitelial central después de la ablación miópica. Los cambios de grosor que se mantienen posteriormente, se deben a hiperplasia del tejido y han sido documentados hasta 7 años posteriores a LASIK.^{54,100}

Por otra parte varios estudios han señalado la influencia de esta hiperplasia epitelial en los cambios refractivos posteriores a LASIK.¹⁰¹⁻¹⁰³ El cambio de grosor epitelial entre el pre y posoperatorio afecta el poder refractivo del epitelio. El incremento del grosor epitelial central descrito en el vértice corneal, pudiera explicar la miopía descrita en periodos tempranos posteriores a LASIK.

54, 104-106

Un incremento de 10 μm de grosor epitelial resulta en una dioptría de regresión, factores mecánicos y terapéuticos controlan la hiperplasia epitelial.¹⁰⁷ Las modificaciones del epitelio corneal juegan un rol en el resultado refractivo final; sin embargo, se han producido cambios refractivos entre el mes y el año, cuando ya el grosor epitelial se encuentra estabilizado, por lo que pudiera pensarse que en la regresión miópica no solo influyen los cambios epiteliales.^{20, 108-110}

Otro factor influyente en esta variable es el farmacológico. Los colirios instilados (esteroides, sustitutos lagrimales y antibióticos), específicamente la prednisolona, el cloranfenicol y las lágrimas artificiales, llegan al film lagrimal pre-epitelial penetrando absolutamente a través del epitelio corneal por difusión simple⁹³, más aún si el fármaco utilizado es liposoluble, como la mayoría que se utilizan en este tipo de proceder.

El epitelio corneal constituye una capa continua de membranas plasmáticas debido a la unión de sus células por zónulas ocludens. Las drogas lipofílicas traspasan el epitelio con facilidad, ya que sus membranas plasmáticas están compuestas por fosfolípidos.⁹⁶ Debido a que el epitelio corneal posee más de las dos terceras partes de las membranas plasmáticas de la córnea, este es el

lugar de mayor depósito para drogas lipofílicas¹¹¹. Además, influye en el grosor epitelial la elevada frecuencia de aplicación de colirios en el primer mes de posoperatorio que refuerza el factor farmacológico, presente en la técnica LASIK, donde el epitelio está íntegro a las 24 horas del proceder.

Los mecanismos de regulación corneal posibilitan la córneohomeostasis¹¹² y por tanto la atenuación de las consecuencias producidas por los factores mencionados, fenómeno constatado por la disminución paulatina del grosor epitelial hasta el año de la operación con niveles similares a los del preoperatorio en LASIK. Además, los pacientes del actual estudio mantuvieron constante su agudeza visual sin corrección, independientemente de los cambios de grosor epitelial durante el posoperatorio, aspecto que evidencia la no influencia de estas modificaciones en el resultado visual.¹¹³

Posterior a LASEK, el epitelio corneal comienza un proceso de cicatrización durante siete días, momento en el que se retiran los lentes de contacto. La conservación del epitelio corneal y su reposición durante el transoperatorio con la mayor perfección posible en cuanto a regularidad de los bordes, ausencia de erosiones y aplicación del tiempo de alcohol mínimo necesario, influyen en una correcta y rápida cicatrización de los bordes que justifican la no variación de grosor epitelial al mes de la operación.

Las diferencias existentes entre los autores se deben fundamentalmente al modelo de microscopio confocal utilizado, sus lentes objetivos, resoluciones axiales y laterales, y distancias de trabajo, entre otros aspectos, los cuales influyen notablemente en el contraste de las imágenes, su resolución y posterior análisis. (Anexo 34)

En el actual estudio no existió regresión refractiva manifiesta debido a que la magnitud de la ametropía tratada no excedió las ocho dioptrías de ablación, y por tanto, el efecto del Láser Excímer, en el grosor epitelial, es menor y menos duradero que en estudios foráneos^{75, 114} donde se han realizado ablaciones de hasta 12 dioptrías, que indudablemente, tienen mayor efecto en el tejido corneal. (Anexo 35)

El epitelio basal que funcionalmente se caracteriza por la actividad mitótica y la consecuente renovación de estratos más superficiales, requiere de estudios que lo relacionen con la hiperplasia epitelial descrita. Hasta el momento no existe relación entre la densidad celular a este nivel y la magnitud del defecto refractivo tratado.¹¹⁵⁻¹¹⁷ La densidad del epitelio apical ha sido poco estudiada, los resultados obtenidos no difieren de los valores encontrados en pacientes normales, en estudios con igual tipo de microscopio confocal. Los estudios anteriores de estos estratos celulares epiteliales se han realizado en pacientes normales. (Anexo 36)

El estroma corneal es la subcapa donde más cambios se producen debido a que recibe de forma directa la acción del Láser Excímer. Es precisamente en el moldeamiento del estroma donde se logra la modificación de la curvatura corneal con vistas al resultado refractivo final del paciente.

La disminución de la paquimetría en el posoperatorio obedece a la pérdida del tejido estromal central que se produce con vistas a lograr el efecto refractivo deseado.¹¹⁸⁻¹²¹ La correlación directa negativa con la magnitud de la ametropía corresponde con lo expresado por Munnerlyn, en cuanto a profundidad de la ablación y su relación con esta variable.^{77, 83, 122-124}

Los resultados reflejan correlación entre la magnitud de la ametropía y grosor del colgajo, sin embargo, esta variable depende, fundamentalmente, de la velocidad de avance del microquerátomo, no depende de la magnitud del defecto refractivo.¹²⁵⁻¹²⁷ El conocimiento in vivo por microscopía confocal de los valores exactos de grosor del colgajo contribuyen de forma decisiva en los resultados del cirujano refractivo, colgajos demasiado delgados o gruesos se relacionan con complicaciones transoperatorias y/o posoperatorias del LASIK⁹⁴. El estudio morfométrico de su grosor aporta aspectos que pasan inadvertidos en biomicroscopía anterior del globo ocular, y constituye una variable de seguridad que influye en el grosor del lecho corneal residual.^{95, 128}

Los valores del lecho corneal residual son superiores a 300 μm en LASIK, y 400 μm en LASEK, valor protocolizado en Cuba con vistas a prevenir la seguridad del proceder y la ectasia corneal posterior a este tratamiento, una de las complicaciones más temidas de esta operación.^{81, 122-124} La microscopía confocal de la córnea permite la medición óptima de esta variable, con mayor exactitud que los métodos ultrasónicos, su seguimiento y comprobación de estabilidad en el tiempo.

La predicción del valor de paquimetría al año de cirugía refractiva corneal, a partir de la magnitud de la ametropía a tratar y de la paquimetría preoperatoria medida por microscopía, posibilitan una selección óptima de los pacientes candidatos a esta operación, factor determinante en el éxito quirúrgico de estos procedimientos y en su seguridad a largo plazo. Además, la obtención de este valor paquimétrico con un año de antelación, asegura una paquimetría óptima futura posterior a tratamiento, incluso la posibilidad de un nuevo tratamiento refractivo de ser necesario. Por otra parte, el conocimiento de esta variable a partir de la

paquimetría in vivo preoperatoria, influye en la selección del tipo de tratamiento a utilizar¹²⁹, donde la elección de tratamiento con Láser de superficie pudiera garantizar mayor paquimetría predictiva al año.¹³⁰

La disminución de la densidad de queratocitos durante el posoperatorio de LASIK, en las subcapas colgajo posterior y zona de retroablación anterior coincide con series de casos anteriores. Esta disminución a ambos lados del corte lamelar es consistente, aunque no comparable, con la zona acelular posterior a LASIK que es reportada en animales¹³¹ y humanos¹³². Erie obtuvo disminución de queratocitos en el estroma anterior, más rápida en el primer mes posterior a LASIK.¹³³

Existen varias teorías que intentan explicar tal hallazgo. Vesaluoma⁹⁰ sugiere que la denervación del colgajo puede ser uno de los factores, los nervios que inervan el colgajo son cortados, excepto a nivel de la bisagra por el microquerátomo.^{90,134} Observaciones de Müller¹³⁵ apuntan a la inervación individual de queratocitos y que la ausencia de influencia neurotrófica puede afectar los queratocitos más anteriores y disminuir su densidad.

Durante el LASIK, los nervios estromales superficiales son cortados en el margen del colgajo y los nervios del lecho estromal son expuestos a la fotoablación.¹³⁶ La profundidad de la ablación varía de acuerdo con la magnitud de la miopía. Ambos factores, el corte del colgajo y la ablación, contribuyen al daño de la inervación, que se desarrolla posteriormente a LASIK.^{118, 137, 138}

El factor apoptosis queratocitaria es otro de los que pudieran explicar esta disminución.^{57, 139, 140} En modelos experimentales de LASIK, las células mueren por apoptosis inducidas por citoquinas como interleuquina-1.¹⁴¹ Realmente, la

apoptosis celular se ha constatado a ambos lados del corte lamelar después de LASIK en ratones.¹⁴²⁻¹⁴⁴ Esta hipótesis no está totalmente confirmada. Primero, inmediatamente después de LASIK se observa una apoptosis queratocitaria pero la misma es regulada de forma inmediata, en segundo lugar, los queratocitos necesitan una señal específica para manifestar la apoptosis durante un largo periodo, porque este proceso es una reacción de tipo “todo o nada”. Es poco probable que exista una señal después de meses de realizada la operación, cuando ya la córnea no ha recibido ningún tipo de estímulo exterior y se encuentra en franco estado cicatrizal sin signos clínicos.^{41, 145}

Una pérdida de queratocitos posterior a PRK seguida de repoblación de queratocitos se ha demostrado en estudios histológicos en conejos.¹⁴⁶ Erie¹⁴⁵ plantea que los queratocitos en el preoperatorio en el estroma anterior fueron parcial o completamente removidos durante la ablación, y no fueron reconstituidos en el posoperatorio. Posterior a PRK, Erie¹⁴⁵ no obtiene asociación entre la reinervación corneal y la densidad de queratocitos.

Algunos investigadores muestran una proliferación de queratocitos posterior a PRK, que comienza al mes para alcanzar un pico a los tres meses y llegar a valores normales a los seis meses de la operación. También existen teorías de movimientos laterales y anteroposteriores de queratocitos que justifican el aumento en algunos estudios de la densidad en estroma medio y posterior.¹³ Se ha demostrado que, posterior a PRK, existe una disminución del 5% por año entre uno y tres años de posoperatorio.^{129, 147}

El factor fotoablativo puede influir en la pérdida de queratocitos en ambas técnicas quirúrgicas.⁶⁰ La fotoablación se produce, pues cada fotón de luz

ultravioleta de 193 nm posee 6,4 eV (electrón volt) lo cual es suficiente para separar las uniones carbono-carbono de 3,5 eV, es decir: que se basa en la ruptura de uniones moleculares del colágeno corneal, fibras entre las que se encuentran localizadas los queratocitos.^{78, 79}

Debido a que la energía de los fotones se concentra en un punto focal de una fina capa de tejido corneal, se produce una intensa liberación de energía y presión que eyecta, en forma perpendicular a la superficie, los fragmentos moleculares a una velocidad de aproximadamente 1500 m/s, generándose al mismo tiempo ondas de choque que generan un sonido característico. El pulso del Láser dura 15 ns, los tejidos son removidos casi sin dejar residuos, con un mínimo daño térmico (daño colateral del tejido circundante) obteniéndose superficies de ablación muy uniformes.^{1,148} Sin embargo, independientemente de esta selectividad ablativa, el efecto fotoacústico y/o fotoablativo pudieran influir en la disminución de estas células, o al menos, constituir una señal para el factor apoptosis.

Los queratocitos anteriores están sujetos a mucho estrés por la ablación del Láser Excímer y pueden convertirse prematuramente en queratocitos senescentes. Dawson¹⁴⁹ muestra que después de 6 meses de LASIK, los queratocitos migran y se convierten en quiescentes, formando zonas acelulares. En la fase temprana, los queratocitos son metabólicamente muy activos y participan en la respuesta a la cicatrización. Posteriormente, ellos retornan a su fenotipo normal quiescente, donde contienen un gran número de vacuolas.^{20, 109}

Conjuntamente con los factores fotoablativo, apoptótico y de denervación, los altos niveles de ascorbato en la córnea pueden ser afectados posteriormente al tratamiento con Láser Excímer. Los niveles de ácido ascórbico del epitelio corneal absorben la radiación ultravioleta y protegen las capas más profundas de la córnea y los queratocitos estromales, del daño de la radiación. La alteración de los niveles de ascorbato puede acelerar la muerte queratocitaria.¹⁵⁰

Por tanto la habilidad de los queratocitos para proteger la córnea de eventos como la radiación ultravioleta, entre otros, disminuye después del tratamiento con Láser Excímer, estas células están más propensas a daño permanente y a la muerte. El déficit de queratocitos resultante del daño estromal no es reconstituido por división celular o migración.^{24, 108, 151}

Las diferencias de densidad obtenida entre las subcapas estromales, están dadas, en primer lugar, por la variabilidad morfológica intrínseca del estroma corneal. Los queratocitos de la región anterior y media del estroma tienen algunas diferencias morfológicas, además producen diferente cantidad de queratán sulfato y dermatán sulfato.^{93, 152} Las primeras 100 µm del estroma corneal posteriores a la membrana de Bowman contienen, desde el punto de vista morfológico, distintas subpoblaciones de queratocitos¹⁵ con una apariencia granular y procesos de extensión celular citoplasmática.^{109, 153-155}

Estudios en humanos y conejos ilustran mayor densidad celular en el estroma anterior, comparado con el estroma posterior. En segundo lugar, el efecto fotoablativo en las subcapas colgajo anterior, retroablación posterior, estroma

posterior y predescemético es mínimo o inexistente, por lo que la disminución de queratocitos en estas subcapas es menor.^{68, 156, 157}

Las diferencias entre los autores pueden estar relacionadas con varios factores. En la precisión de la medición influyen parámetros ópticos del instrumento para grabar las imágenes del estromal corneal, como los métodos usados para identificar y contar células en estas imágenes. La densidad celular determinada en diferentes estudios con diferentes instrumentos puede ser comparada solamente, si los instrumentos comparados entre sí son calibrados.¹⁵⁸ Además, el núcleo del queratocito no puede ser distinguido de otros objetos con brillo y contraste similares.¹⁵⁶⁻¹⁵⁹ El programa identifica objetos brillantes y selecciona los que representen núcleos celulares, los criterios de selección del programa se basan en el estudio de córneas normales.⁹⁹ Evaluaciones previas estiman en córneas normales una variabilidad aproximada de 7,8 % interobservadores.^{109, 160, 161}

La correlación directa negativa entre la disminución de la densidad queratocitaria y la mayor magnitud de ametropía a tratar es evidente en ambas técnicas quirúrgicas. Mientras mayor es la profundidad de la ablación, mayor es la cantidad de tejido estromal removido y el factor fotoablativo es superior en tiempo de acción sobre el estroma corneal, con sus consecuencias morfométricas.

El factor tiempo de acción fotoablativo se relaciona con la frecuencia de aplicación de los disparos, específicamente con los cambios de hidratación del estroma corneal que ocurren con el tiempo. Los tratamientos más prolongados pueden afectar adversamente la hidratación tisular, la córnea pierde hidratación

a medida que avanza el tiempo de aplicación del Láser, por lo que más tejido corneal es removido, aspecto que justifica un mayor efecto fotoablativo sobre la población queratocitaria en mayores magnitudes de ametropías tratadas y por tanto influye en la disminución de la densidad de esta línea celular.^{109, 118, 166}

La significación clínica de esta pérdida gradual de queratocitos es desconocida, como también lo es la densidad necesaria de estas células para mantener la transparencia corneal.¹⁶⁰ Conocer este parámetro es importante para entender cómo es el comportamiento de estas células productoras del colágeno y los proteoglicanos necesarios para mantener el tejido; su deficiencia durante años pudiera afectar la transparencia y curvatura corneal, por tanto: la importancia de su estudio antes y después de intervenciones quirúrgicas corneales es un elemento que adquiere cada vez mayor relevancia.

Es un elemento de seguridad de la técnica quirúrgica aplicada, la no modificación de esta variable en subcapas más profundas del estroma que garantizan el mantenimiento de la salud corneal a largo plazo. La marcada disminución de la población queratocitaria en otros estudios a niveles profundos del estroma, se deben a la mayor magnitud de ametropías tratadas, con el consiguiente aumento de la profundidad de la ablación. (Anexo 37)

Si bien no se han reportado signos corneales y en la agudeza visual posoperatoria cuando existe disminución de la densidad queratocitaria, la menor influencia posible en la homeostasis estromal debe convertirse en premisa esencial de todo cirujano de defectos refractivos, con vistas a propiciar de por vida una óptima agudeza visual y función corneal, que depende entre otros factores, de la integridad estructural y funcional de la célula fundamental

del estroma corneal: el queratocito. Por lo que en pacientes con magnitudes de ametropías cercanas a ocho dioptrías, independientemente del valor de paquimetría corneal inicial, es prudente seleccionar un tratamiento de superficie con menor repercusión morfométrica en subcapas inferiores del estroma corneal.

Los valores de haze corneal obtenidos posterior a LASEK demuestran que, independientemente de la magnitud de la ametropía tratada en todos los casos, existe algún grado de haze en el estudio morfométrico, aunque no sea detectable al examen oftalmológico. La magnitud de la ametropía solo justifica, en parte, el grosor del haze, por lo que se reafirman los resultados de estudios que invocan otros factores de respuesta cicatrizal de los pacientes.^{25, 60, 167-169}

El Láser Excímer puede causar alteraciones a nivel endotelial. Se describen factores como el daño térmico y mecánico¹⁷⁰, las ondas de choque y el daño actínico por la luz ultravioleta.^{16, 52, 171}

En Láser de superficie no se reportan cambios en la densidad celular endotelial por microscopía confocal hasta un año después del tratamiento.¹⁷² No obstante, ablaciones superiores a las 130 µm en córneas de conejo han incrementado la permeabilidad endotelial resultando en alteraciones morfométricas. Otros estudios reportan disminución de la densidad celular endotelial después de queratectomía fototerapéutica a una profundidad de 150 µm, sugieren que la profundidad de la ablación de la córnea puede dañar las células endoteliales bajo determinadas circunstancias.^{169, 173, 174}

Posterior a queratotomía radial y queratectomía fotorefractiva un número de estudios coinciden en que no ocurren cambios significativos en la densidad

celular endotelial, igualmente permanecieron sin variaciones el coeficiente de variación y el porciento de hexagonalidad hasta dos años después de la operación.^{41, 108, 175, 176}

Otros autores reportan un pequeño incremento de la densidad celular al mes de la operación, con cambio significativo en el porciento de hexagonalidad en ablaciones de 160 μm de profundidad, plantean la no existencia de correlación entre la profundidad de la ablación y la pérdida endotelial.^{41, 175-179}

En ablaciones de superficie para la corrección de miopía moderada no aparece daño del endotelio corneal¹⁸⁰⁻¹⁸²; sin embargo, con LASIK se ablaiona más cercano al endotelio corneal, por lo que se evalúa con mayor frecuencia la influencia del mismo en el endotelio corneal.

Estudios más recientes demuestran pérdida celular endotelial en ablaciones profundas con Láser Excímer. Ablaciones ubicadas a 40 μm de la membrana de Descemet producen pérdida endotelial, y una ablación del 90 % de profundidad estromal altera la estructura del endotelio. (Anexo 38)

Las variaciones existentes entre diferentes autores con respecto al tema, se deben al gran diapasón de defectos refractivos tratados que generan respuestas morfométricas variables de acuerdo con la cantidad de micras ablacionadas, y por tanto, a la profundidad de la ablación. Igualmente, respetar el lecho corneal residual superior a 300 μm en LASIK y 400 μm en LASEK, atenúa el efecto del Láser Excímer en el endotelio corneal, ya que la ablación se realiza a menor profundidad. De ahí que en Cuba, donde se tiene en cuenta este parámetro de forma estricta, no existan cambios en el endotelio corneal. El perfeccionamiento y la optimización de los perfiles de ablación, así como los

límites de esta operación en cuanto a la reducción de la magnitud de los defectos refractivos tratados, coadyuva a realizar ablaciones menores a 100 μm y mantener la homeostasis endotelial.

En general, el patrón de invasión posoperatoria obtenido es similar al reportado por Linna y asociados.⁸⁹ Lee y colaboradores encontraron que a un año de LASIK, el número de fibras del plexo nervioso subbasal permanece menor que antes de LASIK.¹⁸³ Igualmente, varios autores consideran que la recuperación normal del plexo nervioso ocurre a los dos años de LASIK.^{89,133, 184, 185}

El examen de la regeneración del plexo nervioso subbasal muestra que, primeramente, la regeneración de las fibras aparece como pequeñas fibras subbasales. Los nervios que son visibles después de LASIK tempranamente pudieran ser los que entran a través de la bisagra, que han permanecido intactos. Posteriormente, durante tres meses se van elongando, pero las interconexiones no se observan antes del sexto mes del posoperatorio.^{48, 52, 184}

La recuperación morfológica de la invasión corneal puede tardar más de un año después de LASIK¹⁸⁵. La reinervación comienza desde los márgenes de la zona de ablación hacia el centro.¹³³ Este hallazgo explica la gran disminución de la sensibilidad en la hipermetropía y el mayor tiempo de recuperación de este parámetro.^{112, 183, 186}

La ausencia de corte lamelar influye en que, posterior a LASEK, se recuperen de forma más rápida las características preoperatorias del plexo nervioso subbasal, y esta recuperación es total al año de la operación.^{88, 89, 109, 173} La profundidad de la ablación, la cantidad de tejido removido en el estroma y la

profundidad de daño a los nervios estromales se encuentran estrechamente relacionados.^{187, 188} La reinervación en córneas indica que la innervación epitelial es restaurada, solo si existe una mínima regeneración neural en el estroma.^{50, 63, 161, 187, 189, 190}

Estudios donde se correlacionan estos hallazgos y la sensibilidad corneal medida por el anesthesiómetro de Cochet-Bonnet, sugieren que las córneas sin imágenes de nervios o nervios cortos, y las fibras sin interconexiones en la región subbasal están asociados a menores niveles de sensibilidad corneal, que las córneas con fibras largas con interconexiones o sin ellas.^{54, 191} La sensibilidad corneal normal es esencial para mantener la estructura y función óptimas de la córnea.⁴⁹ La innervación corneal provee protección importante, funciones tróficas y su reducción puede resultar en daño corneal. La secreción lagrimal normal, que puede estar afectada por la hipoestesia corneal, es esencial para un buen funcionamiento de la superficie corneal, y por tanto, para una función visual óptima.^{161, 183, 191-193}

La diferencia entre algunos autores en cuanto al tiempo de recuperación de la sensibilidad corneal, está relacionada con dos factores: las variaciones entre los grupos de estudio y en la definición de recuperación de sensibilidad corneal. La completa recuperación de la sensibilidad corneal, definitivamente, es un proceso más largo, que lo que llamamos sensibilidad corneal normal.

Existen varios estudios para cuantificar los parámetros del plexo nervioso subbasal.^{50, 194} La cuantificación puede resultar difícil, ya que su número es pequeño y puede estar en cortes consecutivos de la sección óptica. La manera en la cual la densidad es definida, varía de un médico a otro. La mayoría de los

estudios definen densidad subbasal como el total de nervios visibles en un área ($\mu\text{m}/\text{mm}^2$ o mm/mm^2), pero algunos estudios solo incluyen nervios mayores de 50 μm en sus mediciones. Otros, solo analizan el total de nervios en un corte, pero las definiciones varían de número y longitud de los nervios. Los reportes de la densidad de nervios subbasales dependen del tipo de microscopio usado, ya que hay variación de contraste entre los mismos y los nervios son más visibles.^{184, 192, 195, 196}

Por estas causas, existen variaciones comparando diferentes estudios cuantitativos, de ahí que este análisis no fue incluido en el actual estudio. El análisis cualitativo es el más cercano a la evolución morfológica del plexo; no obstante, debido a la variación de la profundidad de campo, resultados falsos negativos pueden obtenerse en el estudio del plexo por microscopía confocal. La imagen del plexo es oblicua, y las fibras largas pueden ser consideradas falsamente como cortas. Los micropliegues de la membrana de Bowman, hallazgos posteriores a LASIK, interfieren con la visualización de los nervios y contribuyen al riesgo de considerar largas las fibras que realmente son cortas.^{64, 133, 135, 173, 189, 190}

CONCLUSIONES.

- En pacientes con ametropías que reciben tratamiento con Láser Excímer se generan modificaciones morfométricas en el grosor epitelial, paquimetría, densidad de queratocitos, grosor del haze corneal y plexo nervioso subbasal.
- La microscopía confocal de los pacientes operados con Láser Excímer, permite constatar modificaciones de variables morfométricas corneales que se relacionan de forma directa con la magnitud de la ametropía a tratar. En la técnica LASIK es mayor el grosor epitelial y menores la paquimetría y la densidad de queratocitos a ambos lados del corte lamelar; en el LASEK es menor la paquimetría y la densidad de queratocitos en el estroma anterior, y mayor el grosor del haze corneal.
- Los modelos predictivos obtenidos revelan que las variaciones de las variables morfométricas, al año del tratamiento, dependen en gran medida de sus valores preoperatorios y de la magnitud de la ametropía a tratar.
- Los modelos predictivos constituyen herramientas a tener en cuenta como criterios de selección de pacientes candidatos a cirugía refractiva con Láser Excímer, así como la elección óptima de la técnica quirúrgica, con vistas a atenuar las modificaciones morfométricas corneales posteriores a este tratamiento, y por tanto, elevar el éxito quirúrgico a largo plazo de esta novedosa tecnología.

RECOMENDACIONES

- Incluir y perfeccionar el análisis de otras variables morfométricas, posterior a tratamiento con Láser Excímer.
- Continuar el estudio a largo plazo de variables morfométricas corneales en ambas técnicas quirúrgicas.
- Realizar el estudio morfométrico corneal en pacientes con regresión del defecto refractivo, operados de queratotomía radial y en ectasias corneales.
- Incorporar la microscopía confocal de la córnea en el Protocolo de estudio y seguimiento de pacientes operados de ametropías en Cuba.
- Incluir los modelos de regresión obtenidos en el análisis que se realiza en consulta para la selección de pacientes candidatos a tratamiento con Láser Excímer.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Palanker DV, Bumenkranz MS, Marmor MF. Fifty years of ophthalmic laser therapy. *Arch Ophthalmol*. 2011;129(12):1613-19.
2. Kato N, Toda I, Hori-Komai Y, Sakai C, Tsubota K. Five year outcome of LASIK for myopia. *Ophthalmology*. 2008;115(5):839-44.
3. Vanathi M, Tandon R, Sharma N, Titiyal JS, Pandey RM, Vajpayee RB. In-vivo slit scanning confocal microscopy of normal corneas in Indian eyes. *Indian J Ophthalmol*. 2003;51(3):225–30.
4. Zhang H, Xu L, Chen C, Jonas JB. Central corneal thickness in adult Chinese. Association with ocular and general parameters. The Beijing Eye Study. *Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2008;246(4):587-92.
5. Ku JY, Niederer RL, Patel DV, Sherwin T, McGhee CN. Laser scanning in vivo confocal analysis of keratocyte density in keratoconus. *Ophthalmology*. 2008;115(5):845-50.
6. Alió JL, Ortiz D, Muftuoglu O, García MJ. Ten years after photorefractive keratectomy (PRK) and laser in situ keratomileusis (LASIK) for moderate to high myopia (control-matched study). *Br J Ophthalmol*. 2009;93(10):1313-18.
7. Moilanen JAO, Holopainen J, Vesaluoma MH, Tervo T. Corneal recovery after LASIK for high myopia: a 2-year prospective confocal microscopic study. *Br J Ophthalmol*. 2008;92(10):1397-1402.
8. Torres RJ, Jones E, Edmunds B, Becker T, Cioffi G, Mansberger S. Central corneal thickness in Northwestern American Indians/Alaskan Natives and comparison with white and African-American persons. *Am J Ophthalmol*. 2008;146 (5):747-51.

9. Curbelo L, Hernández JR, Machado E, Padilla C, Ramos M, Torres M, et al. Frecuencia de ametropías. *Rev Cub Oftalmol*. 2005;18(1).
10. Martínez R, Iviricu R, Correa O, Blanco A, Acosta L. Frecuencia de ametropías diagnosticadas en consulta de cirugía refractiva. *Rev CIGET Pinar del Río*. 2008;10(3).
11. Tomita M, Kanamori T, Waring GO, Yukawa S, Yamamoto T, Sekiya K, et al. Simultaneous corneal inlay implantation and laser in situ keratomileusis for presbyopia in patients with hyperopia, myopia, or emmetropia: Six-month results. *J Cataract & Refract Surg*. 2012;38(3):495-506.
12. Christopoulos V, Kagemann L, Wollstein G, Ishikawa H, Gabriele M, Wojtkowski M, et al. In vivo corneal high-speed, ultra-high-resolution optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol*. 2007;125(8):1027-35.
13. Alió JL. Laser refractive surgery: have we arrived? *Br J Ophthalmol*. 2012;96(9):1159.
14. Winkler C, Khoramnia R, Salgado J, Wullner C, Donitzky C, Mathias M, et al. First clinical results with a new 200 kHz femtosecond laser system . *Br J Ophthalmol*. 2012;96(6):788-92.
15. Miri A, Alomar T, Nubile M, Al-Agaba M, Lanzini M, Fares U, et al. In vivo confocal microscopic findings in patients with limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(4):523-29.
16. Zhivov A, Guthoff RF, Stachs O. In vivo confocal microscopy of the ocular surface: from bench to bedside and back again. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(12):1557-58.
17. Erie JC, McLaren JW, Patel SV. Confocal microscopy in ophthalmology. *Am J Ophthalmol*. 2009;148(5):639-46.

18. Miri A, Al-Agaba M, Muneer A, Fares U, Said D, Faraj LA, et al. In vivo confocal microscopic features of normal limbus. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(4):530-36.
19. Tavakoli M, Hossain P, Malik RA. Clinical applications of corneal confocal microscopy. *Clinical Ophthalmology*. 2008;2(2):435-45.
20. Zhivov A, Stachs O, Stave J, Guthoff RF. In vivo three-dimensional confocal laser scanning microscopy of corneal surface and epithelium. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(5):667-72.
21. Villani E, Galimberti D, Viola F, Ratiglia R. In vivo confocal microscopy of the ocular surface. *Am J Ophthalmol*. 2010;149(4):689-90.
22. Kobayashi A, Mawatari Y, Yokogawa H, Sugiyama K. In vivo laser confocal microscopy after descemet stripping with automated endothelial keratoplasty. *Am J Ophthalmol*. 2008;145(6):977-85.
23. Guthoff RF, Zhivov A, Stachs O. In vivo confocal microscopy, an inner vision of the cornea - a major review. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2009;37(1):100-17.
24. Petroll WM, Cavanagh HD. Remote-Controlled scanning and automated confocal microscopy through-focusing using a modified HRT Rostock Corneal Module. *Eye Contact Lens*. 2009;35(6):302-08.
25. Javaloy J, Vidal MT, Ruiz JM, Alió JL. Microscopía confocal de la córnea en la cirugía foforrefractiva. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2005;80(9):497-509.
26. Ramírez M, Martínez Y, Naranjo R. Hallazgos mediante microscopía confocal en pacientes postoperados de LASIK tratados con antiinflamatorios no esteroideos (AINES). *Rev Mex Oftalmol*. 2008;82(6):349-51.

27. Nubile M, Mastropasqua L. In vivo confocal microscopy of the ocular surface: where are we now? *Br J Ophthalmol* 2009;93(7):850-52.
28. Reynolds A, Moore JE, Naroo SA, Moore T, Shah S. Excimer laser surface ablation - a review. *Clin & Experiment Ophthalmol*. 2010;38(2):168-82.
29. Reinstein DZ, Threlfall WB, Cook R, Cremonesi E, Sutton H, Archer T, et al. Short term LASIK outcomes using the Technolas 217C excimer laser and Hansatome microkeratome in 46 708 eyes treated between 1998 and 2001. *Br J Ophthalmol*. 2012; 96(9):1173-79.
30. Mastropasqua L, Nubile M, Lanzini M, Carpineto P, Ciancaglini M, Pannellini T, et al. Epithelial dendritic cell distribution in normal and inflamed human cornea: in vivo confocal microscopy study. *Am J Ophthalmol*. 2006;142(5):736-44.
31. Nishida T. The cornea: stasis and dynamics. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi*. 2008;112(3):179-212.
32. Sherwin T. Corneal epithelial homeostasis. *Ophthalmology*. 2010;117:190-91.
33. Reichard M, Hovakimyan M, Wree A, Meyer A, Nolte I, Junghans C. Comparative in vivo confocal microscopical study of the cornea anatomy of different laboratory animals. *Curr Eye Res*. 2010;35(12):1072-80.
34. DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(3):588-98.
35. Mootha V, Dawson D, Kumar A, Gleiser J, Qualls C, Albert DM. Slitlamp, specular, and light microscopic findings of human donor corneas after

- laser-assisted in situ keratomileusis. *Arch Ophthalmol*. 2004;122(5):686-92.
36. Ivarsen A, Fledelius W, Hjortdal J. Three-year changes in epithelial and stromal thickness after PRK or LASIK for high myopia. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2009;50(5):2061-66.
 37. Dvorscak L, Marfurt C. Age-related changes in rat corneal epithelial nerve density. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(3):910-16.
 38. Pérez-Gómez I, Efron N. Change to corneal morphology after refractive surgery (myopic in situ keratomileusis) as viewed with a confocal microscope. *Optom Vis Sci*. 2003;80(10):690-97.
 39. Cruzat A, Zheng L, Hamrah P. In vivo confocal microscopy study of epithelial dendritic cells and subbasal nerve plexus in infectious keratitis. 26th Biennial Cornea Conference Abstracts 2009;Boston, MA.
 40. Deng SX, Seipal KD, Tang Q, Aldave AJ, Lee O, Yu F. Characterization of limbal stem cell deficiency by in vivo laser scanning confocal microscopy: a microstructural approach. *Arch Ophthalmol*. 2012;130(4):440-45.
 41. Masters BR, Böhnke M. Three-dimensional confocal microscopy of the living human eye. *Annu Rev Biomed Eng*. 2002;4:69-91.
 42. Patel DV, Sherwin T, McGhee CH. Laser scanning in vivo confocal microscopy of the normal human corneoscleral limbus. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2006;47(7):2823-27.
 43. Barbaro V, Ferrari S, Fasolo A, Pedrotti E, Marchini G, Sbabo A, et al. Evaluation of ocular surface disorders: a new diagnostic tool based on impression cytology and confocal laser scanning microscopy. *Br J Ophthalmol* 2010;94(7):926-32.

44. Ehlers N, Heegaard S, Hjortdal J, Ivarsen A, Nielsen K, Prause JU. Morphological evaluation of normal human corneal epithelium. *Acta Ophthalmology*. 2010;88(8):858-61.
45. Ivarsen A, Laurberg T, Møller-Pedersen T. Characterisation of corneal fibrotic wound repair at the LASIK flap margin. *Br J Ophthalmol*. 2003;87(10):1272-78.
46. Kobayashi A. In vivo laser confocal microscopic analysis of the interface between Bowman's layer and the stroma of the cornea. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi*. 2008;112:947-52.
47. Scarpa F, Zheng X, Ohashi Y, Ruggeri A. Automatic evaluation of corneal nerve tortuosity in images from in vivo confocal microscopy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2011;52(9):6404-08.
48. Zhivov A, Blum M, Guthoff R, Stachs O. Real-time mapping of the subepithelial nerve plexus by in vivo confocal laser scanning microscopy. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(9):1133-35.
49. Allgeier S, Zhivov A, Eberle F, Koehler B, Maier S, Bretthauer G, et al. Image reconstruction of the subbasal nerve plexus within vivo confocal microscopy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2011;52(9):5022-28.
50. Patel SV, McLaren JW, Kittleson KM, Bourne WM. Subbasal nerve density and corneal sensitivity after laser in situ keratomileusis femtosecond laser vs mechanical microkeratome. *Arch Ophthalmol*. 2010;128(11):1413-19.
51. Erie EA, McLaren JW, Kittleson KM, Patel SV, Erie JC, Bourne W. Corneal subbasal nerve density: A comparison of two confocal microscopes. *Eye Contact Lens*. 2008;34(6):322-25.

52. Cruzat A, Pavan-Langston D, Hamrah P. In vivo confocal microscopy of corneal nerves: analysis and clinical correlation. *Semin Ophthalmol.* 2010;25(5):171-77.
53. Grupcheva CN, Wong T, Riley AF, McGhee CN. Assessing the sub-basal nerve plexus of the living healthy human cornea by in vivo confocal microscopy. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2002;30(3):187-90.
54. Esquenazi S, He J, Li N, Bazan NG, Esquenazi I, Bazan HE. Comparative in vivo high-resolution confocal microscopy of corneal epithelium, sub-basal nerves and stromal cells in mice with and without dry eye after photorefractive keratectomy. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2007;35(6):545-49.
55. Pacheco C, Baca O, Velasco R. Reinervación corneal y dinámica de queratocitos posterior a queratoplastía penetrante. Reporte de casos. *Rev Mex Oftalmol.* 2008;82(4):263-66.
56. Patel DV, McGhee CN. In vivo laser scanning confocal microscopy confirms that the human corneal sub-basal nerve plexus is a highly dynamic structure. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(8):3409-12.
57. Mimura T, Amano S, Yokoo S, Uchida S, Usui T, Yamagami S. Isolation and distribution of rabbit keratocyte precursors. *Mol Vis.* 2008;14:197-203.
58. Weaving L, Mihelec M, Storen R, Sosic D, Grigg JR, Patrick PL, et al. Twist2: Role in corneal stromal keratocyte proliferation and corneal thickness. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2010;51(11):5561-70.
59. Javadi M, Mozhgan K, Manijeh M, Mehdi Y, Hosein R, Atefeh J, et al. Comparison of keratocyte density between keratoconus, post-laser in situ

- keratomileusis keratectasia, and uncomplicated post-laser in situ keratomileusis cases. A confocal scan study. *Cornea*. 2009;28(7):774-79.
60. Argento C, Croxatt JO. Evaluación de la celularidad estromal corneal mediante microscopía confocal en LASEK con Mitomicina. *Oftalmol Clin Exp*. 2007;35(1):14-20.
 61. Niederer RL, McGhee CN. Clinical in vivo confocal microscopy of the human cornea in health and disease. *Prog Retin Eye Res*. 2010;29(1):30-58.
 62. Zhao Ch, Lu S, Tajouri N, Dosso A, Safran A. In vivo confocal laser scanning microscopy of corneal nerves in leprosy. *Arch Ophthalmol*. 2008;126(2):282-84.
 63. Marfurt CF, Deek S, Dvorscak L. Anatomy of the human corneal innervation. *Exp Eye Res*. 2010;90:478-92.
 64. Al-Faky Y, Bosley T, Turki T, Salih M, Abu-Amero K, Alsuhaibani A. Prominent corneal nerves: a novel sign of lipid proteinosis. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(7):935-40.
 65. Al-Aqaba MA, Fares U, Suleman H, Lowe J, Dua HS. Architecture and distribution of human corneal nerves. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(6):784-89.
 66. Karagianni N, Fukuoka S. Analysis of corneal nerve regeneration following deep vs. superficial injury. *ARVO Meeting Abstracts*. 2010;51:392.
 67. Jiucheng H, Bazan N, Bazan H. Mapping the entire human corneal nerve architecture. *Exp Eye Res*. 2010;91(4):513-23.
 68. Patel SV, Bourne W. Corneal endothelial cell loss 9 years after excimer laser keratorefractive surgery. *Arch Ophthalmol*. 2009;127(11):1423-27.

69. Lagali N, Dellby A, Fagerholm P. In vivo confocal microscopy of the cornea in Darier-White disease. *Arch Ophthalmol*. 2009;127(6):816-18.
70. Lautebach S, Funk J, Reinhard T, Pache M. Steroid glaucoma after laser in situ keratomileusis. *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 2007; 224(5):438-40.
71. Wang TJ, Lin Y, Chang D, Chou HCH, Wang IJ. Comparison of the effects of cylindrical correction with and without iris recognition technology in wavefront laser-assisted in situ keratomileusis. *Clin Exper Ophthalmol*. 2012;40(3):239-46.
72. Piñero D, Pérez R, Gómez A, Blanes F, Alzamora A. Results of laser in situ keratomileusis performed using solid-state laser technology. *J Cataract Refract Surg*. 2012;38(3):437-44.
73. Muñoz G, Albarrán C, Ferrer T, Javaloy J, García S. Single versus double femtosecond laser pass for incomplete laser in situ keratomileusis flap in contralateral eyes: Visual and optical outcomes. *J Cataract Refract Surg*. 2012;38(1):8-15.
74. Schumacher S, Seiler T, Cummings A, Maus M, Mrochen M. Optical ray tracing-guided laser in situ keratomileusis for moderate to high myopic astigmatism. *J Cataract Refract Surg*. 2012;38(1):28-34.
75. Sutton GL, Kim P. Laser in situ keratomileusis in 2010 - a review. *Clin Exper Ophthalmol*. 2010;38(2):192-210.
76. Fares U, Suleman H, Al-Aqaba MA, Muneer A, Said DG, Dua HS. Efficacy, predictability, and safety of wavefront-guided refractive laser treatment: Metaanalysis. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(8):1465-75.

77. Dirani M, Couper T, Yau J, Islam A, Snibson GR, Vajpayee RB, et al. Long-term refractive outcomes and stability after excimer laser surgery for myopia. *J Cataract Refract Surg*. 2010;36(10):1709-17.
78. Labiris G, Sideroudi H, Giarmoukakis A, Koukoura S, Pagonis G, Kozovolis V. Evaluation of the difference between intended and measured ablation and its impact on refractive outcomes of the wavefront optimize profile and the S001 Wellington nomogram in myopic spherocylindrical corrections. *Clin Exper Ophthalmol*. 2012;40(2):127–33.
79. Keefe M, Kirwa C. Laser epithelial keratomileusis in 2010 – a review. *Clin Exper Ophthalmol*. 2010;38(2):183-91.
80. Khoramnia R, Lohmann C, Wuellner C, Kobuch KA, Donitzky C, Winkler C. Effect of 3 excimer laser ablation frequencies (200 Hz, 500 Hz, 1000 Hz) on the cornea using a 1000 Hz scanning-spot excimer laser. *J Cataract Refract Surg*. 2010;36(8):1385-91.
81. de Benito-Llopis L, Alió J, Ortiz D, Teus MA, Artola A. Ten-year follow-up of excimer laser surface ablation for myopia in thin corneas. *Am J Ophthalmol*. 2009;147(5):768-73.
82. Zhang ZH, Jin H, Suo Y, Patel SV, Montés-Micó R, Manche E, et al. Femtosecond laser versus mechanical microkeratome laser in situ keratomileusis for myopia: Metaanalysis of randomized controlled trials. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(12):2151-59.
83. de Medeiros FW, Sinha A, Alves MR, Wilson SE, Dupps WJ. Differences in the early biomechanical effects of hyperopic and myopic laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg*. 2010;36(6):947-53.

84. Alió JL, Muftuoglu O, Ortiz D, Pérez-Santonja JJ, Artola A, Ayala MJ, et al. Ten-Year follow-up of laser in situ keratomileusis for myopia of up to -10 diopters. *Am J Ophthalmol.* 2008;145(1):46-54.
85. Twa M, Lembach R, Bullimore M, Roberts C. A prospective randomized clinical trial of laser in situ keratomileusis with two different lasers. *Am J Ophthalmol.* 2005;140(2):173-83.
86. Alió JL, Vega A, Piñero D. Laser-assisted in situ keratomileusis in high levels of myopia with the Amaris excimer laser using optimized aspherical profiles. *Am J Ophthalmol.* 2011;152(6):954-63.
87. Lombardo M, Lombardo G, Ducoli P, Serrao S. Long-term changes of the anterior corneal topography after photorefractive keratectomy for myopia and myopic astigmatism. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011;52(9):6994-00.
88. Seung JL, Kim J, Yul K, Kim E, Lee H. Comparison of corneal nerve regeneration and sensitivity between LASIK and laser epithelial keratomileusis (LASEK). *Am J Ophthalmol.* 2006;141(6):1009-15.
89. Linna TU, Vesaluoma M, Pérez-Santonja JJ, Petrol WM, Alió JL, Tervo TT. Effect of myopic LASIK on corneal sensitivity and morphology of subbasal nerves. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2000;41(2):393-97.
90. Vesaluoma M, Pérez-Santonja J, Petrol WM, Linna T, Alió J, Tervo T. Corneal stromal changes induced by myopic LASIK. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2000;41(2):369-76.
91. Fraunfelder F, Steven W. Laser in situ keratomileusis versus photorefractive keratectomy in the correction of myopic astigmatism. *Cornea* 2001;20(4):385-87.

92. Andrew SH, Loon S. Intraocular pressure assessment after laser in situ keratomileusis: a review. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2012;40(3):295-304.
93. Morishige N, Takahashi N, Chikamoto N, Nishida T. Quantitative evaluation of corneal epithelial edema by confocal microscopy. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2009; 37(3):249-53.
94. Paschalis E, Labiris G, Aristeidou AP, Foudoulakis NC, Koukoulou SC, Kozobolis VP. Laser in situ keratomileusis flap-thickness predictability with a pendular microkeratome. *J Cataract Refract Surg.* 2011;37(12):2160-66.
95. Du S, Jingcai L, Zhang L, Ye S, Dong S. Flap thickness variation with 3 types of microkeratome heads. *J Cataract Refract Surg.* 2011;37(1):144-48.
96. Del Monte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg.* 2011;37(3):588-98.
97. Wilson SE, Mohan R, Ambrosio R, Hong H, Lee J. The corneal wound healing response:cytokine mediated interaction of the epithelium, stroma and inflammatory cells. *Prog Retin Eye Res.* 2001;20(5):625-37.
98. Dawson D, Holley G, Geroski DH, Waring GO, Grossniklaus HE, Edelhauser HE. Ex vivo confocal microscopy of human LASIK corneas with histologic and ultrastructural correlation. *Ophthalmology.* 2005;112(4):634-44.
99. Dawson DG, Edelhauser H, Grossshiklaus HE. Long term histopathologic findings in human corneal wounds after refractive surgical procedures. *Am J Ophthalmol.* 2005;139(1):168-76.

100. Wilson SE. Laser in situ keratomileusis-induced (presumed) neurotrophic epitheliopathy. *Ophthalmology*. 2001; 108(6):1082-87.
101. Erie JC, Patel SV, McLaren JW, Ramírez M, Hodge DO, Maguire LJ, et al. Effect of myopic laser in situ keratomileusis on epithelial and stromal thickness: a confocal microscopy study. *Ophthalmology*. 2002;109(8):1447-52.
102. Wang J, Thomas J, Cox I, Rollins A. Noncontact measurements of central corneal epithelial and flap thickness after laser in situ keratomileusis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45(6):1812-16.
103. Flanagan GW, Binder PS. The theoretical vs measured laser resection for laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg*. 2005;21(1):18-27.
104. Anderson NJ, Edelhauser H, Sharara N, Thompson KP, Rubinfeld RS, Devaney DM, et al. Histologic and ultrastructural findings in human corneas after successful laser in situ keratomileusis. *Arch Ophthalmol*. 2002;120(3):288-93.
105. Llovet F. Calidad visual en LASIK hipermetrópico. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid; 2008.
106. Chang P, Chang S, Wang J. Assessment of corneal biomechanical properties and intraocular pressure with the Ocular Response Analyzer in childhood myopia. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(7):877-81.
107. Ivarsen A, Moller T. LASIK induces minimal regrowth and no haze development in rabbit corneas. *Curr Eye Res*. 2003;30(5):363-73.
108. Li J, Wang Y. Characteristics of straylight in normal young myopic eyes and changes before and after LASIK. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2011;52(6):3069-73.

109. Patel SV, Erie JC, McLaren JW, Bourne WM. Confocal microscopy changes in epithelial and stromal thickness up to 7 years after LASIK and photorefractive keratectomy for myopia. *J Refract Surg.* 2007;23(4):385-92.
110. Chen WL, Chang H, Hu FR. In vivo confocal microscopic evaluation of corneal wound healing after Epi-LASIK. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(6):2416–23.
111. Reinstein DZ, Archer TJ, Gobbe M, Silverman RH, Coleman DJ. Epithelial thickness after hyperopic LASIK: three dimensional display with Artemis very high frequency digital ultrasound. *J Refract Surg.* 2010;26(8):555-64.
112. Morán G. Estudio de los cambios morfológicos del epitelio corneal en un modelo animal de ojo seco. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona; 2006.
113. Spadea L, Fasciani R, Necozone S, Balestrazzi E. Role of the corneal epithelium in refractive changes following laser in situ keratomileusis for high myopia. *J Refract Surg.* 2000;16(2):133-39.
114. Taeck S, Woong J, Joong J, Won S. Clinical outcomes of epi-LASIK: 1-year results of on- and off-flap procedures with and without mitomycin-C. *Br J Ophthalmol.* 2010;94(5):592-96.
115. Popper M, Morgado AM, Quadrado MJ, Van Best JA. Corneal cell density measurement in vivo by scanning slit confocal microscopy: method and validation. *Ophthalmic Res.* 2004;36(5):270-76.
116. Harrison DA, Joos C, Ambrosio R. Morphology of corneal basal epithelial cells by in vivo slit-scanning confocal microscopy. *Cornea* 2003;22(3):246-48.

117. Chen Y, Chen JT, Lu DW, Tai M. In vivo corneal confocal microscopic findings and gene analysis of three patients with Thiel–Behnke corneal dystrophy. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(2):262-64.
118. Twa MD, Giese M. Assessment of corneal thickness and keratocyte density in a rabbit model of laser in situ keratomileusis using scanning laser confocal microscopy. *Am J Ophthalmol*. 2011;152(6):941-53.
119. Linke SJ, Steinberg J, Mau-Thek E, Gisbert R, Katz T. Relationship between minimum corneal thickness and refractive state, keratometry, age, sex, and left or right eye in refractive surgery candidates. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(12):2175-80.
120. Grewal DS, Gagandeep S, Grewal S. Assessment of central corneal thickness in normal, keratoconus, and post-laser in situ keratomileusis eyes using Scheimpflug imaging, spectral domain optical coherence tomography, and ultrasound pachymetry. *J Cataract Refract Surg*. 2010;36(6):954-64.
121. Dimasi DP, Burdon KP, Craig JE. The genetics of central corneal thickness. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(8):971-76.
122. Chan C, Hodge C, Sutton G. External analysis of the randleman ectasia risk factor score system: a review of 36 cases of post LASIK ectasia. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2010;38(4):335-40.
123. Randleman JB, Trattler WB, Stulting RD. Validation of the ectasia risk score system for preoperative laser in situ keratomileusis screening. *Am J Ophthalmol*. 2008;145(5):813-18.

124. Salz JJ, Binder P. Is there a “magic number” to reduce the risk of ectasia after laser in situ keratomileusis and photorefractive keratectomy? *Am J Ophthalmol.* 2007;144(2):284-85.
125. Ahn H, Kook J, Kook C, Heon G, Yul K, Kim E, et al. Comparison of laser in situ keratomileusis flaps created by 3 femtosecond lasers and a microkeratome. *J Cataract Refract Surg.* 2011;37(2):349-57.
126. Rosas CH, Li Y, Zhang X, Tang M, Branco JL, Allemann N, et al. Repeatability of laser in situ keratomileusis flap thickness measurement by Fourier-domain optical coherence tomography. *J Cataract Refract Surg.* 2011;37(4):649-54.
127. Bansal AS, Doherty T, Randleman JB, Stulting RD. Influence of flap thickness on visual and refractive outcomes after laser in situ keratomileusis performed with a mechanical keratome. *J Cataract Refract Surg.* 2010;36(5):810-13.
128. Hall RC, Mohamed F, Htoon HM, Tan DT, Mehta JS. Laser in situ keratomileusis flap measurements: Comparison between observers and between spectral-domain and time-domain anterior segment optical coherence tomography. *J Cataract Refract Surg.* 2011;37(3):544-51.
129. Wallau AD, Campos M. One-year outcomes of a bilateral randomised prospective clinical trial comparing PRK with mitomycin C and LASIK. *Br J Ophthalmol.* 2009;93(12):1634-38.
130. Qazi MA, Sanderson J, Mahmoud AM, Yoon EY, Roberts CJ, Pepose JS. Postoperative changes in intraocular pressure and corneal biomechanical metrics: Laser in situ keratomileusis versus laser-assisted subepithelial keratectomy. *J of Cataract Refract Surg.* 2009;35(10):1774-88.

131. Ortiz D , Piñero D, Shabayek MH, Arnalich-Montiel F, Alió JL. Corneal biomechanical properties in normal, post-laser in situ keratomileusis, and keratoconic eyes. *Br J Ophthalmol.* 2007;33 (8):1371-75.
132. Taeck S, Woong J, Joong G, Won S. Clinical outcomes of epi-LASIK: 1-year results of on- and off-flap procedures with and without mitomycin-C. *Br J Ophthalmol.* 2010;94(5):592-96.
133. Erie JC, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. Recovery of corneal subbasal nerve density after PRK and LASIK. *Am J Ophthalmol.* 2005;140(6):1059-64.
134. Vesaluoma M, Petroll WM, Pérez JJ, Valle T, Alió JL, Tervo TM. Laser in situ keratomileusis flap margin: wound healing and complications imaged by in vivo confocal microscopy. *Am J Ophthalmol.* 2000;130(5):564–73.
135. Müller LJ, Marfurt C, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res.* 2003;76(5):521-42.
136. Linna TU, Pérez-Santoja J, Tervo KM, Sakla HF, Alió JL, Tervo TM. Recovery of corneal nerve morphology following laser in situ keratomileusis. *Exp Eye Res.* 1998;66(6):755-63.
137. Holzer MP, Knorz MC, Tomalla M, Neuhann TM, Auffarth GU. Intrastromal femtosecond laser presbyopia correction: One-year results of a multicenter study. *J Refract Surg.* 2012;28(3):182-88.
138. Arbeláez M. The SCHWIND Carriazo-Pendular Microkeratome. *Rev Techniques in Ophthalmol.* 2009;7(1):11-14.
139. de Benito L, Drake P, Cañadas P, Hernández-Verdejo JL, Teus MA. Keratocyte density after laser-assisted subepithelial keratectomy with mitomycin C. *Am J Ophthalmol.* 2010;150(5):642-49.

140. Le Q, Hong J, Zhu W, Sun X, Xu J. In vivo laser scanning confocal microscopy of vernal keratoconjunctivitis. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2011;39(1):53-60.
141. McDonald ECA, Gregory ME, Lockington D, Kennedy A, Roberts F, Ramaesh K. Observation of the in vivo movement of host keratocytes into donor tissue following corneal graft; a novel technique. *Br J Ophthalmol*. 2010; 94(6): 790-94.
142. Helena MC, Baerveldt F, Kim WJ, Wilson SE. Keratocyte apoptosis after corneal surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39(2):276-83.
143. Abdelkader A, Elewah SM, Kaufman HE. Confocal microscopy of corneal wound healing after deep lamellar keratoplasty in rabbits. *Arch Ophthalmol*. 2010;128(1):75-80.
144. Erie JC, Patel SV, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WN. Corneal keratocyte deficits after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol*. 2006;141(5):799–809.
145. Erie JC, Patel SV, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. Keratocyte density in the human cornea after photorefractive keratectomy. *Arch Ophthalmol*. 2003;121(6):770-76.
146. Park C, Kim J. Comparison of wound healing after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis in rabbits. *J Cataract Refract Surg*. 1999;25(6):842-50.
147. Benito-Llopis L, Cañadas P, Drake P, Hernández JL, Teus MA. Keratocyte density 3 months, 15 months, and 3 years after corneal surface ablation with Mitomycin C. *Am J Ophthalmol*. 2012;153(1):17-23.

148. Labiris G, Sideroudi H, Giarmoukakis A, Koukoura S, Pagonis G, Kozobolis VP. Evaluation of the difference between intended and measured ablation and its impact on refractive outcomes of the wavefront optimize profile and the S001 Wellington nomogram in myopic spherocylindrical corrections. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2012;40(2):127-33.
149. Dawson D, O'Brien T, Edelhauser H. Long-Term corneal keratocyte deficits after PRK and LASIK: in vivo evidence of stress-induced premature cellular senescence. *Am J Ophthalmol.* 2006;141(5):918-20.
150. Brubaker RF, Bourne W, Bachman LA, McLaren JW. Ascorbic acid content of human corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41(6):1681-83.
151. Patel SV, Erie JC, McLaren JW, Bourne WM. Keratocyte density and recovery of subbasal nerves after penetrating keratoplasty and in late endothelial failure. *Arch Ophthalmol.* 2007;125(12):1693-98.
152. Salgado JP, Khoramnia R, Lohmann CP, Winkler C. Corneal collagen crosslinking in post-LASIK keratectasia. *Br J Ophthalmol.* 2011;95(4):493-97.
153. Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee CN. Age-related differences in the normal human cornea: a laser scanning in vivo confocal microscopy study. *Br J Ophthalmol.* 2007;91(9):1165-69.
154. McLaren JW, Bourne W, Patel SV. Automated assessment of keratocyte density in stromal images from the ConfoScan 4 Confocal Microscope. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2010;51(4):1918-26.

155. Auzerie O, Pisella PJ, Bokobza Y, Baudouin C. Corneal stromal changes after LASIK. *J Fr Ophtalmol*. 2002;25(1):9-14.
156. Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee CN. Laser scanning in vivo confocal microscopy reveals reduced innervation and reduction in cell density in all layers of the keratoconic cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(7):2964-70.
157. Kitzmann A, Bourne W, Patel SV. Confocal microscopy of a femtosecond laser LASIK flap before separation. *Am J Ophthalmol*. 2007;143(4):691-93.
158. Dawson DG, Kramer T, Grossniklaus HE, Waring G, Edelhauser H. Histologic, ultrastructural and immunofluorescent evaluation of human laser in situ keratomileusis corneal wounds. *Arch Ophthalmol*. 2005;123(6):741-56.
159. Espana EM, Huang B. Confocal microscopy study of donor–recipient interface after Descemet's stripping with endothelial keratoplasty. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(7): 903-08.
160. Patel SV, McLaren JW, Hodge D, Bourne WM. Normal human keratocyte density and corneal thickness measurement by using confocal microscopy in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42(2):333-39.
161. Patel DV, Tavakoli M, Craig JP, Efron N, McGhee CN. Corneal sensitivity and slit scanning in vivo confocal microscopy of the subbasal nerve plexus of the normal central and peripheral human cornea. *Cornea*. 2009;28(7):735-40.

162. Erie JC, Nau CB, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. Long-term keratocyte deficits in the corneal stroma after LASIK. *Ophthalmology*. 2004;111(7):1356-61.
163. Mitooka K, Ramírez M, Maguire LJ, Erie JC, Patel SV, McLaren JW, et al. Keratocyte density of central human cornea after laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol*. 2002;133(3):307-14.
164. Pisella PJ, Auzerie O, Bokobza Y, Debbasch C, Baudouin C. Evaluation of corneal stromal changes in vivo after laser in situ keratomileusis with confocal microscopy. *Ophthalmology*. 2001;108(10):1744-50.
165. Erie JC, Patel SV, McLaren JW, Maguirre LJ, Ramírez M, Bourne WM. Keratocyte density in vivo after photorefractive keratectomy in humans. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1999;97:221-36.
166. Chen WL, Shen E, Hsieh Y, Yeh PT, Wang T, Hu FR. Comparison of in vivo confocal microscopic findings between epi-LASIK procedures with different management of the epithelial flaps. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2011;52(6):3640-47.
167. Moilanen JAO, Vesaluoma M, Müller LJ, Tervo T. Long-Term corneal morphology after PRK by in vivo confocal microscopy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2003;44(3):1064-69.
168. Nakamura K, Kurosaka D, Bissen-Miyajima H, Tsubota K. Prevention of stromal haze after laser assisted in Intact corneal epithelium is essential for the situ keratomileusis. *Br J Ophthalmol*. 2001(2);85:209-13.
169. McLaren JW, Bourne WM, Patel SV. Standardization of corneal haze measurement in confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(11):5610-16.

170. Lambert RW, Anderson J, Heitzman J, Sutherland CJ, Moore MM, Binder PS. Excimer laser effects of human corneal endothelium modulation of serum factor. *Arch Ophthalmol*.1996;114(12):1499-1505.
171. Sonigo B, Iordanidou V, Chong-Sit D, Auclin F, Ancel JM, Labbé A, et al. In vivo corneal confocal microscopy comparison of intralase femtosecond laser and mechanical microkeratome for laser in situ keratomileusis. *Br J Ophthalmol*. 2006; 47(7):2803-11.
172. Woodward MA, Edelhauser H. Corneal endothelium after refractive surgery. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(4):767-77.
173. Darwish T, Brahma A, Efron N, O'Donnell C. Subbasal nerve regeneration after LASEK measured by confocal microscopy. *J Refract Surg*. 2007;23(7):709-15.
174. Dimitri A, Pluznik D, Sandeep J, Khoury J. Gelatinase B and A expression after laser in situ keratomileusis and photorefractive keratectomy. *Arch Ophthalmol* 1998;116(9):1206-08.
175. Ehlers N, Ehlers H, Hjortdal J, Moller T. Grafting of the posterior cornea. Description of a new technique with 12-month clinical results. *Acta Ophthalmol* 2000;78(5):543-46.
176. Kauffmann T, Bodanowitz S, Hesse L, Kroll P. Corneal reinnervation after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis: an in vivo study with a confocal videomicroscope. *Ger J Ophthalmol*. 1996; 5(6):508-12.
177. Rajeswari D, Rachdan D, Shah S. Visual improvement after corneal endothelial transplantation: are we seeing better?. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(3):309-10.

178. Nottage J, Nirankari S. Endothelial keratoplasty without Descemet's stripping in eyes with previous penetrating corneal transplants. *Br J Ophthalmol.* 2012;96(1):24-27.
179. Klais CM, Bühren J, Kohnen T. Comparison of endothelial cell count using confocal and contact specular microscopy. *Ophthalmologica.* 2003;217(2):99-103.
180. Hara M, Morishige N, Chikama T, Nishida T. Comparison of confocal biomicroscopy and noncontact specular microscopy for evaluation of the corneal endothelium. *Cornea.* 2003;22(6):512-15.
181. Hollingsworth J, Pérez-Gómez I, Mutalib HA, Efron N. A population study of the normal cornea using an in vivo, slitscanning confocal microscope. *Optom Vis Sci.* 2001;78(10):706-11.
182. Patel SV, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. Confocal microscopy in vivo in corneas of long-term contact lens wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43(4):995-1003.
183. Lee S, Kim J, Seo KY, Kim EK, Lee HK. Comparison of corneal nerve regeneration and sensitivity between LASIK and laser epithelial keratomileusis (LASEK). *Am J Ophthalmol.* 2006;141(6):1009-15.
184. Calvillo MP, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. Corneal reinnervation after LASIK: prospective 3-year longitudinal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(11):3991-96.
185. Hwan B, McLaren JW, Erie JC, Hodge DO, Bourne WM. Reinnervation in the cornea after LASIK. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2002;43(12):3660-64.

186. Salvetat ML, Zeppieri M, Miani F, Parisi L, Felletti M, Brusini P. Comparison between laser scanning in vivo confocal microscopy and noncontact specular microscopy in assessing corneal endothelial cell density and central corneal thickness. *Cornea*. 2011;30(7):754-59.
187. Toda I, Asano-Kato N, Komai-Hori Y, Tsubota K. Dry eye after laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol*. 2001;132(1):1-7.
188. McLaren JW, Nau C, Patel SV, Bourne WM. Measuring corneal thickness with the ConfoScan 4 and z-ring adapter. *Eye Contact Lens*. 2007;33(4):185-90.
189. Stephan A, Zhivov A, Eberle F, Koehler B, Maier S, Bretthauer G, et al. Image reconstruction of the subbasal nerve plexus with in vivo confocal microscopy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2011;52(9):5022-28.
190. Qu Y, Wu YK, Bille JF. High resolution cornea imaging by using two-photon ophthalmoscope. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(11):5669.
191. Benítez JM, Acosta C, Wassfi MA, Díaz-Valle D, Gegúndez JA, Fernández C, et al. Relation between corneal innervation with confocal microscopy and corneal sensitivity with noncontact esthesiometry in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci*. 2007;48(1):173-81.
192. 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(9):1515-21.
193. Hamrah P, Cruzat A, Dastjerdi MH, Zheng L, Shahatit B, Bayhan HA, et al. Corneal sensation and subbasal nerve alterations in patients with herpes

simple keratitis: an in vivo confocal microscopy study. *Ophthalmology*. 2010;117(10):1930-36.

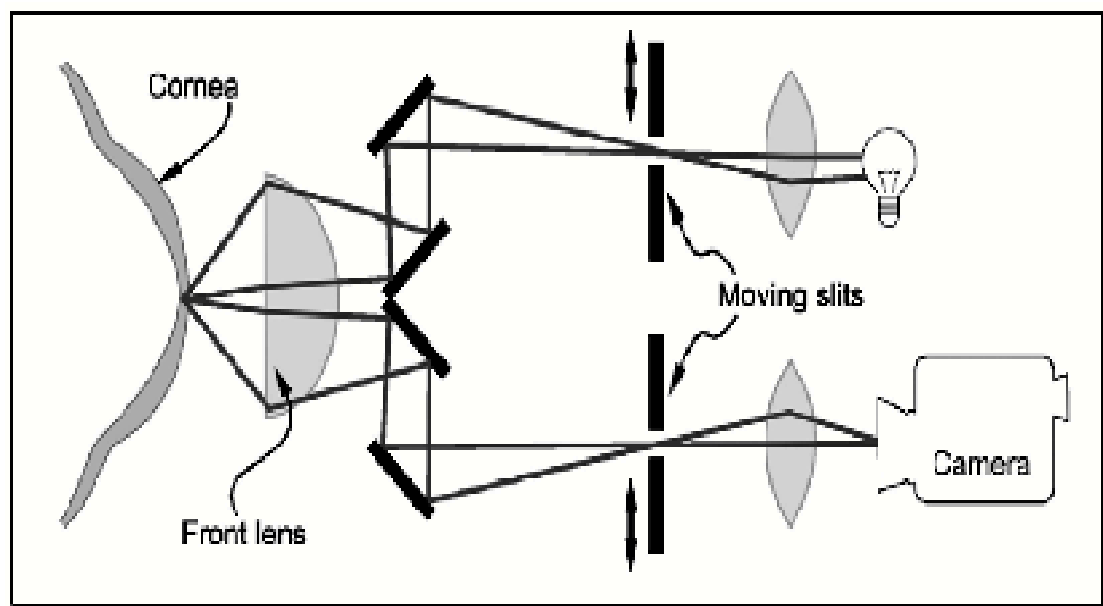
194. Stachs O, Zhivov A, Kraak R, Hovakimyan M, Wree A, Guthoff R. Structural-functional correlations of corneal innervation after LASIK and penetrating keratoplasty. *J Refract Surg*. 2010;26(3):159-67.
195. Szaflik JP. Comparison of in vivo confocal microscopy of human cornea by white light scanning slit and laser scanning systems. *Cornea*. 2007;26(4):438–45.
196. Gutho R, Zhivov A, Stachs O. Real-time mapping of the corneal sub-basal nerve plexus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Proc SPIE* 2010; 550:75501D.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- 1- Bayarre H. Metodología de la investigación en la APS. Ed. Ciencias Médicas. 2004.
- 2- Boyd B. Atlas de cirugía refractiva. Ed. Highlights of Ophthalmology. 2000.
- 3- Carrasco de la Pena JL. El Método Estadístico en la Investigación Médica. Madrid: Karpus, 1982.
- 4- Comisión Nacional de Grados Científicos. (2005) Normas para la redacción y presentación de la tesis de Doctor en Ciencias de determinada especialidad. En Normas para la obtención de Grados científicos. República de Cuba. 2005:47-52.
- 5- Eguías F, Río M, Capote A, Hernández JR. Manual de diagnóstico y tratamiento en Oftalmología. Editorial Ciencias Médicas, La Habana Cuba, 2009. ISBN 978-959-212-438-7.
- 6- Guthoff RF, Baudouin C, Stave J. Atlas of confocal laser scanning in vivo microscopy in Ophthalmology. Ed. Springer. 2006.
- 7- Hernández E. Metodología de la Investigación. Cómo escribir una tesis. Escuela Nacional de Salud Pública. 2006.
- 8- Jiménez R. Metodología de la Investigación: Elementos básicos para la Investigación clínica. Ed Ciencias Médicas. La Habana, 1998.
- 9- Jiménez R. Problema científico, población y muestra. Revisión de conceptos y ejemplo. Rev Cubana Cardiol Cir Cardiovasc. 2010;16(2):206-13.

ANEXOS

Anexo 1: Principios ópticos de la microscopía confocal (Mastropsascua y Nubile, 2002)

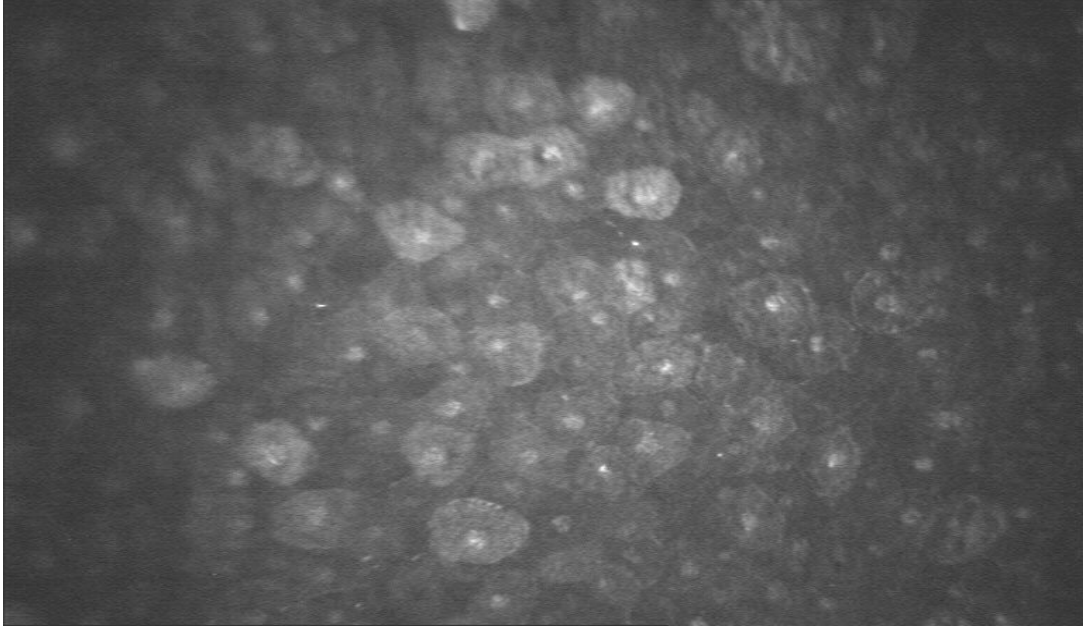


Anexo 2: Características generales de la muestra.

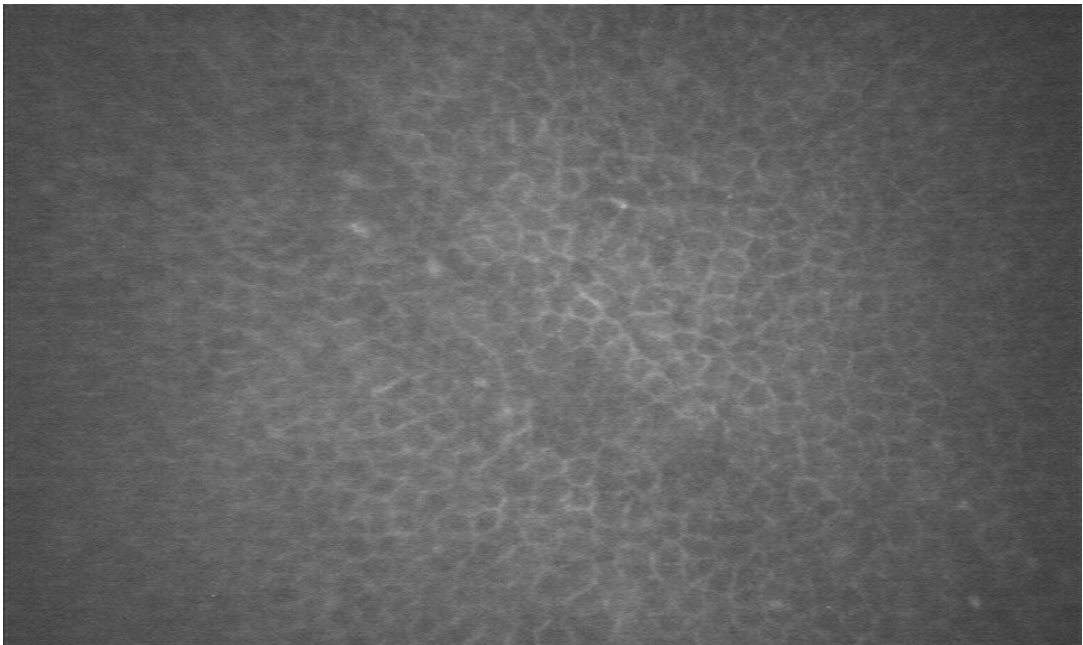
Características generales de la muestra.

Edad promedio	36,4 años.
Color de la piel	65,1 % blancos. 20,8 % mestizos. 14,1 % negros.
Sexo	63,3 % femenino. 26,7 % masculino.
Agudeza visual sin corrección preoperatoria promedio	0,27
Agudeza visual sin corrección postoperatoria promedio	0,94
Queratometría media promedio	45,62 dioptrías
Longitud axil promedio	25,79 mm
Tonometría promedio	16,75 mmHg

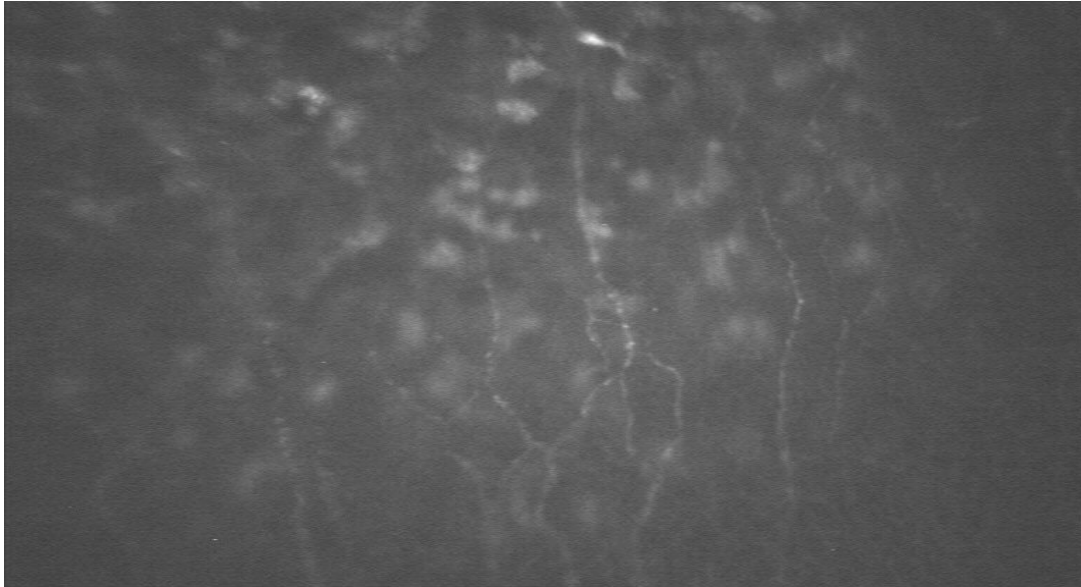
Anexo 3: Epitelio corneal apical: Capa de células poligonales de bordes definidos, con núcleo brillante que resalta sobre el citoplasma homogéneo. Corresponde a paciente a los 6 meses de LASEK.



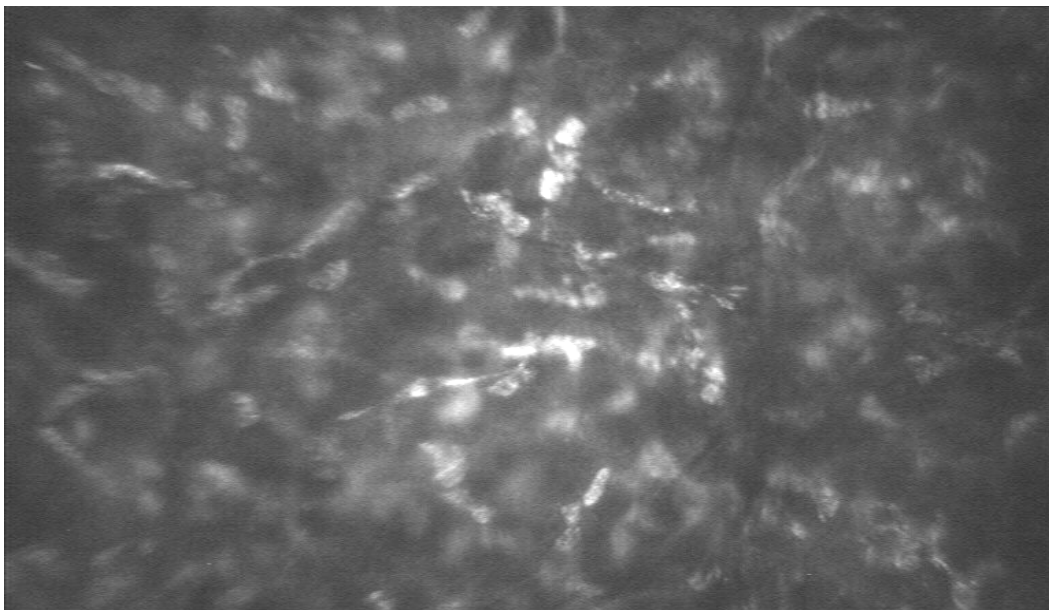
Anexo 4: Epitelio corneal basal: Capa de células con citoplasma homogéneo más oscuro que carecen de núcleo y bordes definidos. Corresponde a paciente al año de LASEK.



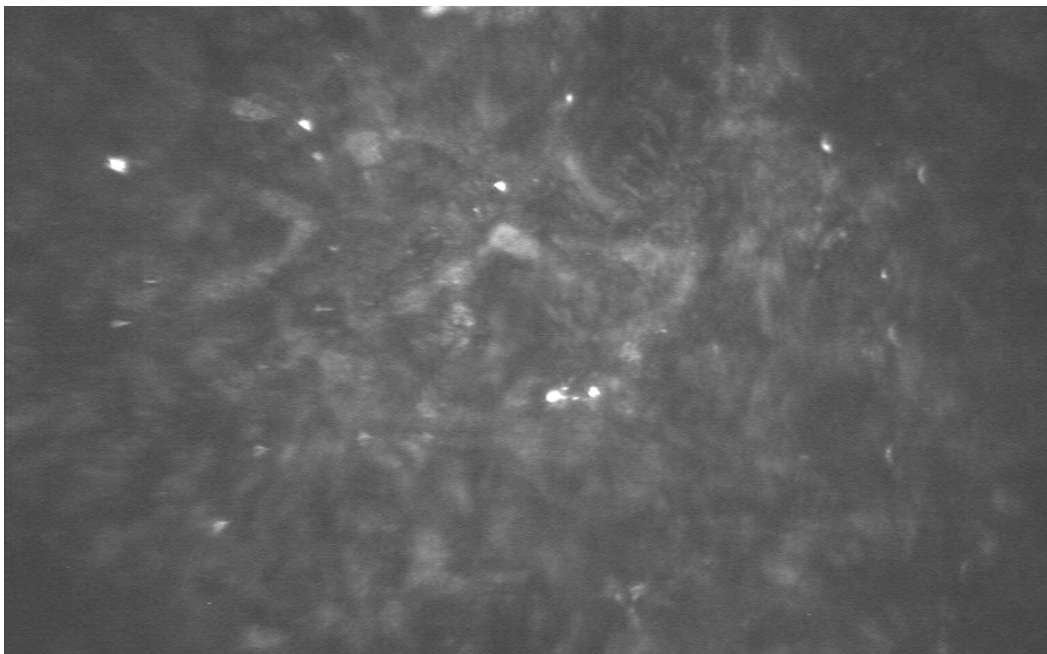
Anexo 5: Plexo nervioso subbasal: Fibras nerviosas que contrastan sobre el fondo oscuro, finas, brillantes, distribuidas de forma paralela u oblicua con diversas bifurcaciones que se conectan entre sí. Corresponde a paciente al año de LASIK.



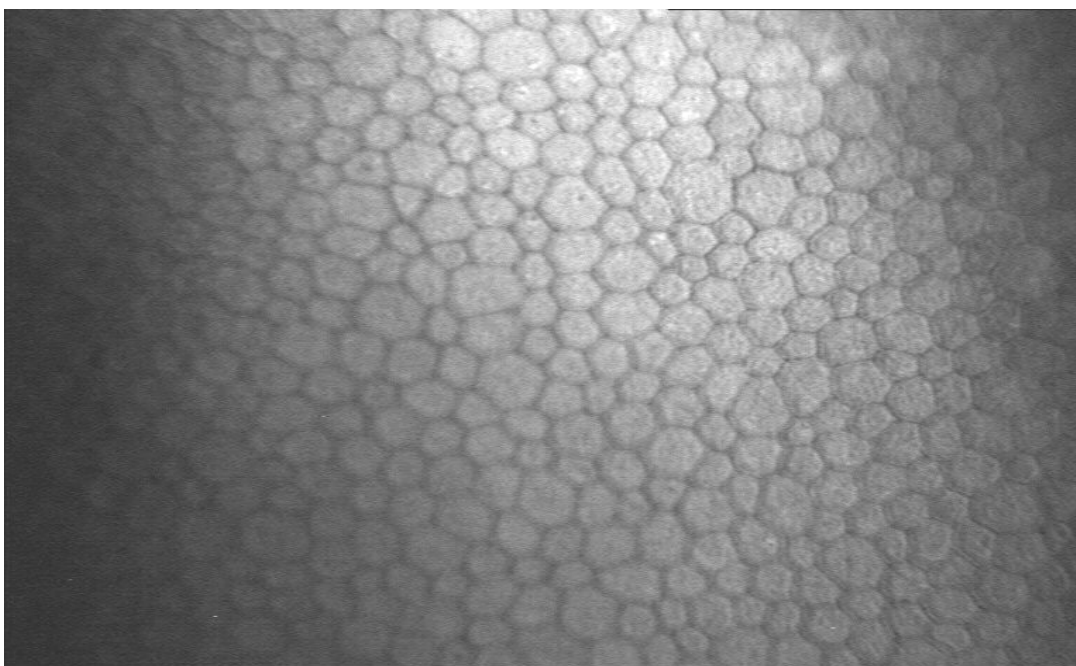
Anexo 6: Estroma corneal: Definida por la presencia de cuerpos ovales brillantes (queratocitos) que contrastan sobre el fondo oscuro. Corresponde a paciente a los 3 meses de LASIK.



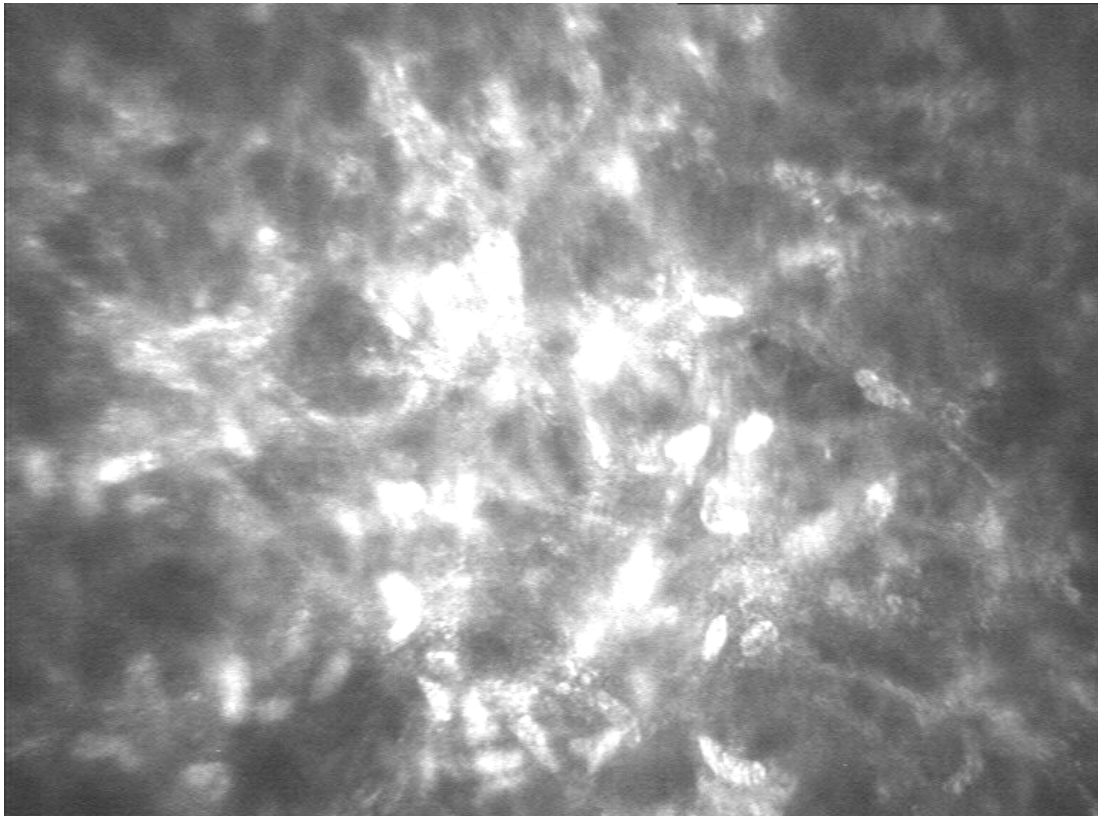
Anexo 7: Interfase quirúrgica: Presencia de cuerpos brillantes puntiformes que resaltan sobre el fondo oscuro. Corresponde a paciente 1 mes posterior a LASIK.



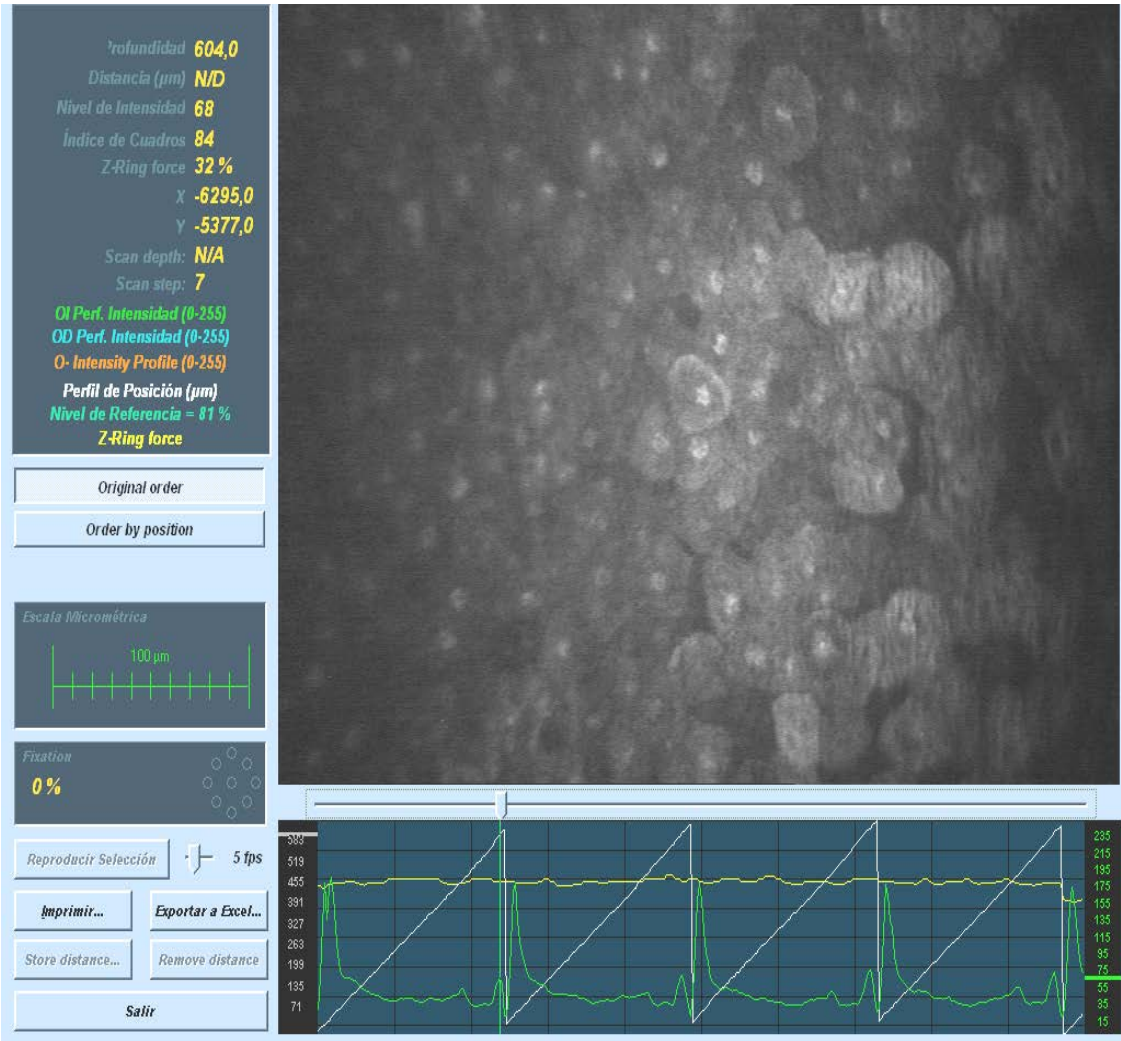
Anexo 8: Endotelio corneal: Células hexagonales de bordes definidos, anucleadas, con citoplasma homogéneo. Corresponde a paciente al año de LASEK.



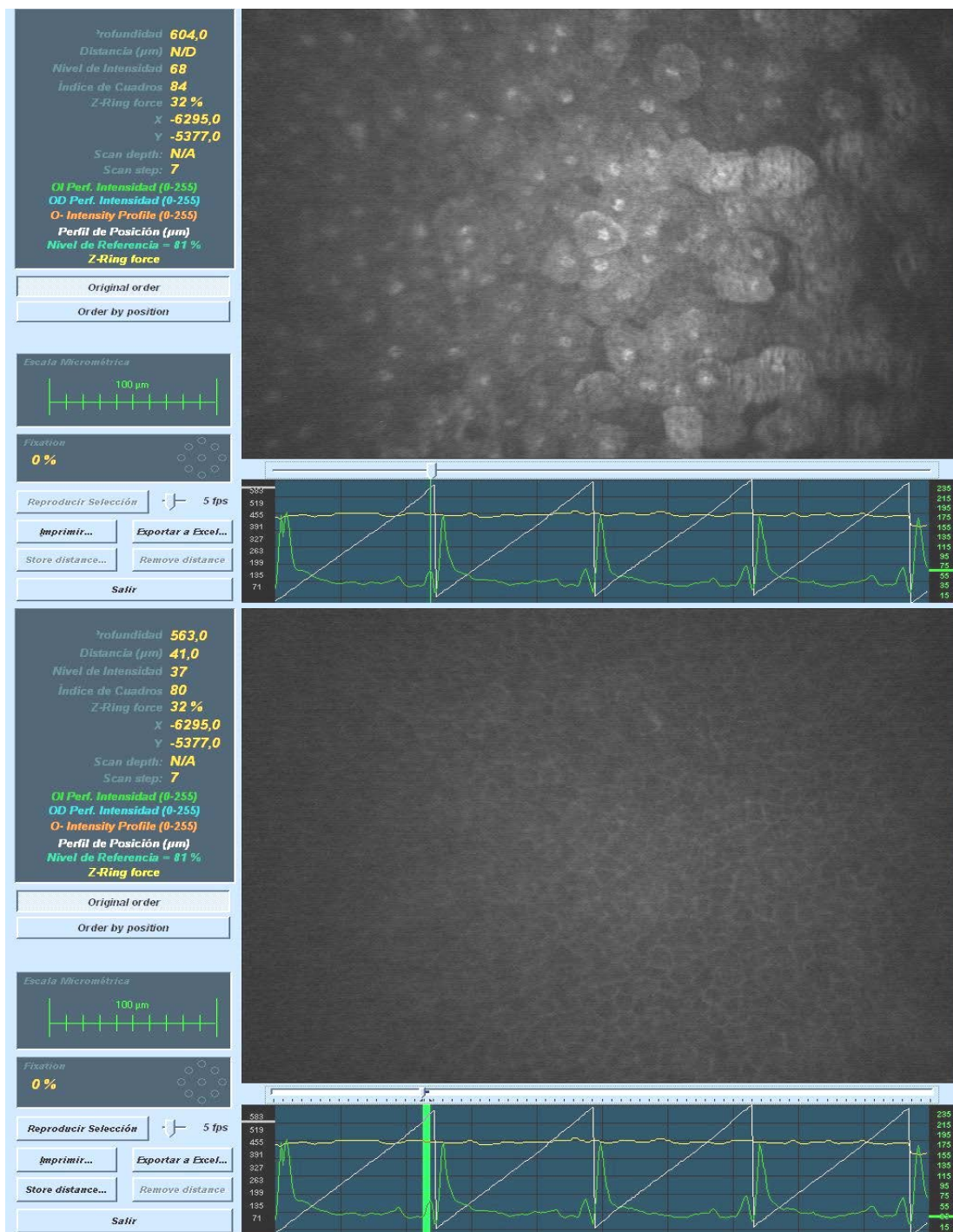
Anexo 9: Haze corneal, no pueden ser definidos los límites de los queratocitos, con mayor brillo que el resto de las imágenes estromales. Corresponde a paciente 3 meses posterior a LASEK.



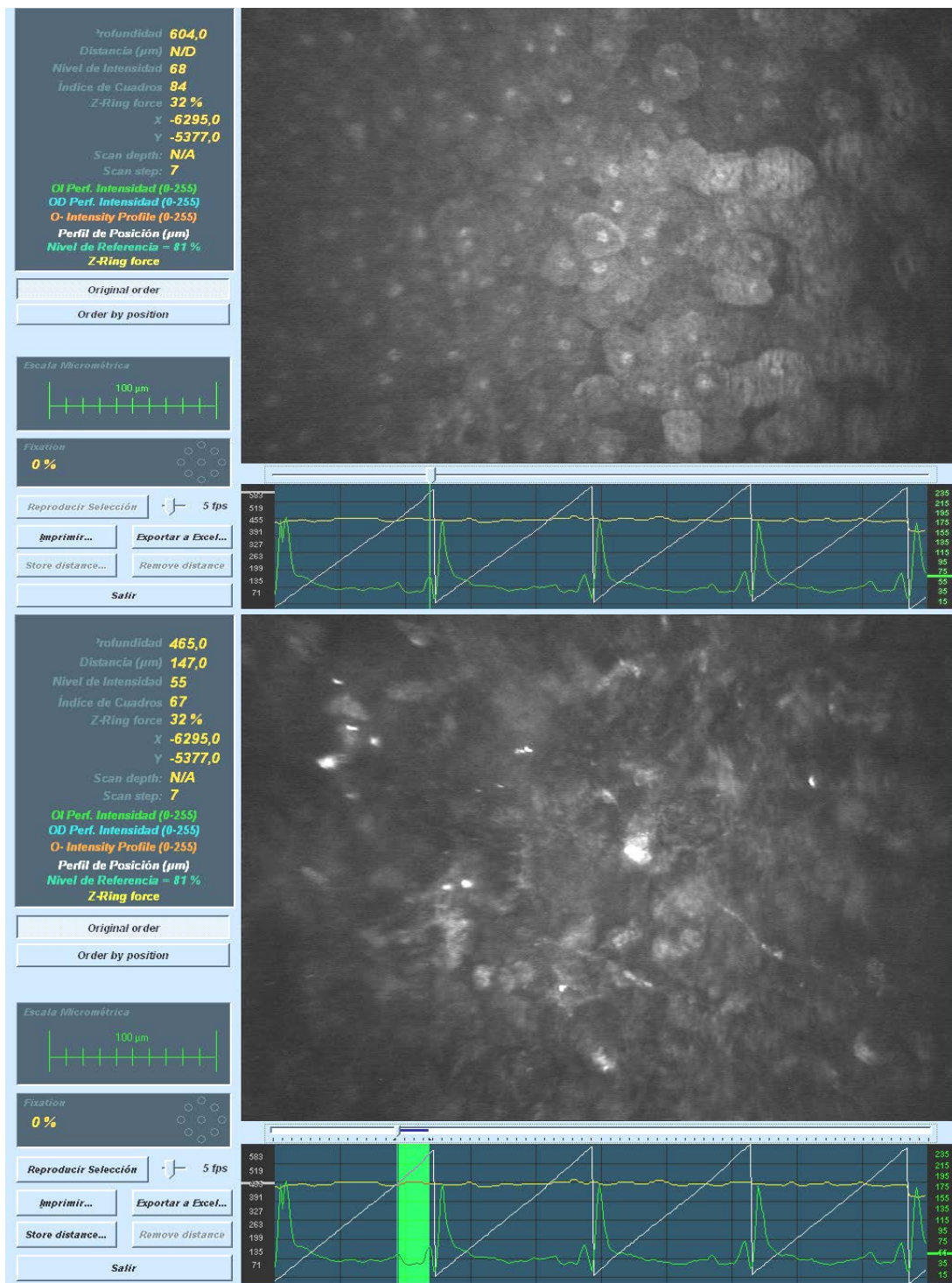
Anexo 10: Medición de paquimetría. La paquimetría es el valor ilustrado como profundidad en la parte superior izquierda de la imagen de curva CMTF. El ejemplo corresponde a 6 meses posteriores a LASIK.



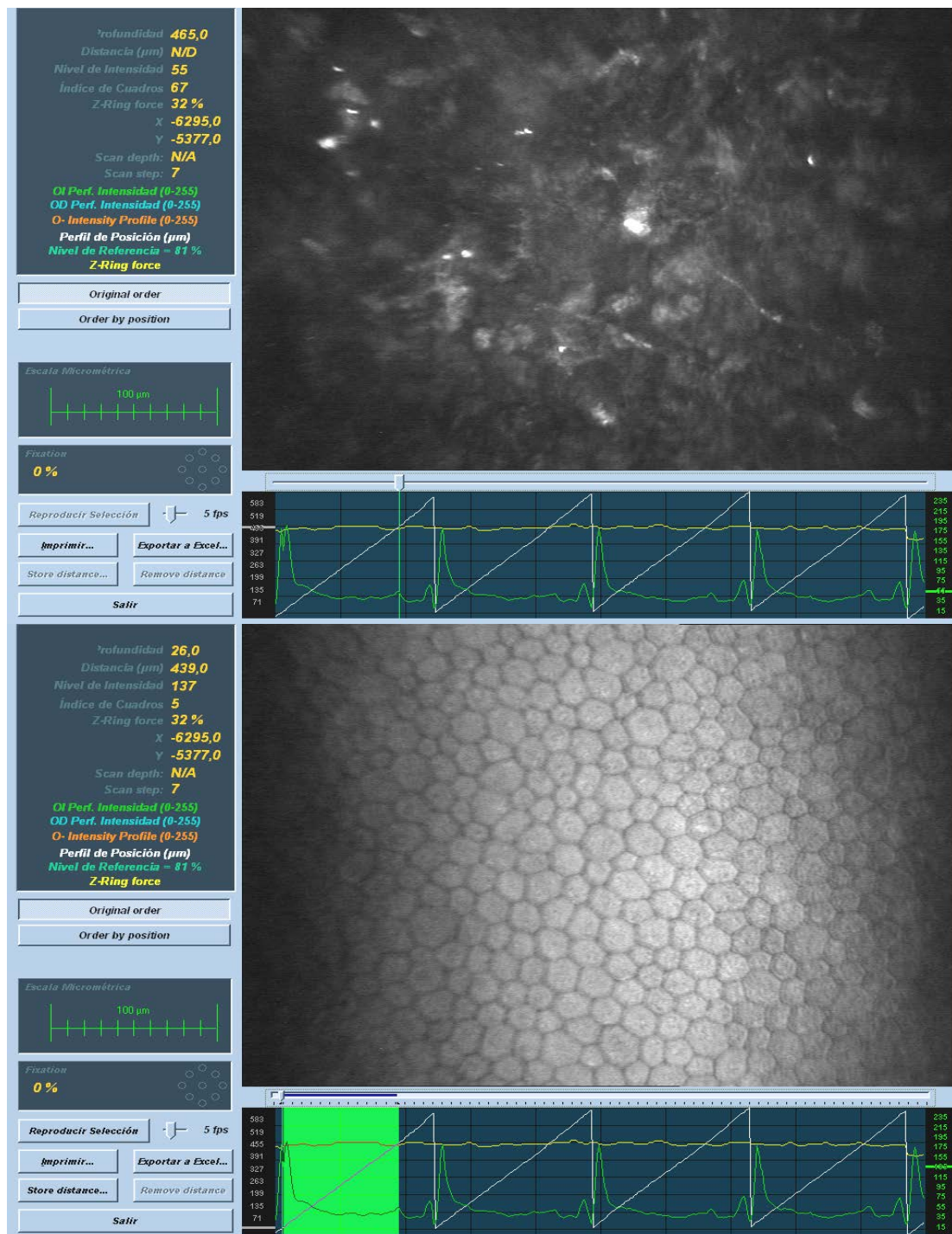
Anexo 11: Medición de grosor epitelial. Se selecciona la imagen de epitelio corneal apical más anterior por curva CMTF (imagen superior) y se lleva el cursor hasta la última imagen de epitelio corneal basal. (imagen inferior) El grosor epitelial es el valor ilustrado como Distancia (μm)=41 en la parte superior izquierda de la imagen inferior. El ejemplo corresponde a 6 meses posteriores a LASIK.



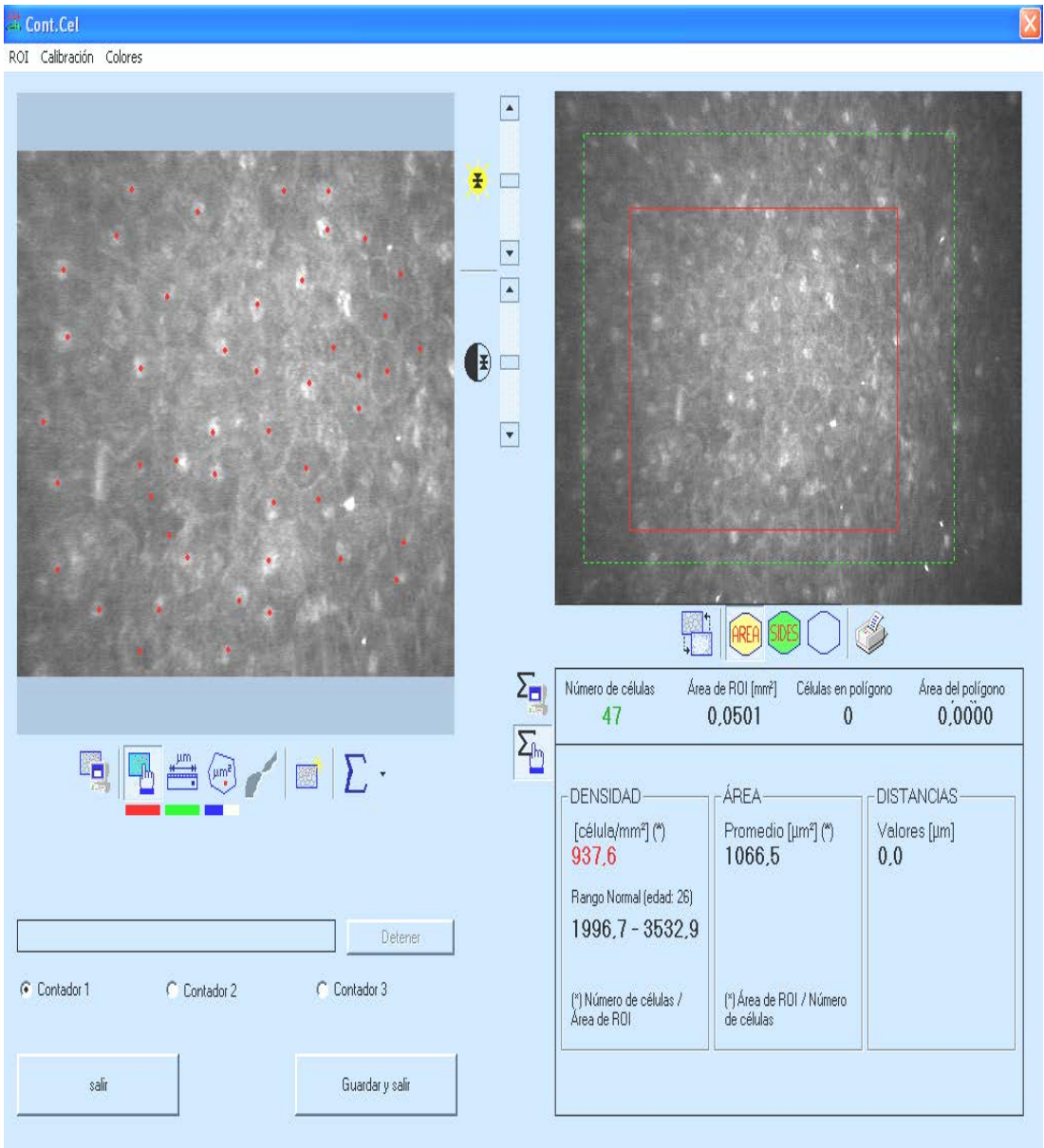
Anexo 12: Medición de grosor del colgajo. Se selecciona en curva CMTF la primera imagen de epitelio corneal apical (imagen superior) y se lleva el cursor hasta la primera imagen de interfase quirúrgica (imagen inferior). El grosor del colgajo es el valor ilustrado como Distancia (μm)=147 en la parte superior izquierda de la imagen inferior. El ejemplo corresponde a 6 meses posterior a LASIK.



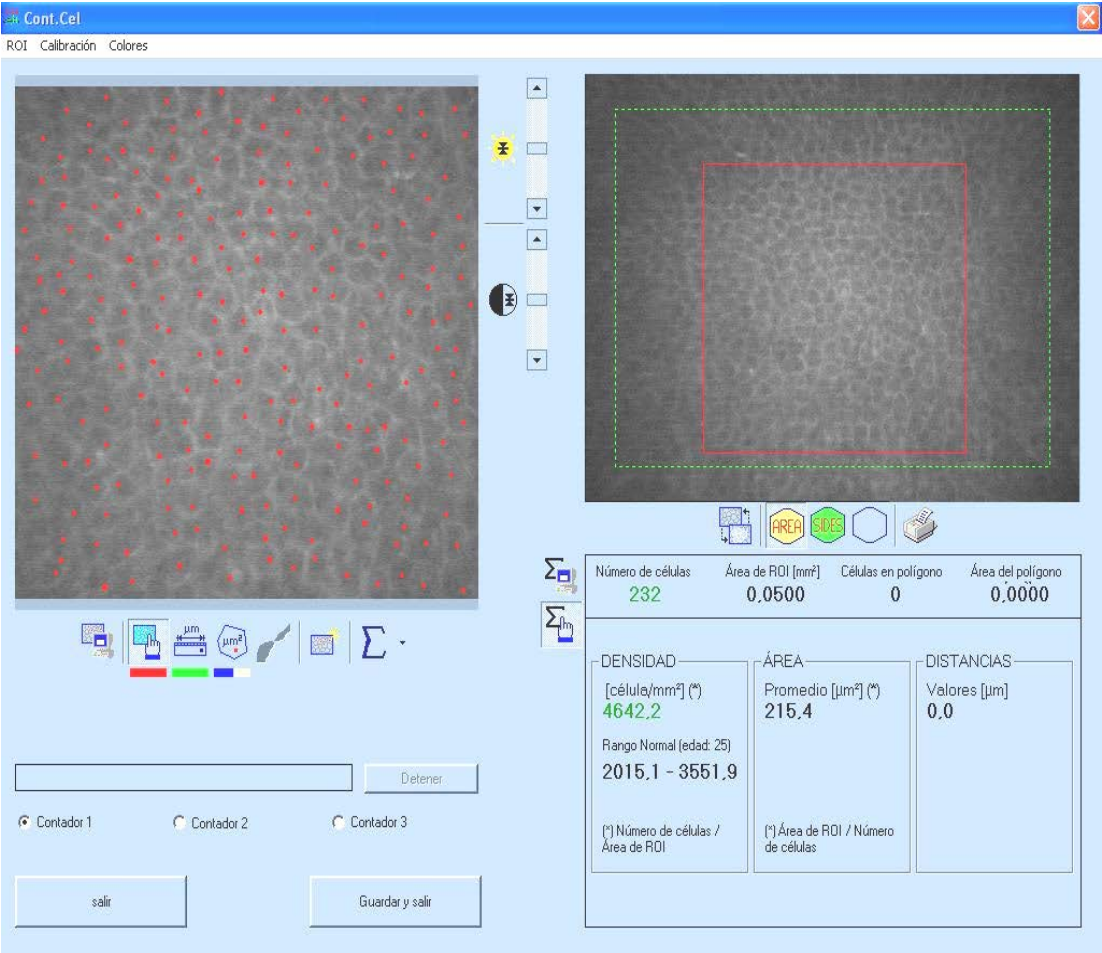
Anexo 13: Medición de lecho estromal residual (3 meses posterior a LASIK). Por curva CMTF se selecciona la última imagen de interfase quirúrgica (imagen superior) y se lleva el cursor hasta la última imagen de endotelio corneal (imagen inferior). El grosor del lecho estromal residual es el valor ilustrado como Distancia (μm)=439,0 en la parte superior izquierda de la imagen inferior. El ejemplo corresponde a 3 meses posterior a LASIK.



Anexo 14: Cálculo de la densidad de células del epitelio apical. Después de seleccionada la imagen y el área de ROI (0,0500 mm²), se marcan las células en la imagen superior izquierda y se obtiene el valor de densidad a través del software, en este caso 937,6 células/ mm². El ejemplo corresponde a 6 meses posterior a LASEK)



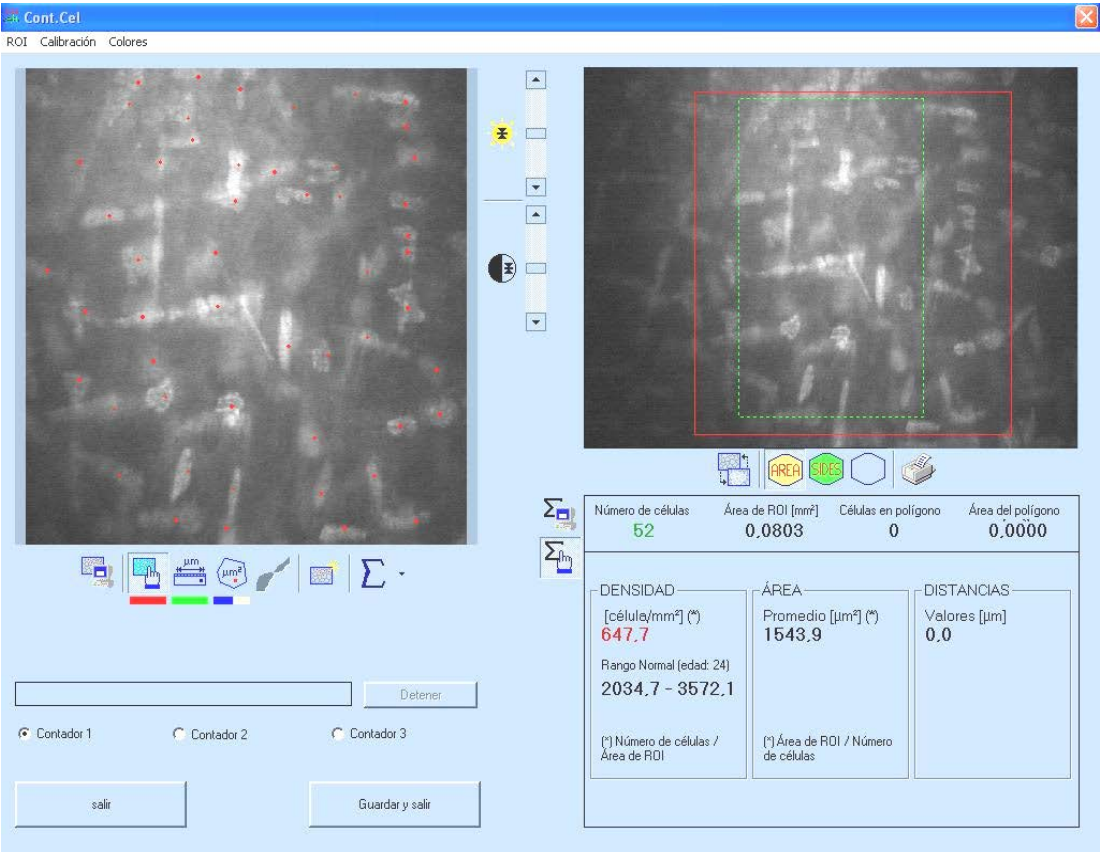
Anexo 15: Cálculo de la densidad de células del epitelio basal. Después de seleccionada la imagen y el área de ROI (0,0500 mm²), se marcan las células en la imagen superior izquierda y se obtiene el valor de densidad a través del software, en este caso 4642 células/ mm². El ejemplo corresponde a 1 año posterior a LASEK)



Anexo 16: Estroma corneal anterior (7 días posterior a LASIK). Se observan los queratocitos como cuerpos brillantes ovales que resaltan sobre el fondo oscuro y homogéneo.



Anexo 17: Cálculo de la densidad de queratocitos. En la porción superior derecha se observa la selección del área, en la porción superior izquierda el marcado de cada queratocito.



El primer cociente obtenido de densidad es el que se encuentra con letras rojas. Este valor se divide por la profundidad de campo efectiva del equipo: 25 para obtener la densidad en cél/mm^3

Anexo 18: Esquema de subcapas estromales definidas para la medición de densidad de queratocitos en pacientes operados con LASIK. El estroma se ubica entre ambas membranas destacadas en fondo negro.

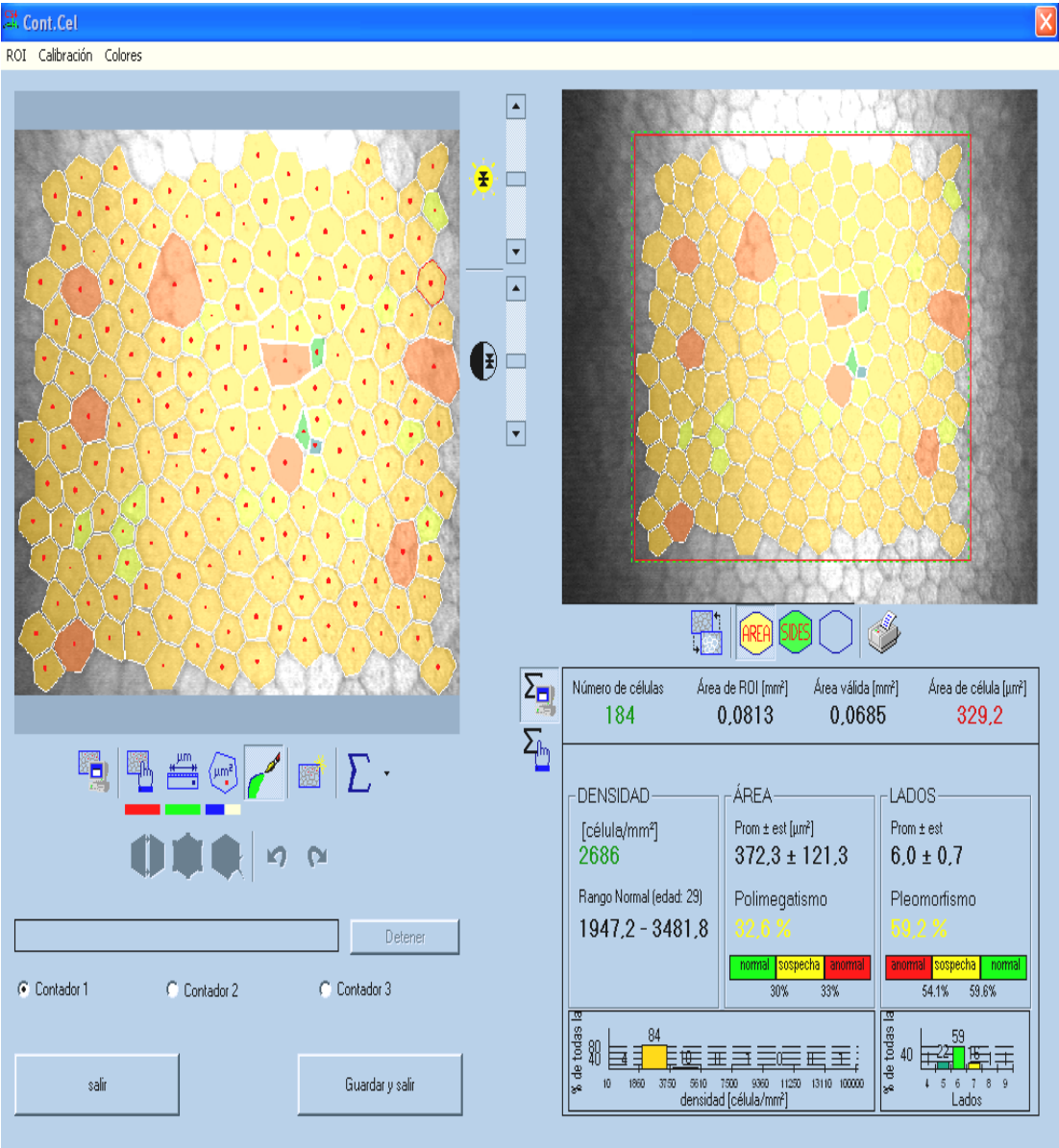
Preoperatorio	Posoperatorio
Epitelio corneal	Epitelio corneal
Membrana de Bowman	Membrana de Bowman
Estroma anterior ----- Estroma ablacionado*	Colgajo anterior
	Colgajo posterior
Estroma medio	Interfase quirúrgica
	Retroablación anterior
	Retroablación posterior
Estroma posterior	Estroma posterior
Membrana de Descemet	Membrana de Descemet
Endotelio	Endotelio

Anexo 19: Esquema de subcapas estromales definidas para la medición de densidad de queratocitos en pacientes operados con LASEK.

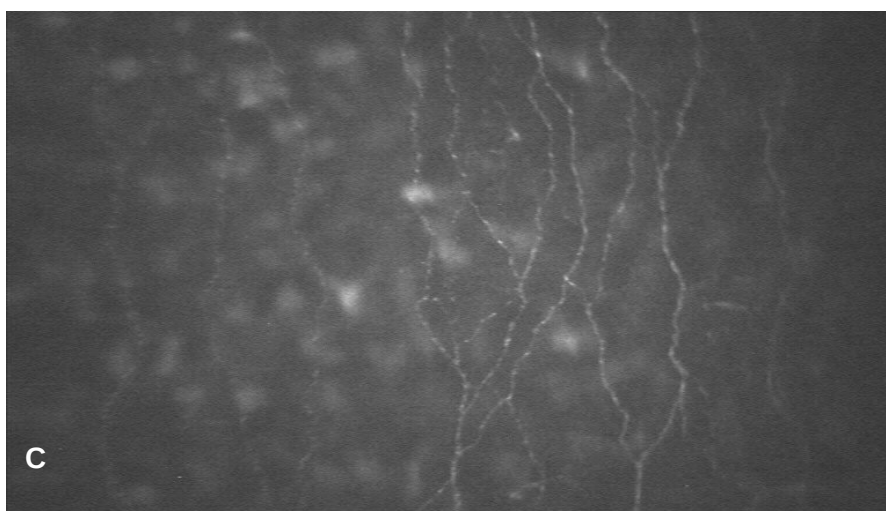
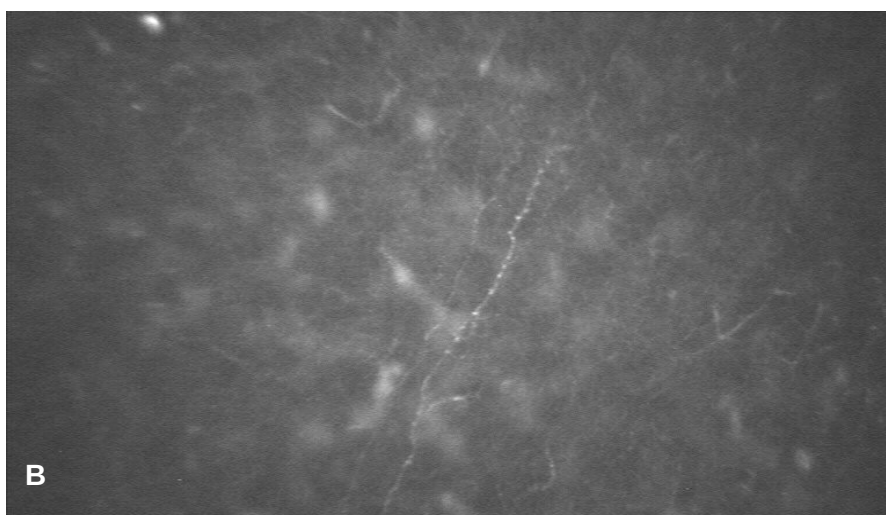
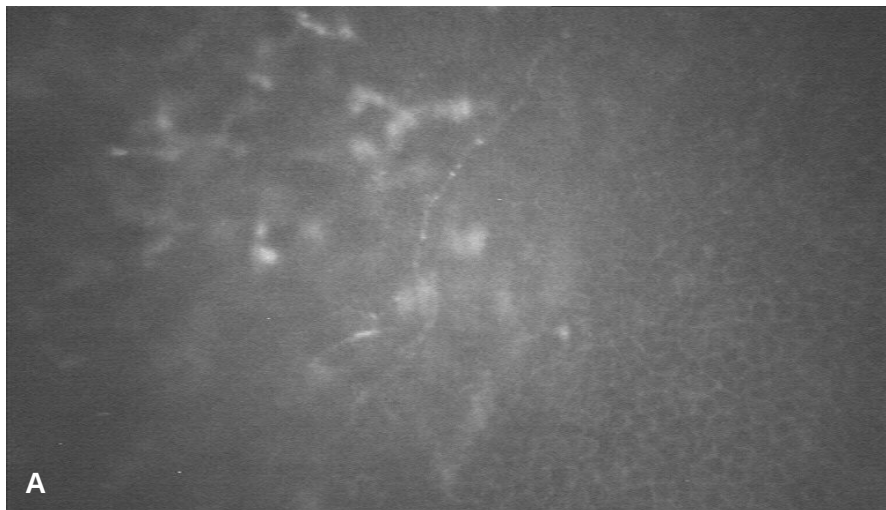
Preoperatorio	Posoperatorio
Epitelio corneal	Epitelio corneal
Membrana de Bowman	
Estroma ablacionado* -----	
Estroma anterior	Estroma anterior
Estroma medio	Estroma medio
Estroma posterior	Estroma posterior
Membrana de Descemet	Membrana de Descemet
Endotelio	Endotelio

*Estroma ablacionado: Porción del estroma que recibe la ablación del Láser Excímer, la corrección del defecto refractivo se realiza a expensas de esta ablación que reduce el estroma corneal en una cantidad de micras dependiente de la magnitud de la ametropía tratada. En el posoperatorio esta zona no existe, se señala con color gris.

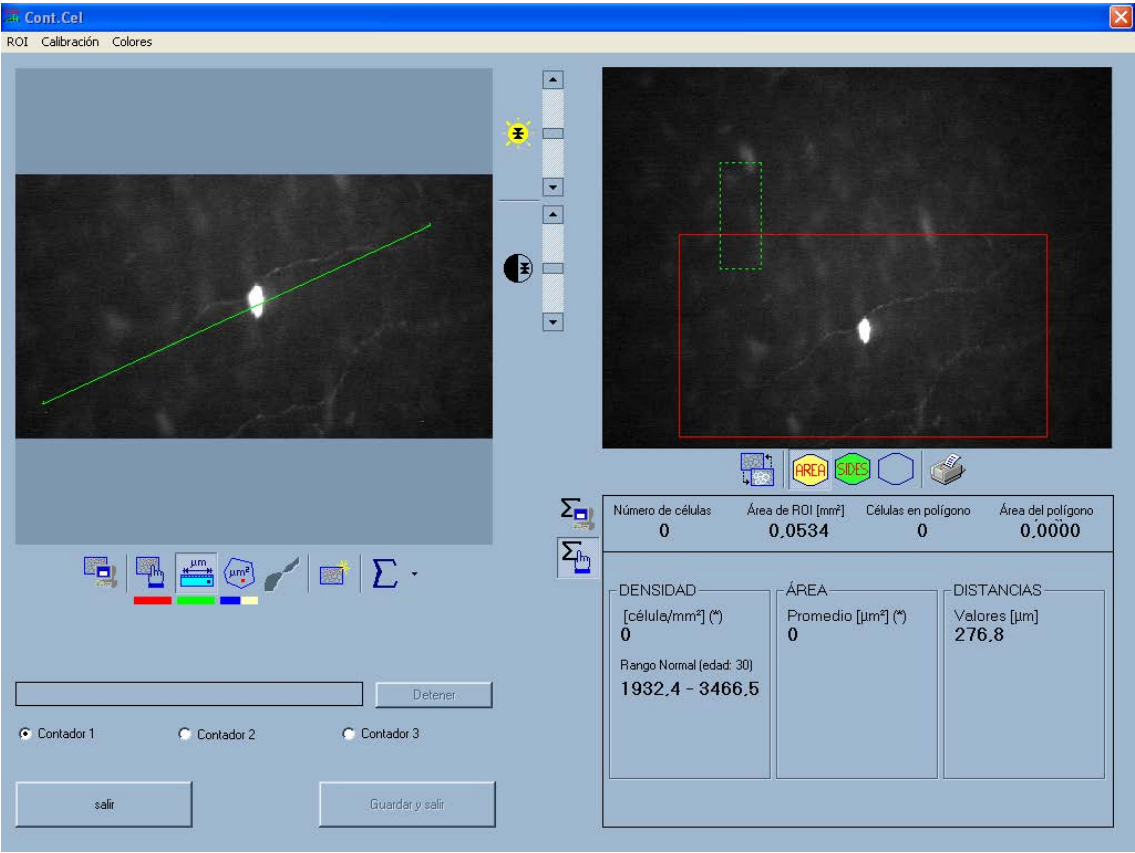
Anexo 20: Cálculo de variables endoteliales. En la porción superior derecha se observa la selección del área, en la porción superior izquierda el marcado automático de las células. En la porción inferior se observan los valores obtenidos de densidad celular endotelial, pleomorfismo y polimegatismo.



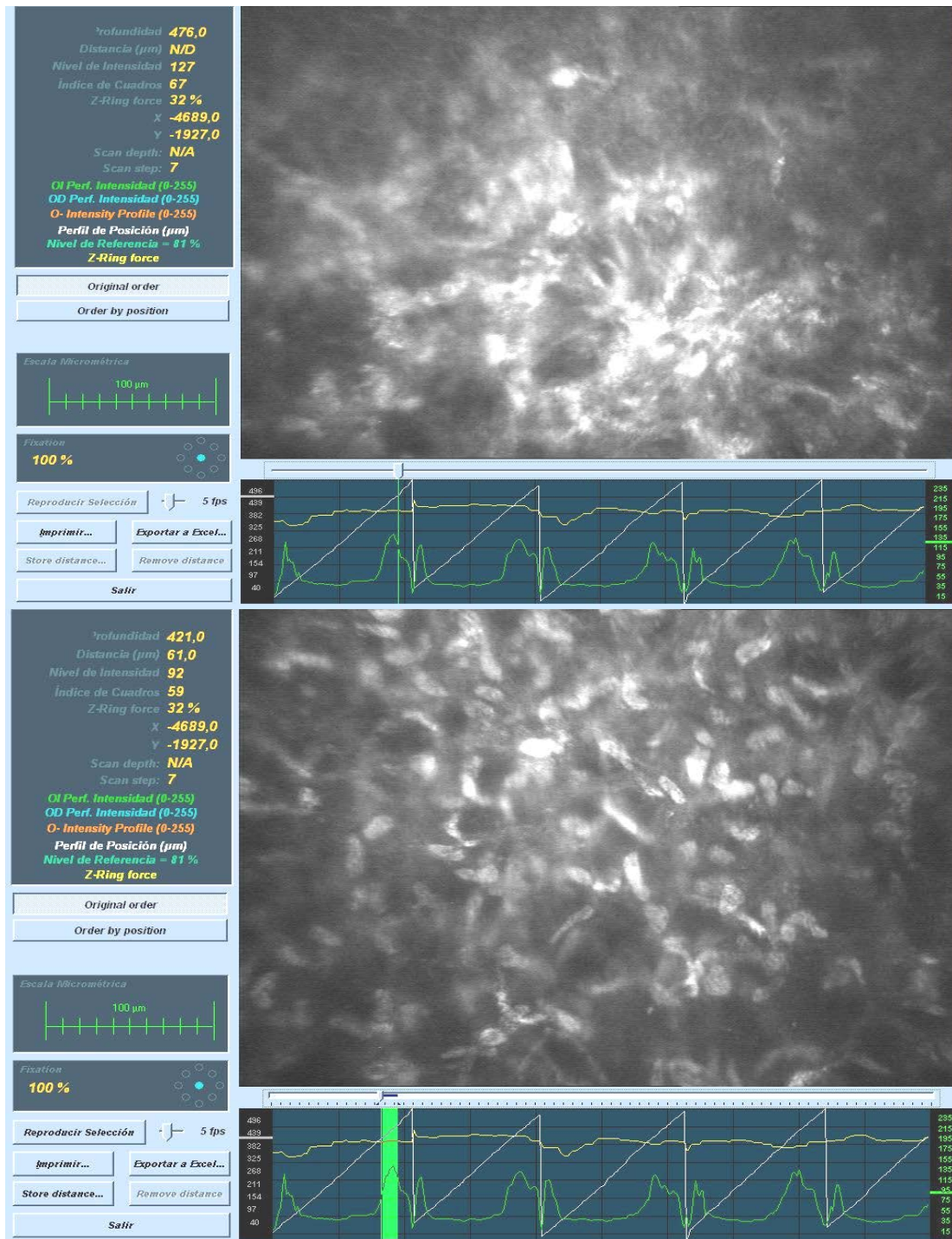
Anexo 21: Plexo nervioso subbasal. A: Nervio corto, menor de 200 μm de longitud. B: Nervio largo (mayor de 200 μm sin interconexiones). C: Nervios largos con interconexiones. D: Medición del nervio.



D



Anexo 22: Medición del haze corneal, posterior a LASEK. En este caso a los 3 meses posterior a LASEK, la imagen superior muestra curva CMTF tomando la primera imagen de haze corneal, posteriormente se lleva el cursor hasta la última imagen de haze corneal que se muestra en la figura inferior, donde el parámetro denominado distancia = 61 μm es el grosor de haze corneal.



Anexo 23: Programación del tratamiento (programa ORK-CAM para tratamientos esféricos) Se señalan los valores de zona óptica, grosor del colgajo y lecho estromal residual.

Summary page of the selected treatment parameter

Patient information

Eye	PatientID	First name	Last name	Birth Date	Edad
OD	630210	Maritza	Parra	10.02.1963	46

Ablationprofile

S

T

I

Max

Min

Main info

Type of treatment: Aspherical treatment

Treatment method: Lasik treatment

Type of refraction: Hipermetropía Astigmatismo

Imported file name: none

K1: 43,00 D @ 96 °

K2: 42,75 D @ 6 °

Average K: 42,87 D

Max ablation depth: 58,63 µm

Central abl. depth: 0,00 µm

Optical zone: 6,50 mm

Transition zone: 1,49 mm

Ablation zone: 7,99 mm

Summary of aberrations at selected OZ

Coma: 0,00 µm / 0,00 DEQ

Trefoil: 0,00 µm / 0,00 DEQ

SpAb: -0,29 µm / 0,19 DEQ

P-V: 22,05 µm

RMS HO: 0,29 µm / 0,19 DEQ

RMS total: 6,01 µm / 3,94 DEQ

Refraction @ vertex 12,00 mm

	Sphere	Cylinder	Eje
Manifest	3,25 D	-0,50 D	X 65,0°
Target	0,00 D	0,00 D	X 65,0°
Láser setting	3,25 D	-0,50 D	X 65,0° @ RZ=4,0mm

RST Manager

pachy: 541,00 µm

flap thickness: 160,00 µm

centr. Ablation: 59 µm

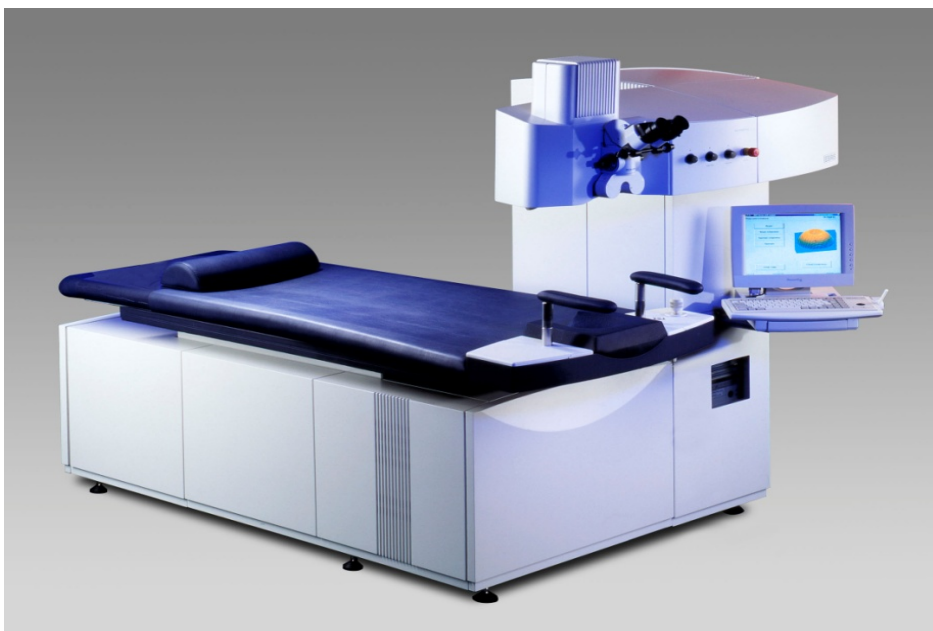
RST: 322,37 µm

Cancelar

Imprimir

Import

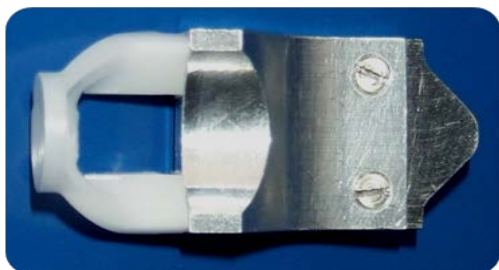
Anexo 24: ESIRIS (Schwind- Alemania)



Anexo 25: Microscopio confocal ConfoScan 4 de NIDEK.



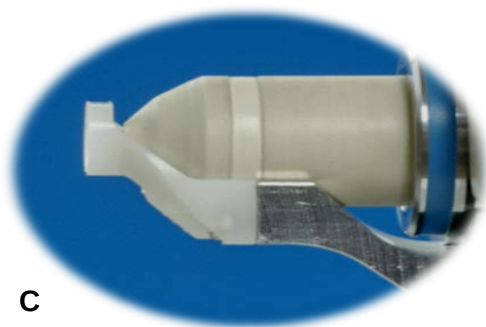
Pasos a seguir en la microscopía. A: Anillo Z para la fijación del globo ocular. B: Lente 40 X. C: Acople de A y B. D: Se avanzó el lente hasta hacer contactar el anillo con la sustancia de acoplamiento para realizar el examen.



A



B



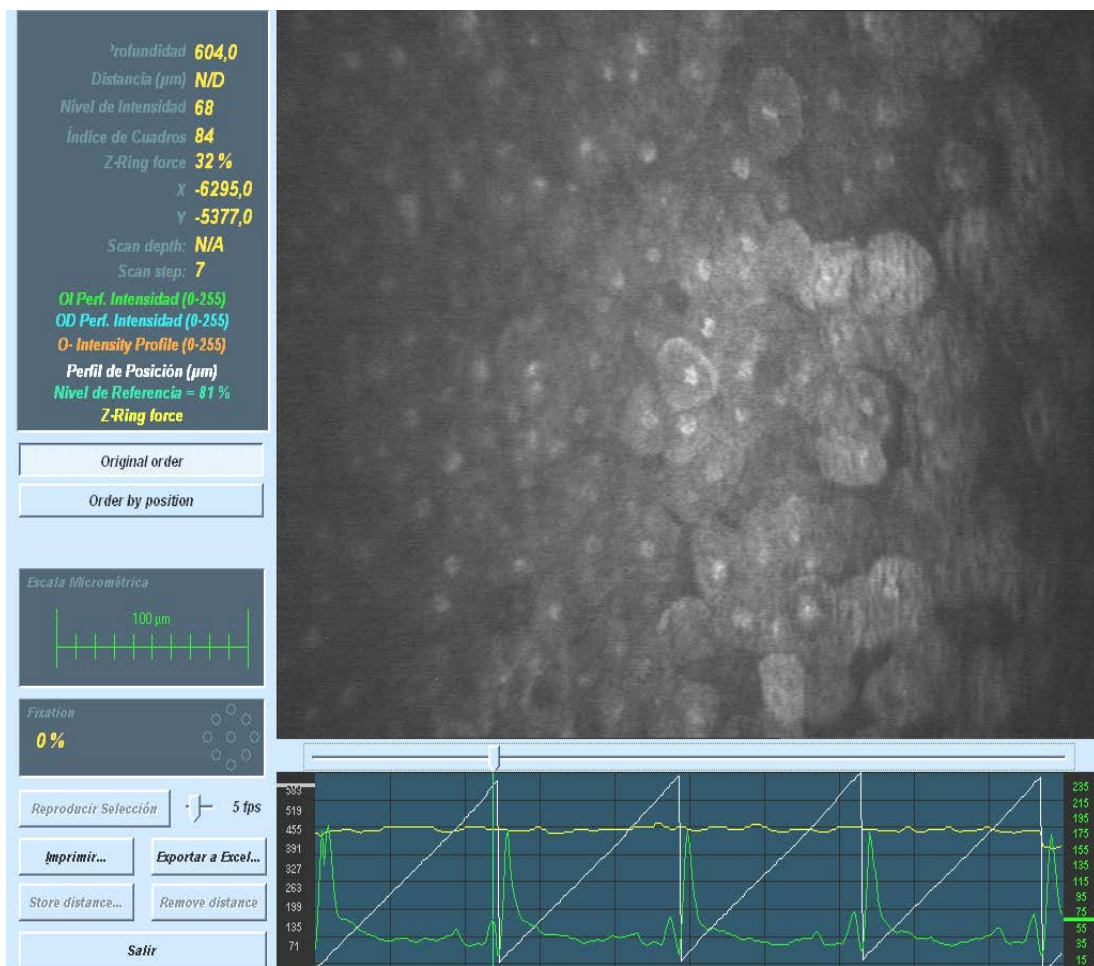
C



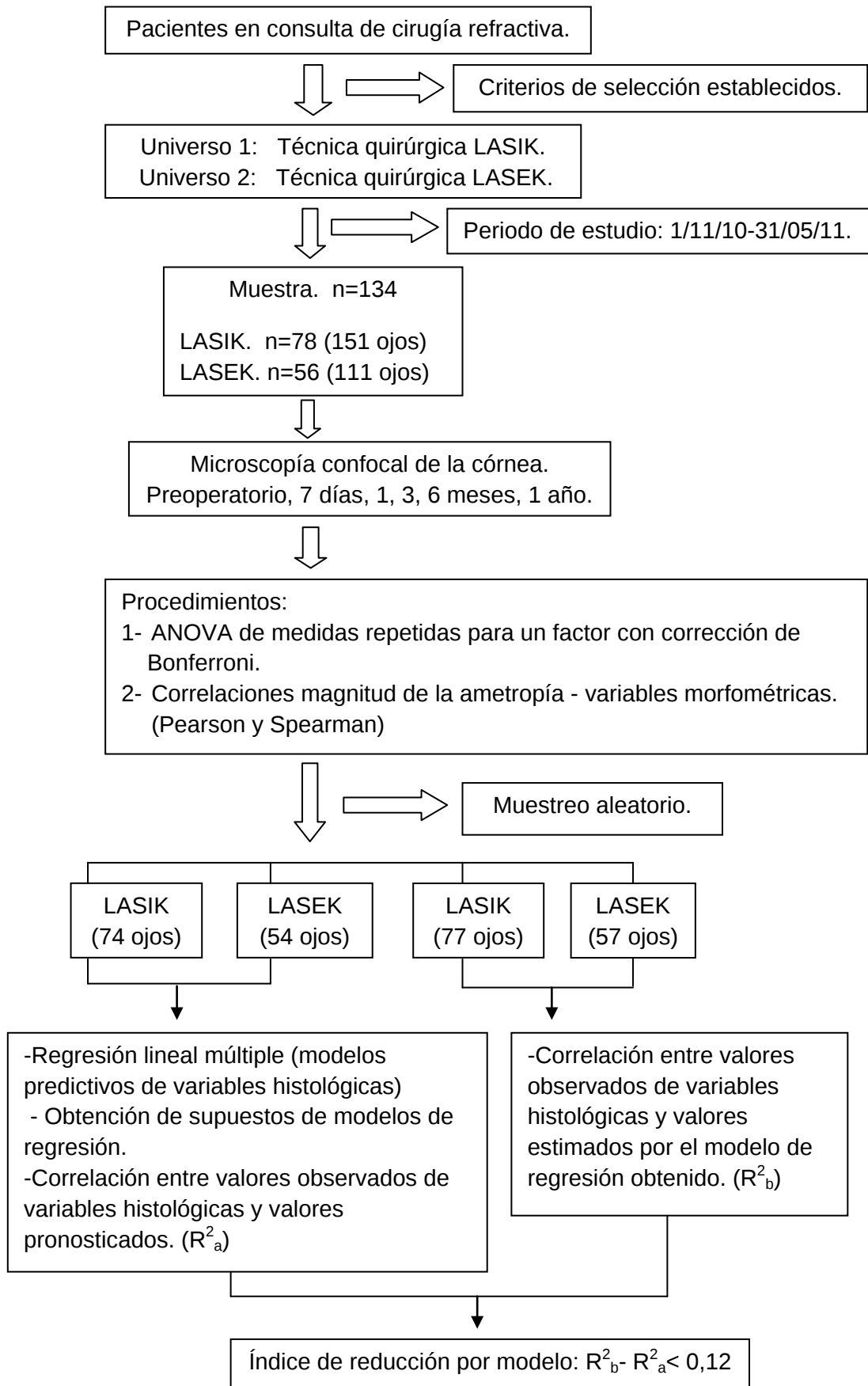
D

Anexo 26: Microscopía confocal cuantitativa de enfoque completo (CMTF), donde se observa en la parte superior derecha la imagen seleccionada: Epitelio apical al año del LASIK.

En la parte superior izquierda se muestran los parámetros de profundidad, distancia, nivel de intensidad, presión del anillo Z, entre otros. En la parte inferior derecha se muestra la calidad de la toma dada por la constancia de la línea amarilla y la uniformidad de la línea blanca. La línea verde corresponde a la reflectividad en forma de picos. Se muestra una imagen de epitelio corneal perteneciente a la primera toma de las 4 existentes.



Anexo 27: Flujoograma del estudio.



Anexo 28: Consentimiento informado.

Se trata de una investigación donde se determinarán los cambios corneales posteriores a la operación que usted se realizará. Los datos que se necesitan conocer se obtienen a partir de la microscopía confocal, un examen que se realizará desde antes de la operación y en cada consulta que tendrá programada posterior a la operación.

¿Por qué se realiza este estudio?

El estudio se realiza en vistas a conocer los cambios microscópicos de la córnea hasta el año de la operación que usted se realizará.

¿Qué tipo de pacientes y cuántos participarán?

Participan en el estudio todos los pacientes que se van a operar su ametropía y así lo deseen, operados durante esta etapa, excepto los que ya han sido operados en una ocasión y los hipermétropes.

¿En qué consiste la investigación?

Si usted acepta participar en el estudio, al final de las consultas que tiene programada cualquier paciente que recibe tratamiento con Láser Excímer, se le realizará además una prueba denominada microscopía confocal que tiene 5 minutos de duración en cada ojo, se realiza en la consulta, con anestesia local, sin efectos adversos.

¿Con qué frecuencia le serán indicadas consultas?

Las consultas tienen la misma frecuencia que los pacientes que no participarán en el estudio, la única diferencia es la realización del examen al final de la consulta. (Frecuencia: preoperatorio, 7 días, 1 mes, 3 meses, 6 meses, 1 año)

¿Qué tiempo permaneceré en el estudio?

Permanecerá en el estudio 1 año.

¿Conllea riesgos mi participación en el estudio?

No conllea riesgos.

¿Qué beneficios puedo obtener con la participación en ésta investigación?

Será estudiado con mayor profundidad su evolución posterior a este tipo de tratamiento.

¿Existirá confidencialidad en el manejo de todo lo referente a mi persona?

Su identidad no será revelada en ninguna publicación científica.

¿Cuáles son los derechos como participante?

Usted puede consultar cada vez que lo desee este documento, puede abandonar el estudio cuando lo desee.

Para considerar la propuesta de participación en el estudio y teniendo suficiente información he decidido tomar parte en la investigación. Para que así conste, firmo el presente consentimiento junto con el médico que me ha dado las explicaciones y un testigo.

De que así ha sido, a los ____ de ____ del 201__ .

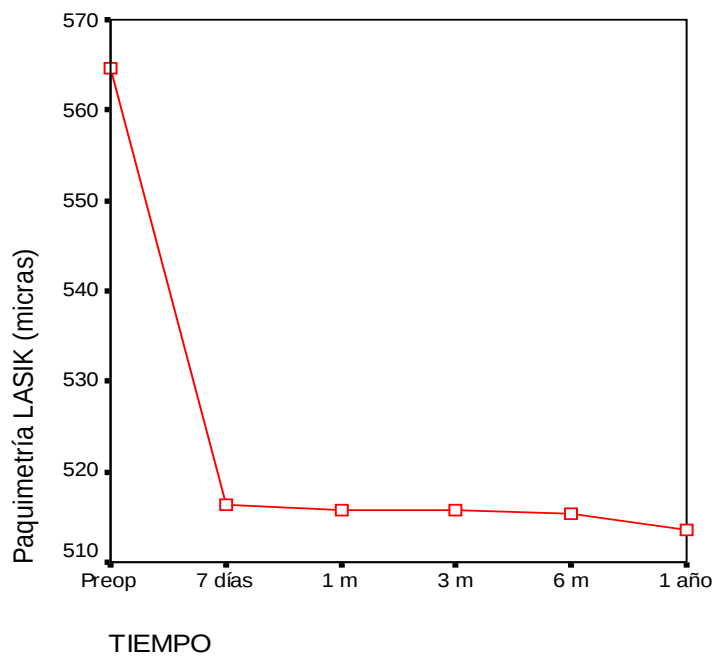
Firma del paciente.

Firma del testigo.

Firma del médico-investigador

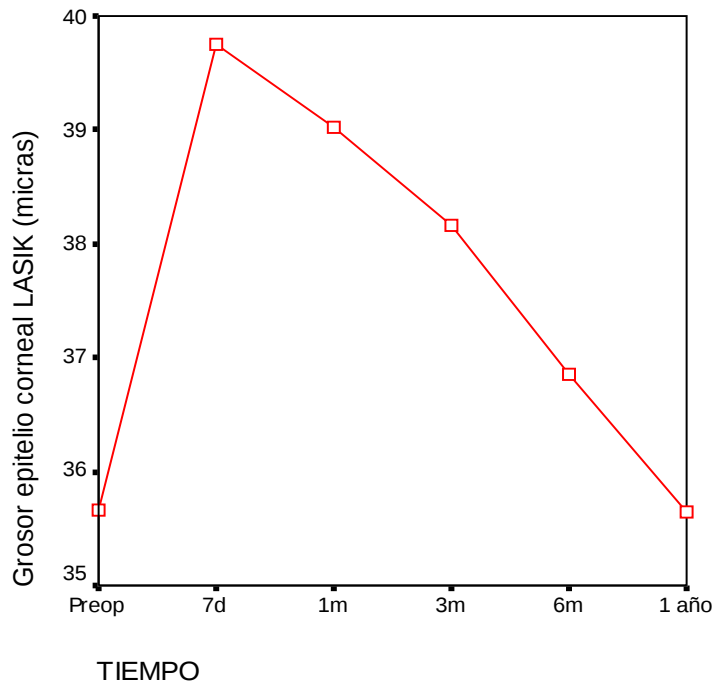
Anexo 29: Gráficos de variables en la técnica LASIK (Gráficos: 1 al 15)

Gráfico 1: Paquimetría (µm) en el LASIK.



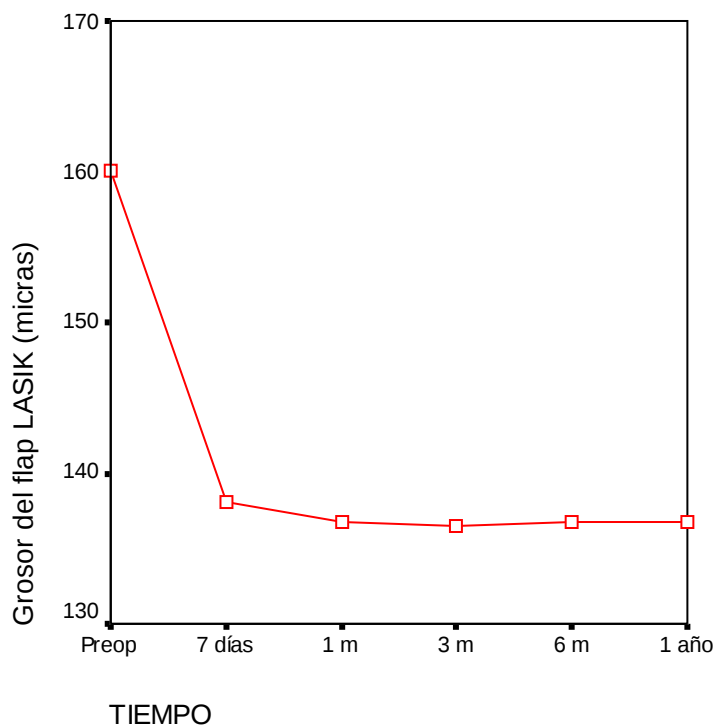
Fuente: Tabla 1.

Gráfico 2: Grosor del epitelio corneal (µm) en el LASIK.



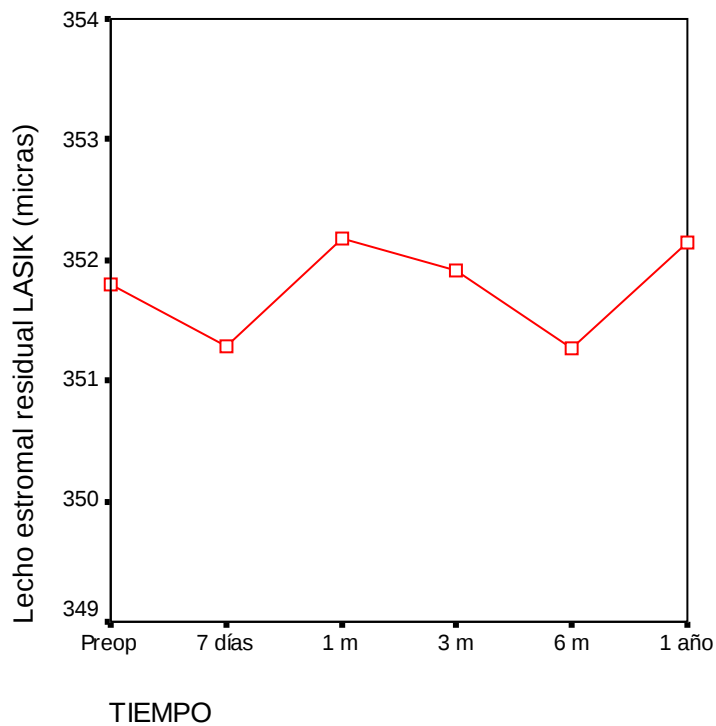
Fuente: Tabla 1.

Gráfico 3: Grosor del colgajo (μm) en el LASIK.



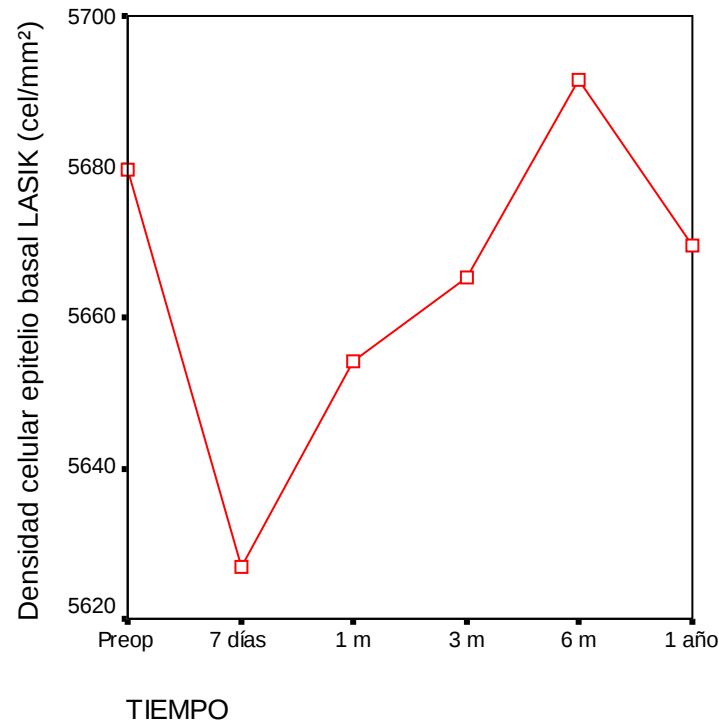
Fuente: Tabla 1.

Gráfico 4: Lecho estromal (μm) residual en el LASIK.



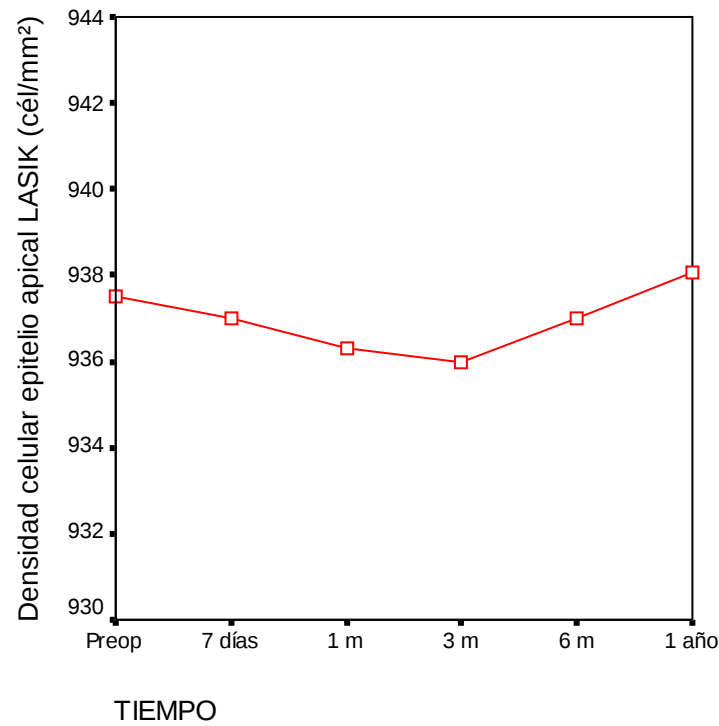
Fuente: Tabla 1.

Gráfico 5: Densidad celular epitelio basal (cél/mm²) en el LASIK.



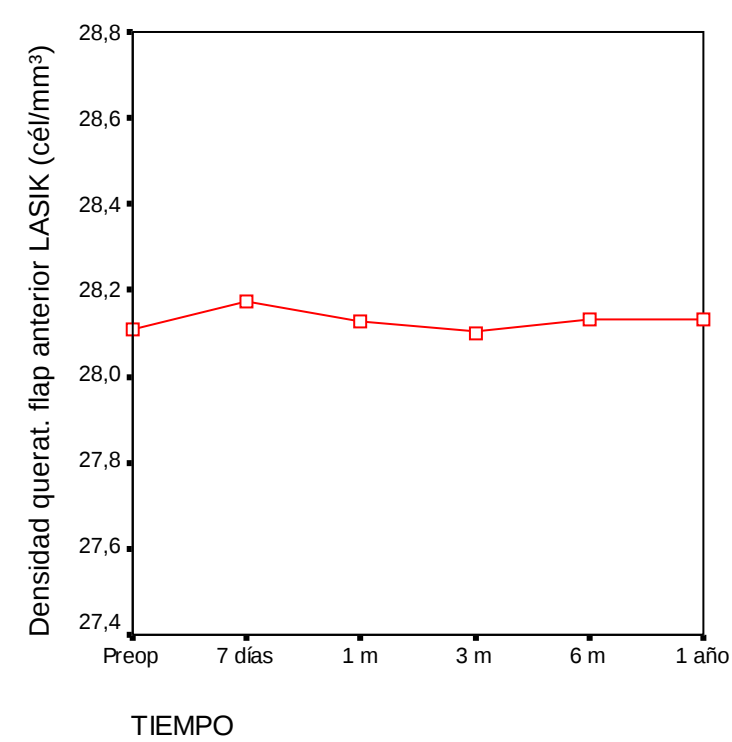
Fuente: Tabla 2.

Gráfico 6: Densidad celular epitelio apical (cél/mm²) en el LASIK.



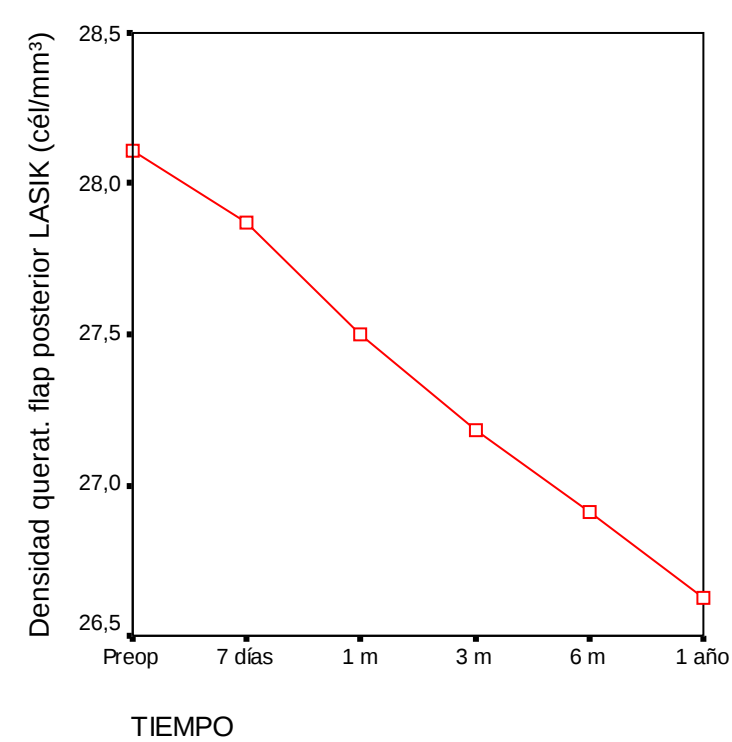
Fuente: Tabla 2.

Gráfico 7: Densidad de queratocitos colgajo anterior (cél/mm³) en el LASIK.



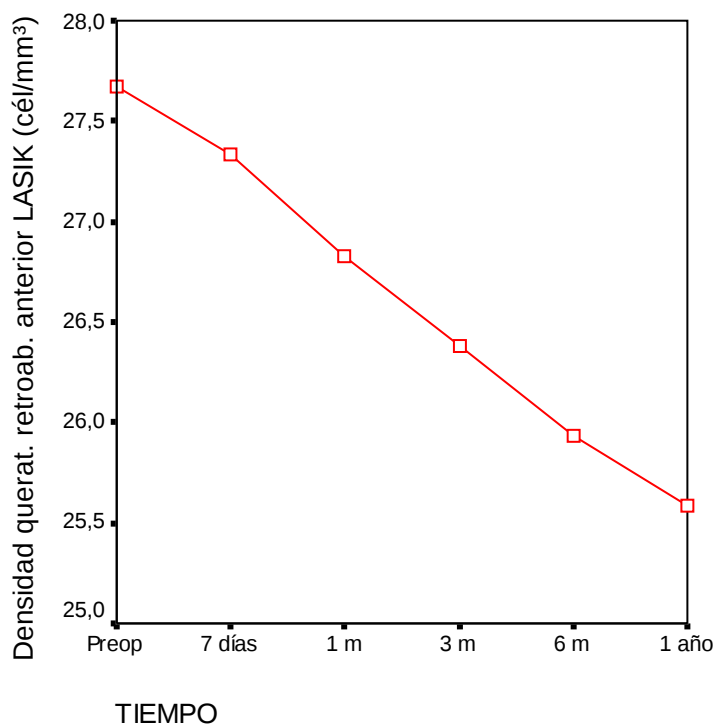
Fuente: Tabla 3.

Gráfico 8: Densidad de queratocitos colgajo posterior (cél/mm³) en el LASIK.



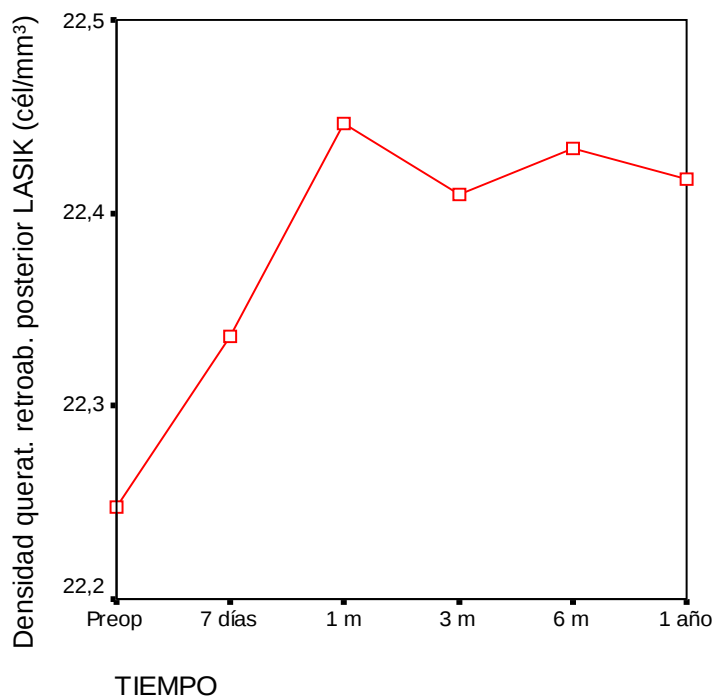
Fuente: Tabla 3.

Gráfico 9: Densidad de queratocitos zona de retroablación anterior (cél/mm³) en el LASIK.



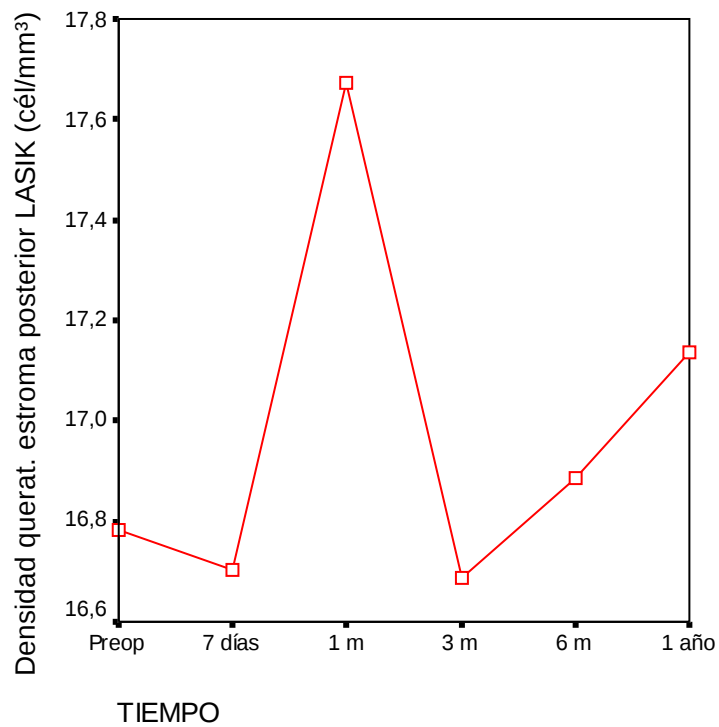
Fuente: Tabla 3.

Gráfico 10: Densidad de queratocitos zona de retroablación posterior (cél/mm³) en el LASIK.



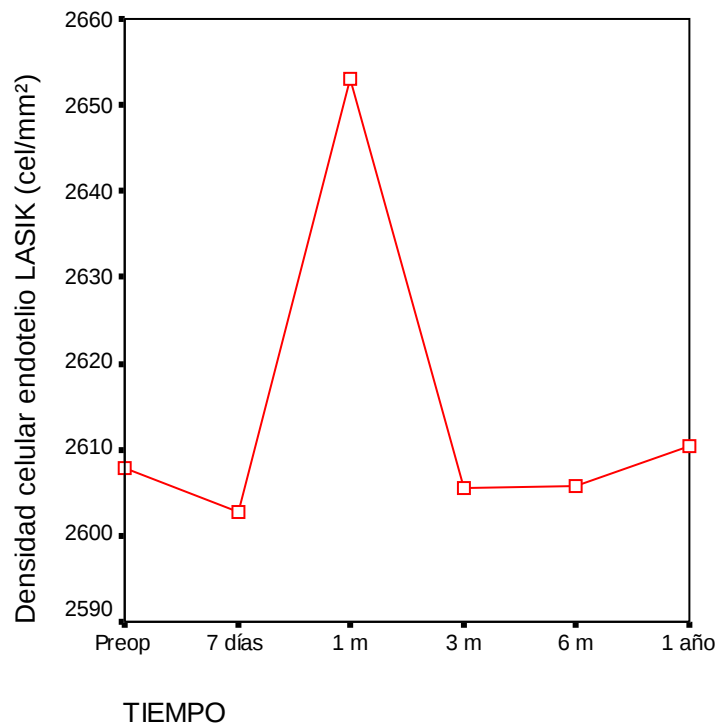
Fuente: Tabla 3.

Gráfico 11: Densidad de queratocitos estroma posterior (cél/mm³) en el LASIK.



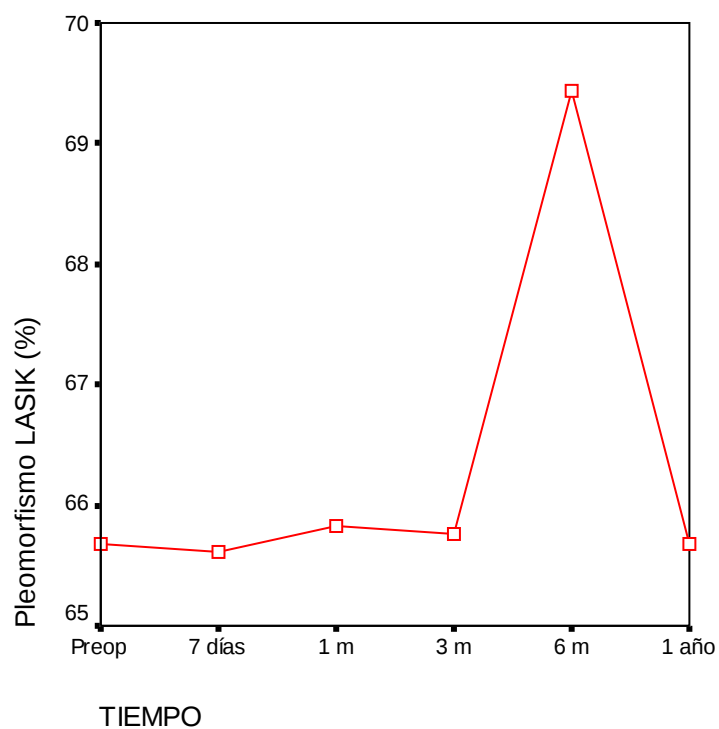
Fuente: Tabla 3.

Gráfico 12: Densidad celular endotelial (cel/mm²) en el LASIK.



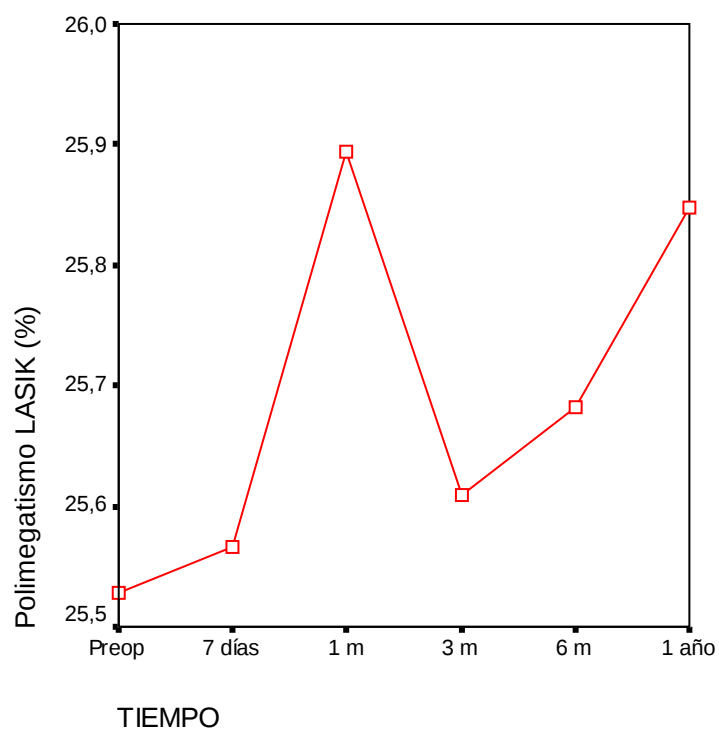
Fuente: Tabla 4.

Gráfico 13: Pleomorfismo (%) en el LASIK.



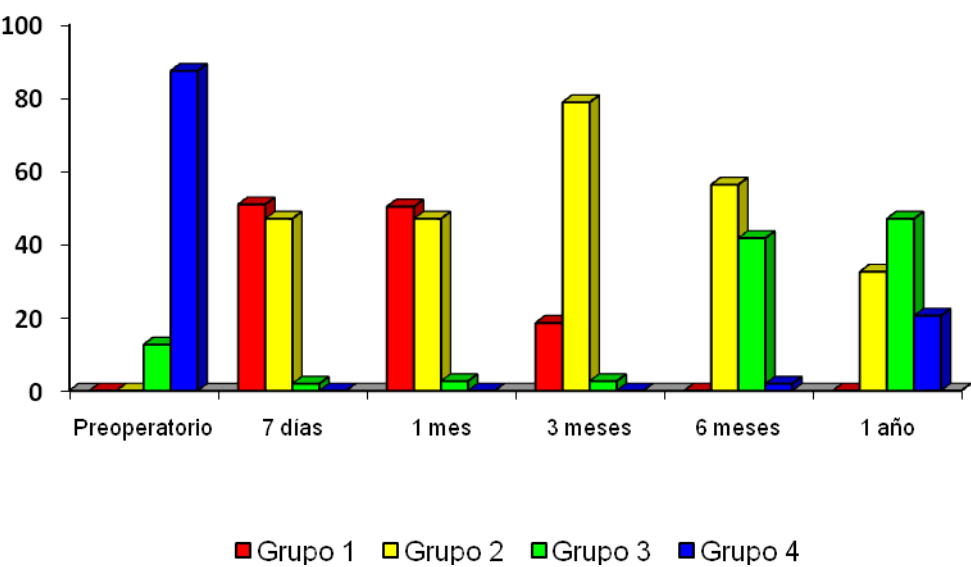
Fuente: Tabla 4.

Gráfico 14: Polimegatismo (%) en el LASIK.



Fuente: Tabla 4.

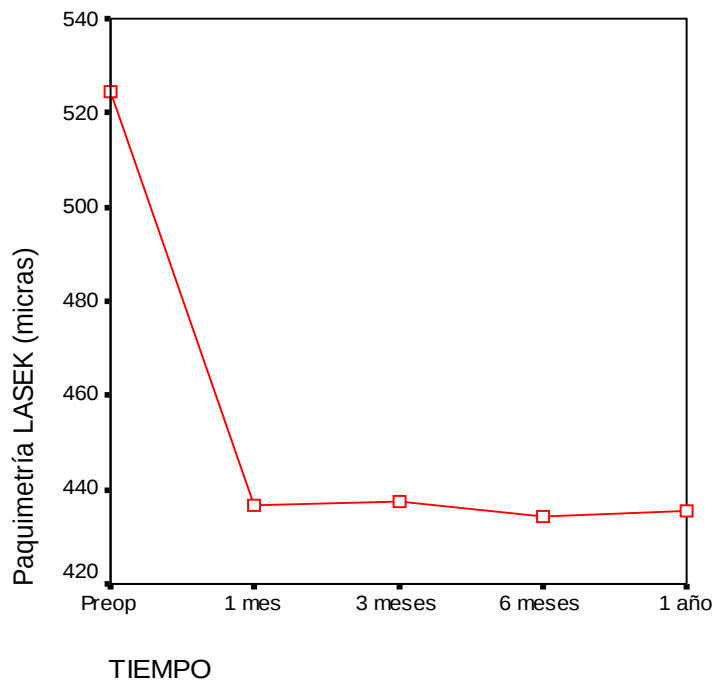
Gráfico 15: Características del plexo nervioso subbasal en el LASIK.



Fuente: Tabla 5.

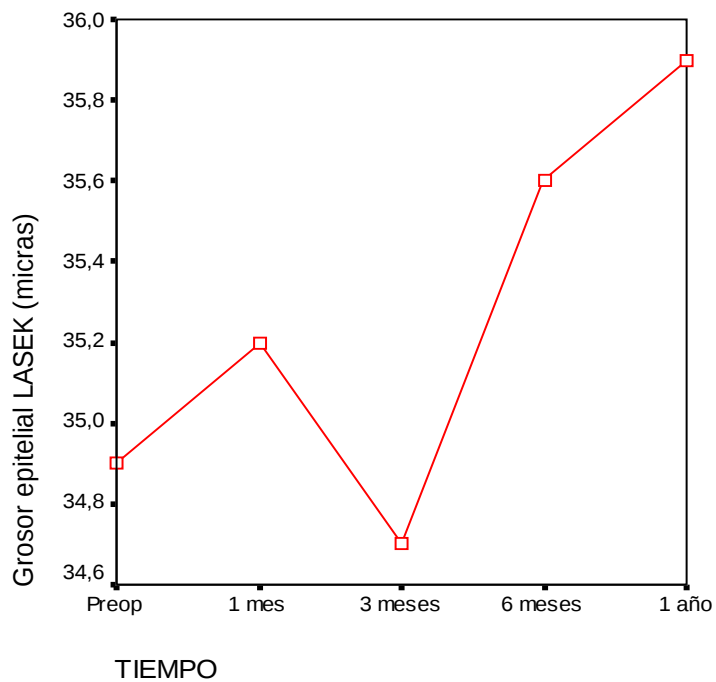
Anexo 30: Gráficos de variables en la técnica LASEK. (Gráficos: 16 al 27)

Gráfico 16: Paquimetría (μm) en el LASEK.



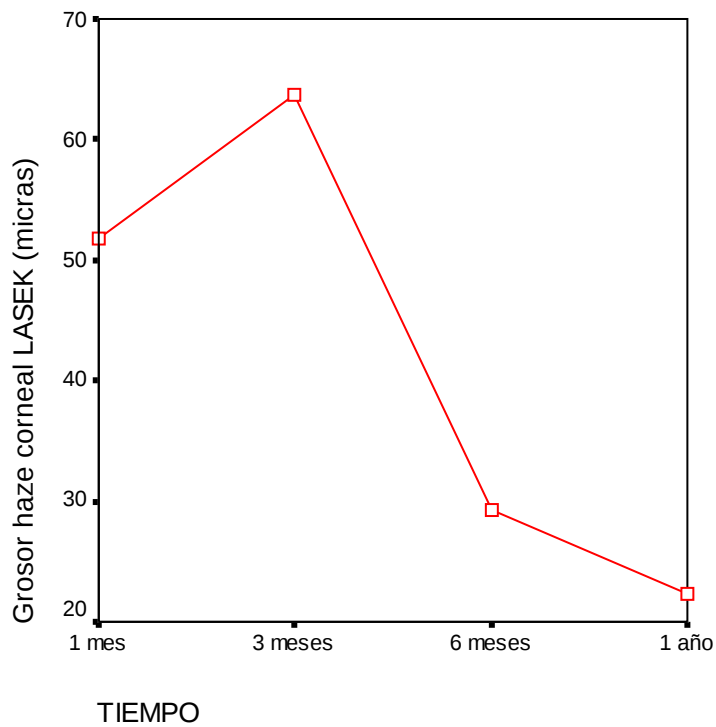
Fuente: Tabla 7.

Gráfico 17: Grosor epitelial (μm) en el LASEK.



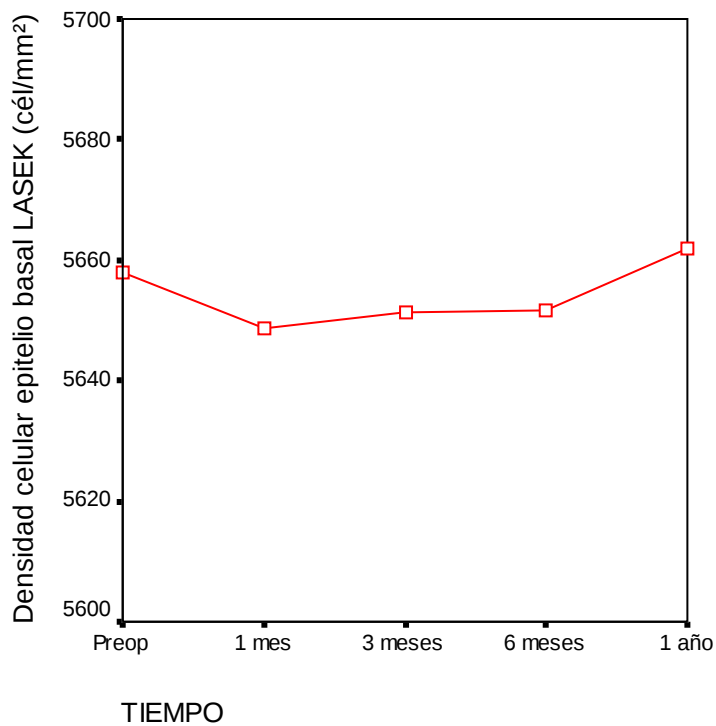
Fuente: Tabla 7.

Gráfico 18: Grosor del haze corneal (μm) en el LASEK.



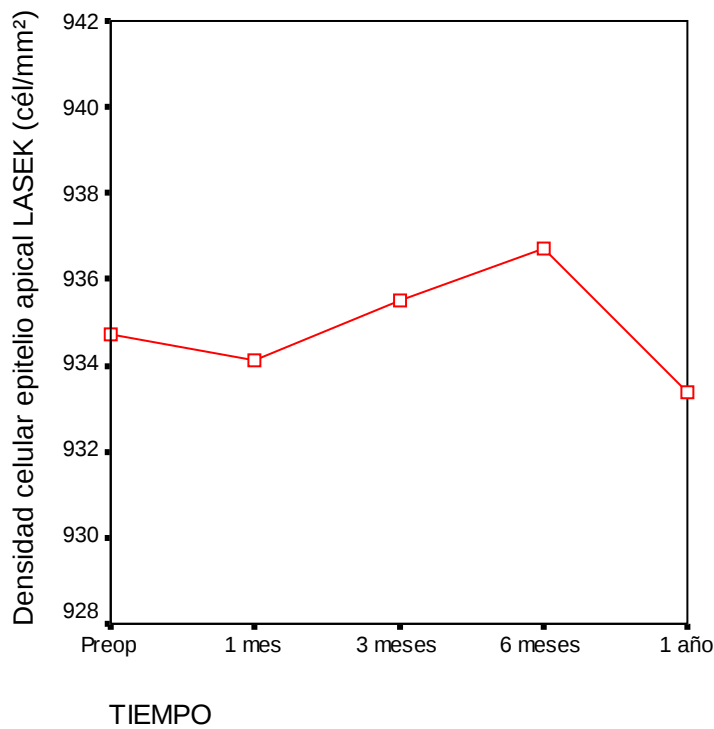
Fuente: Tabla 7.

Gráfico 19: Densidad celular epitelio basal ($\text{cél}/\text{mm}^2$) en el LASEK.



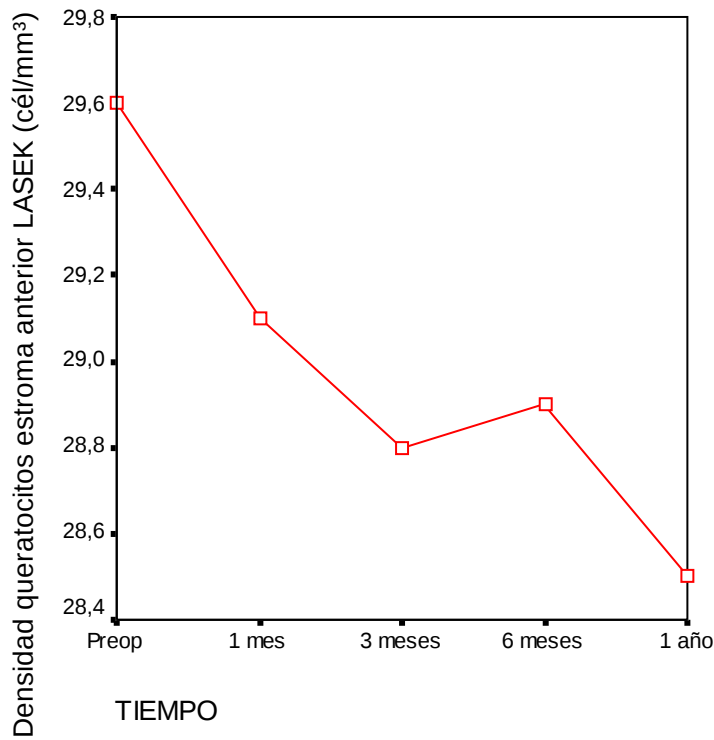
Fuente: Tabla 8.

Gráfico 20: Densidad celular epitelio apical (cél/mm²) en el LASEK.



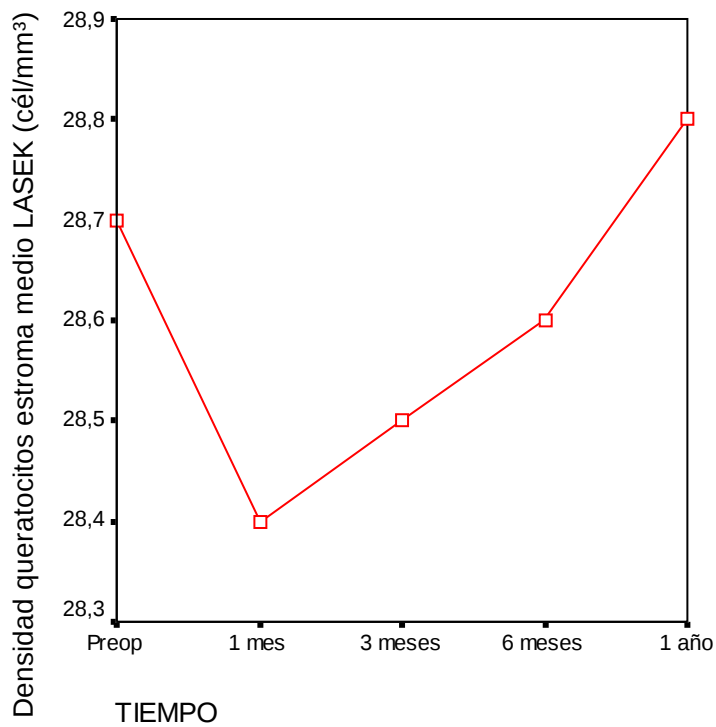
Fuente: Tabla 8.

Gráfico 21: Densidad de queratocitos estroma anterior (cél/mm³) en el LASEK.



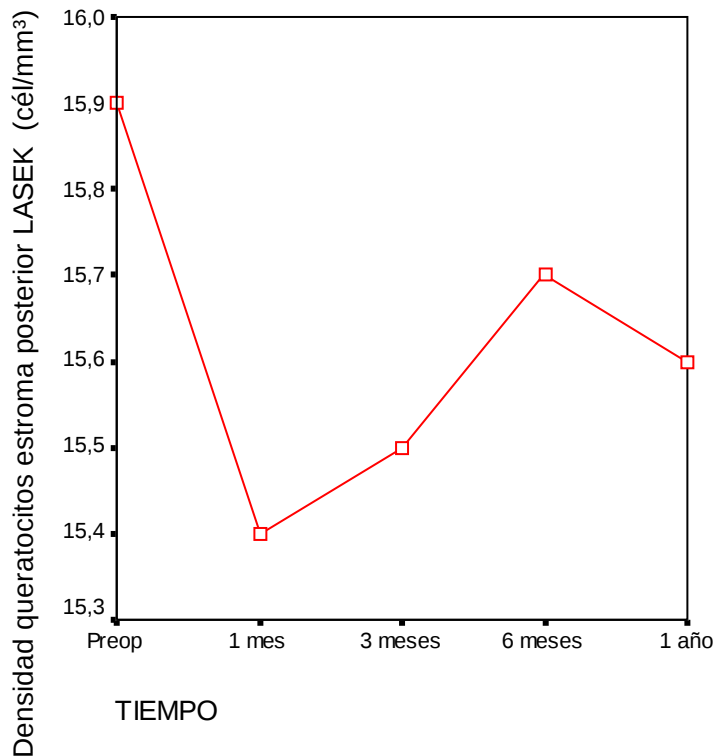
Fuente: Tabla 9.

Gráfico 22: Densidad de queratocitos estroma medio (cél/mm³) en el LASEK.



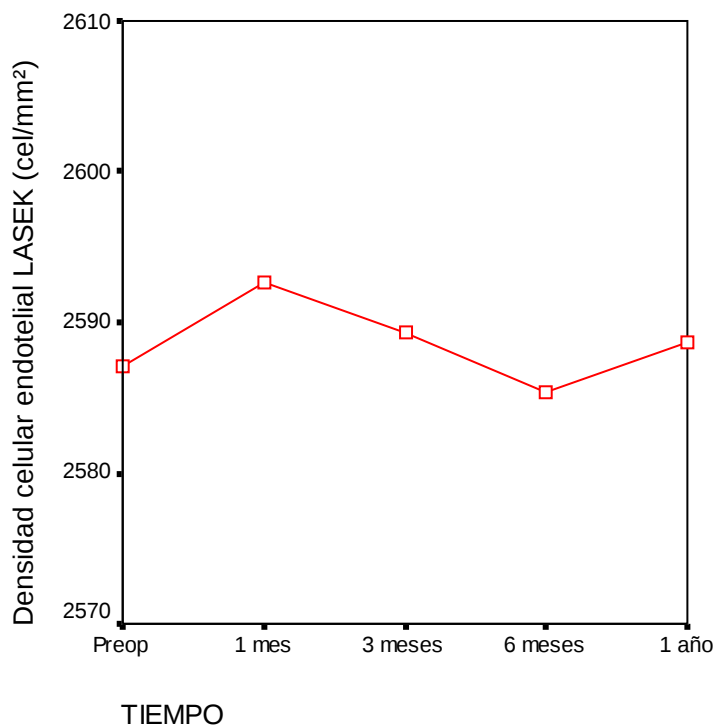
Fuente: Tabla 9.

Gráfico 23: Densidad de queratocitos estroma posterior (cél/mm³) en el LASEK.



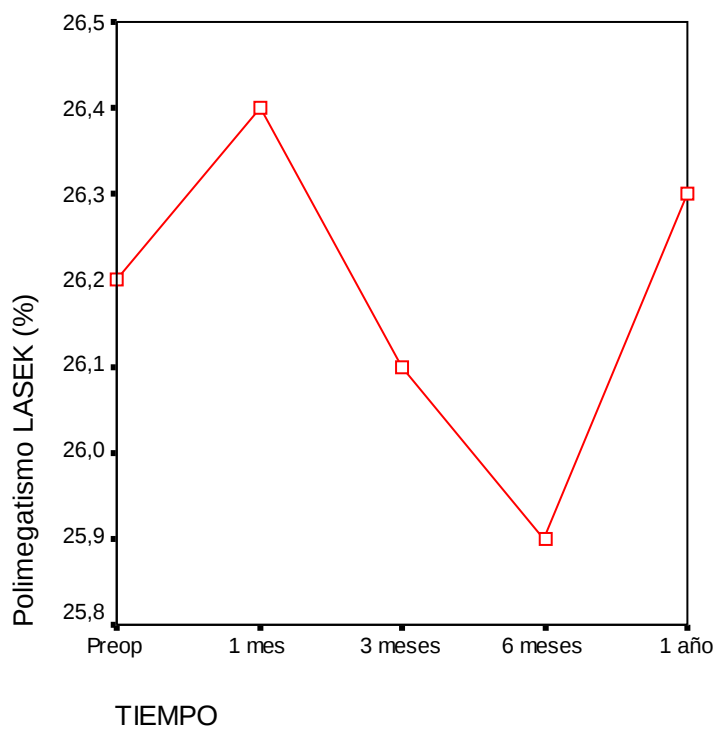
Fuente: Tabla 9.

Gráfico 24: Densidad celular endotelial (cél/mm²) en el LASEK.



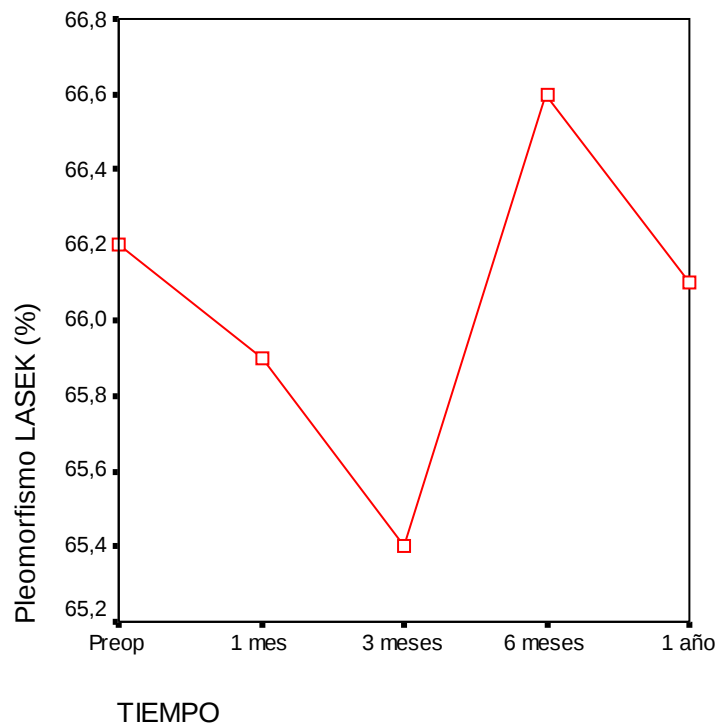
Fuente: Tabla 10.

Gráfico 25: Polimegatismo (%) en el LASEK.



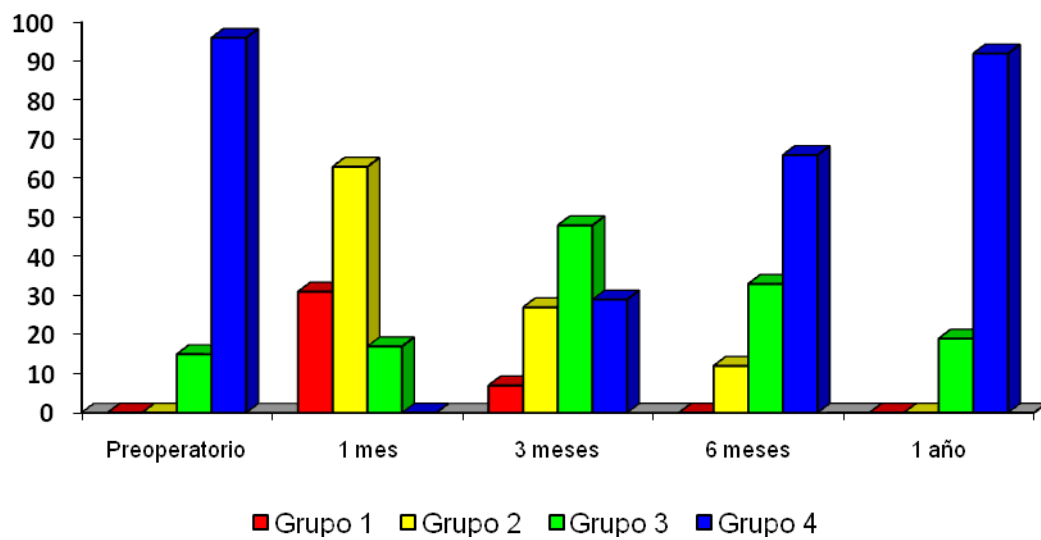
Fuente: Tabla 10.

Gráfico 26: Pleomorfismo (%) en el LASEK.



Fuente: Tabla 10.

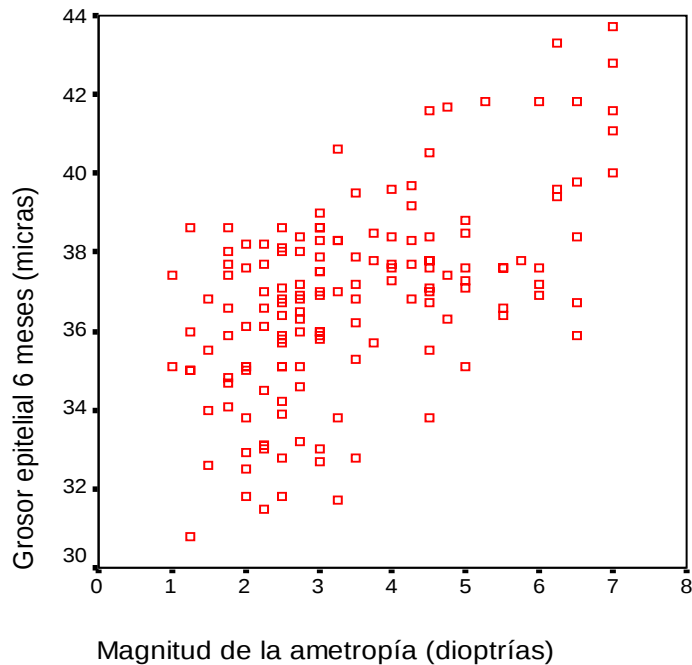
Gráfico 27: Características del plexo nervioso subbasal en el LASEK.



Fuente: Tabla 11.

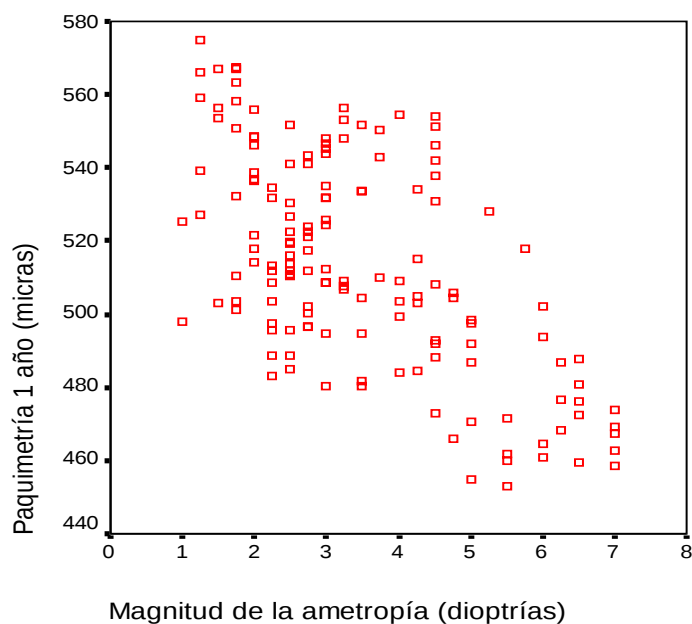
Anexo 31: Gráficos de correlación elevada significativa entre magnitud de la ametropía y variables morfométricas en el LASIK. (Gráficos: 28 al 31)

Gráfico 28: Correlación entre grosor epitelial (μm) y magnitud de la ametropía (dioptrías) en el LASIK.



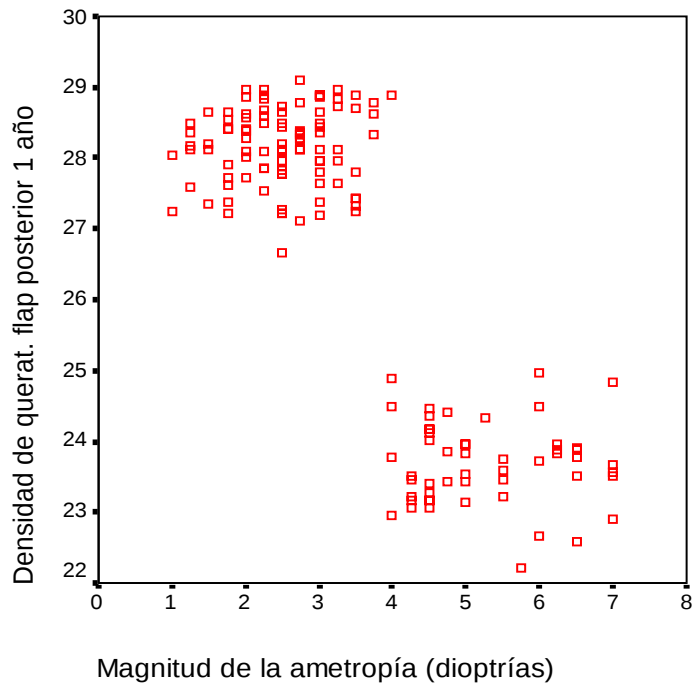
Fuente: Tabla 14.

Gráfico 29: Correlación entre paquimetría (μm) y magnitud de la ametropía (dioptrías) en el LASIK.



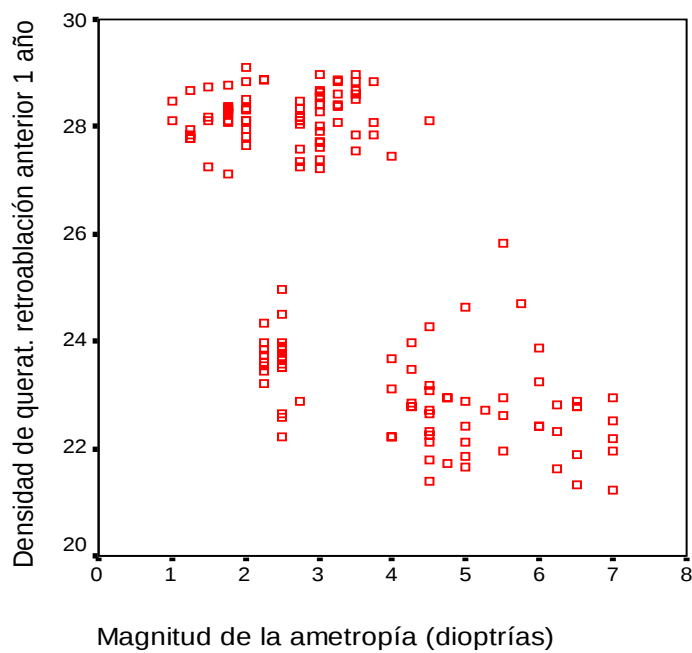
Fuente: Tabla 14.

Gráfico 30: Correlación entre densidad de queratocitos colgajo posterior (cél/mm³) y magnitud de la ametropía (dioptrías) en el LASIK.



Fuente: Tabla 16.

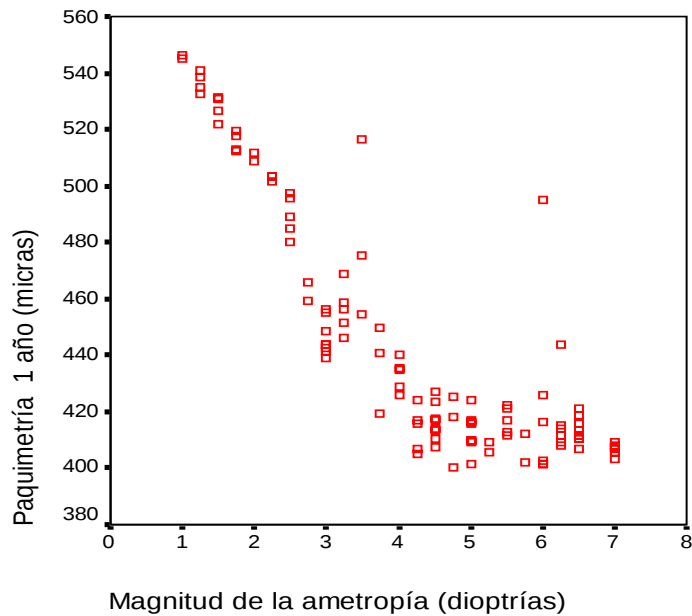
Gráfico 31: Correlación entre densidad de queratocitos zona de retroablación anterior (cél/mm³) y magnitud de la ametropía (dioptrías) en el LASIK.



Fuente: Tabla 16.

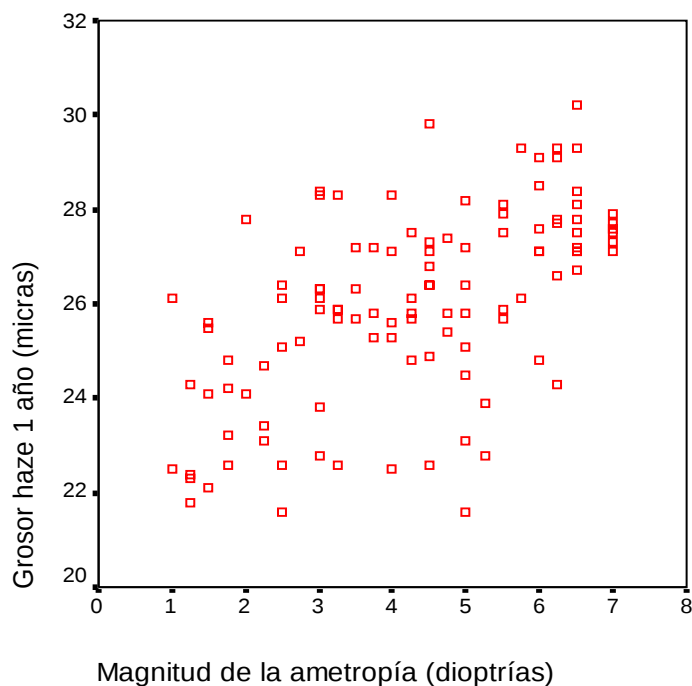
Anexo 32: Gráficos de correlación elevada significativa entre magnitud de la ametropía y variables morfométricas en el LASEK. (Gráficos: 32 al 34)

Gráfico 32: Correlación entre paquimetría (μm) y magnitud de la ametropía (dioptrías) en el LASEK.



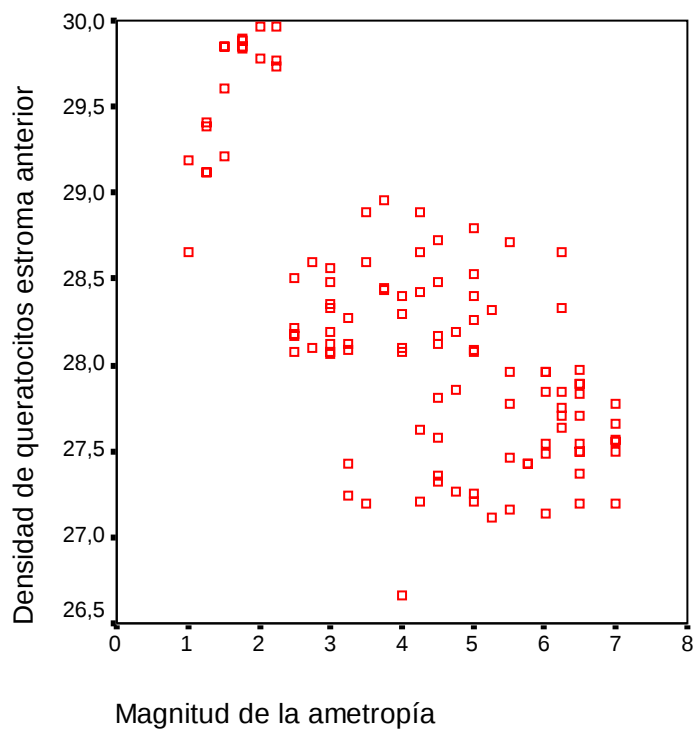
Fuente: Tabla 19.

Gráfico 33: Correlación entre grosor del haz corneal (μm) y magnitud de la ametropía (dioptrías) en el LASEK.



Fuente: Tabla 19.

Gráfico 34: Correlación entre densidad de queratocitos estroma anterior (cél/mm³) y magnitud de la ametropía (dioptrías) en el LASEK.



Fuente: Tabla 21.

Anexo 33: Tabla de Munnerlyn.

DIOPTRÍAS DE MIOPIA	DIÁMETRO DE ABLACIÓN (mm)		
	6,00	6,25	6,50
1	12,00	13,02	14,08
1,25	15,00	16,28	17,60
1,5	18,00	19,53	21,13
1,75	21,00	22,79	24,65
2	24,00	26,04	28,17
2,25	27,00	29,30	31,69
2,5	30,00	32,55	35,21
2,75	33,00	35,81	38,73
3	36,00	39,06	42,25
3,25	39,00	42,32	45,77
3,5	42,00	45,57	49,29
3,75	45,00	48,83	52,81
4	48,00	52,08	56,33
4,25	51,00	55,34	59,85
4,5	54,00	58,59	63,38
4,75	57,00	61,85	66,90
5	60,00	65,10	70,42
5,25	63,00	68,36	73,94
5,5	66,00	71,61	77,46
5,75	69,00	74,87	80,98
6	72,00	78,13	84,50
6,25	75,00	81,38	88,02
6,5	78,00	84,64	91,54
6,75	81,00	87,89	95,06
7	84,00	91,15	98,58
7,25	87,00	94,40	102,10
7,5	90,00	97,66	105,63
7,75	93,00	100,91	109,15
8	96,00	104,17	112,67
8,25	99,00	107,42	116,19
8,5	102,00	110,68	119,71
8,75	105,00	113,93	123,23
9	108,00	117,19	126,75
9,25	111,00	120,44	130,27
9,5	114,00	123,70	133,79
9,75	117,00	126,95	137,31
10	120,00	130,21	140,83
10,25	123,00	133,46	144,35
10,5	126,00	136,72	147,88
10,75	129,00	139,97	151,40
11	132,00	143,23	154,92
11,25	135,00	146,48	158,44
11,5	138,00	149,74	161,96
11,75	141,00	152,99	165,48
12	144,00	156,25	169,00

Anexo 34: Diferencias entre microscopios confocales.

Microscopio	Lente objetivo	Apertura numérica	Tamaño de imagen	RL	RA	DT
TSCM	16x	0,40	640x640	0,5-1,0	-	0,00-8,00
TSCM	24x	0,60	400x400	-	9	0,00-1,5
SSCM	25x	0,65	-	1,4	16	-
SSCM	40x	0,75	340x255	1	25	1,98
SSCM	50x	1,00	-	0,8	10	-
RCM	60x	0,90	400x400	2,0	4	0,00-3,00

TSCM- Microscopio confocal Tandem escáner.

SSCM- Microscopio confocal slit escáner

RCM- Módulo corneal Rostock (Tomógrafo de retina Heidelberg)

RL- Resolución lateral.

RA-Resolución axial.

DT-Distancia de trabajo.

Anexo 35: Estudios de grosor epitelial corneal.

Autor	Método	Muestra	Ametropía	Grosor epitelial
Reinsten DZ. ¹¹¹ 2010	USDAF	65 ojos	Hiperm.	89.3±14.6 µm (3 meses)
Ivarsen A. ³⁶ 2008	CMTF	46 ojos	-6 a -8	+9.0 µm (1 semana)
Reinsten DZ. ²⁹ 2009.	USDAF	37 ojos	-1 a -4 -4.25 a -6 -6.25 a -13	7.41 µm 9.29 µm 12.33 µm
Moilanen JAO ⁷ 2008	TSCM	15 ojos	-10.1	62 µm (2 años)
Patel SV ¹⁰⁹ 2007	CMTF	16 ojos	Miopía	51±4 µm (1 mes) 52±6 µm (7 años)
Erie JC. ¹⁰¹ 2002.	CMTF	18 ojos	-2 a -11	56 µm (1 mes) 54 µm±8 (1 año)
Spadea I ¹¹³ 2000	USDAF	15 ojos	-8.5 a -12.25	+1.9 µm (+2.7%) (7 días) +6.5 µm (+9.5%) (3 meses)

USDAF: Ultrasonido digital de alta frecuencia. (Artemis)

CMTF: Microscopía confocal de enfoque completo (Confoscan 4 Nidek)

TSCM: Microscopio confocal Tandem escáner.

Anexo 36: Estudios cuantitativos de densidad celular epitelial corneal en pacientes normales. (cél/mm²)

Autor	Método	Muestra	Epitelio apical	Epitelio basal	Año
Popper. ¹¹⁵	SSCM	20 ojos	759 ±162	5817 ± 632	2004
Harrison. ¹¹⁶	SSCM	20 ojos	-	5274 ± 575	2003
Vanathi. ³	SSCM	74 ojos	-	3601 ± 408	2003
Mustonen. ¹¹⁷	SSCM	22 ojos	1213 ± 370	5699 ± 604	1998
Tomii. ¹⁴	TSCM	30 ojos	1104± 309	5751 ± 718	1994

SSCM: Microscopio confocal Slit escáner.

TSCM: Microscopio confocal Tandem escáner.

Anexo 37: Estudios cuantitativos de densidad de queratocitos posterior a cirugía refractiva corneal con Láser Excímer. (cél/mm³)

Autor	Método	Muestra (ojos)	Estroma anterior	Estroma posterior	Año
LASIK					
Erie. ¹⁶²	TSCM	17	30417 ± 3612	20328 ± 3477	2004
Pérez. ³⁸	SSCM	12	688 ± 29	-	2003
Mitooka. ¹⁶³	TSCM	17	27049 ± 6430	18281 ± 3516	2002
Pisella. ¹⁶⁴	SSCM	16	-	502 ± 41	2001
LASEK					
Erie ¹⁶⁵	TSCM	23	19 560 ± 3795	16 489 ± 2 985	2003
Frueh ¹⁸	SSCM	18	434 ± 85	403 ± 49	1998

SSCM: Microscopio confocal Slit escáner.

TSCM: Microscopio confocal Tandem escáner.

Anexo 38: Estudios cuantitativos sobre densidad celular endotelial por microscopía confocal. (cél/mm²)

Autor	Método	Muestra	Densidad endotelial	Año
Popper. ¹¹⁵	SSCM	20 ojos	2743 ± 285	2004
Klais. ¹⁷⁹	SSCM	42 ojos	3069 ± 285	2003
Hara. ¹⁸⁰	SSCM	28 ojos	2916 ± 334	2003
Vanathi. ³	SSCM	74 ojos	2818 ± 31	2003
Hollingsworth. ¹⁸¹	SSCM	120 ojos	3061 ± 382	2001
Patel. ¹⁸²	TSCM	20 ojos	2735 ± 236	2002

SSCM: Microscopio confocal Slit escáner.

TSCM: Microscopio confocal Tandem escáner.

PUBLICACIONES:

- 1- **Eduardo Rojas Alvarez**, Janet González Sotero. *Excímer Láser y microscopía confocal: plataformas tecnológicas de la visión del futuro*. Revista MEDISAN. 2013;17(2).
- 2- **Eduardo Rojas Alvarez**, Janet González Sotero. *LASIK versus LASEK desde la perspectiva morfométrica corneal in vivo*. Revista Mexicana de Oftalmología 2013;87(3).
- 3- **Eduardo Rojas Alvarez**, Janet González Sotero, Ariadna Pérez Ruiz. *Plexo nervioso subbasal y su relación con la magnitud de la ametropía en el LASIK*. Revista Cubana de Oftalmología. 2013;26(1).
- 4- **Eduardo Rojas Alvarez**, Janet González Sotero, Iramis Miranda Hernández, Ariadna Pérez Ruiz. *Epitelio corneal versus magnitud del defecto refractivo en el LASIK*. Revista Cubana de Oftalmología. 2013;26(2).
- 5- **Eduardo Rojas Alvarez**, Janet González Sotero. *Microscopía confocal en cirugía refractiva corneal: ¿útil o imprescindible?* Revista Cubana de Oftalmología. 2013;26(2).
- 6- **Eduardo Rojas Alvarez**, Janet González Sotero. *Morfometría corneal in vivo versus magnitud de la ametropía en pacientes operados con Láser de excímeros por la técnica LASIK*. Revista Vision Pan-America. 2012;11(4).
- 7- **Eduardo Rojas Alvarez**, Janet González Sotero, Ariadna Pérez Ruiz, Rolando Iviricu Tielves. *Cirugía refractiva corneal por queratomileusis in*

situ asistida por Láser de excímeros. Rev. Ciencias Médicas Pinar del Río. 2012;16(5).

- 8- **Eduardo Rojas Alvarez**, Janet González Sotero, Ariadna Pérez Ruiz. *Densidad celular corneal en pacientes sanos, estudio in vivo por microscopía confocal*. Revista Electrónica Zoilo Marinello Vidaurreta. 2012;37(10).
- 9- Janet González Sotero, Haymy C. Casanueva Cabeza, Maygret Alberro Hernández, **Eduardo Rojas Alvarez**. *Microscopía confocal en las distrofias corneales*. Arch. Oft. Buenos Aires. 2011; 82(1): 33-39.
- 10- **Eduardo Rojas Alvarez**, Iramis Miranda Hernández, Yanele Ruiz Rodríguez, Janet González Sotero. *Extracción de cristalino transparente en pacientes hipermetropes*. Revista Cubana de Oftalmología. 2011; 24 (1).

EVENTOS CON INVESTIGACIONES PRESENTADAS SOBRE EL TEMA:

- 1- XXXVIII Concurso Premio Anual de Salud 2013.
Premio Investigación Aplicada.
- 2- VII Congreso Internacional de Oftalmología. XV Congreso Cubano de Oftalmología. La Habana. 2013.
- 3- Convención Científica Calixto García 2013.
- 4- 19ª Jornada Provincial de Oftalmología, 6º Aniversario del Centro Oftalmológico. 2013.
- 5- V Taller Nacional de Córnea y Cirugía Refractiva. 2012.
- 6- Primer Congreso Virtual de Ciencias Morfológicas. Primera Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal. MORFO 2012.
- 7- 2da Jornada Juan Santos Fernández in memoriam. Hospital Calixto García. 2012.
- 8- Jornada Científica XXIV Aniversario del Centro de Microcirugía Ocular. V Taller Nacional de Catarata. Abril 2012.
- 9- Convención Científica Calixto García 2012.

- 10-Jornada Científico Profesor y de Profesionales de la Salud. 2012.
- 11-2da Reunión Científica Anual de Oftalmología. Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras. 2011.
- 12- Jornada Científica XXIII Aniversario del Centro de Microcirugía Ocular. ICO Ramón Pando Ferrer. 2011.
- 13- Convención Calixto García 2011.
- 14-Jornada Científica Día Mundial de la Visión.2011.
- 15- VIII Conferencia Científica Metodológica. 2011.
- 16-XVIII Jornada Provincial de Oftalmología “V Aniversario de la Misión Milagro” Pinar del Río. 2011.
- 17- Convención Científica del Hospital y la Facultad Calixto García. 2010.
- 18- Jornada Científica por el XXII Aniversario del Centro de Microcirugía Ocular. 2010.
- 19- XVI Jornada Científico Profesor y de Profesionales de la Salud. II Convención de Salud Dr. Abelardo Ramírez Márquez, in memoriam. 2010.