

## Modificaciones en la estructura celular por microscopia confocal en pacientes con queratocono tratados por *crosslinking*

### Changes in the cell structure of patients with keratoconus under cross-linking treatment by using confocal microscopy

Dra. Madelyn Jareño Ochoa, Dra. Zaadia Pérez Parra, Dra. Keyly Fernández García, Dra. Alexeide de la Caridad Castillo Pérez, Dra. Elizabeth Escalona Leyva, Dra. Yanele Ruíz Rodríguez

Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**Objetivo:** describir las modificaciones en la estructura celular corneal después del tratamiento con *crosslinking* en pacientes con queratocono.

**Métodos:** la muestra estuvo conformada por 30 pacientes (30 ojos) con queratocono progresivo a los que se les realizó *crosslinking* del colágeno corneal y microscopia confocal. Se analizaron como variables las alteraciones en los plexos nerviosos sub-basal y subepitelial, en los nervios estromales, las modificaciones de los queratocitos en estroma anterior y medio, los cambios de las células endoteliales, la profundidad del tratamiento, así como la presencia y evolución del *haze* y el edema estromal.

**Resultados:** los plexos nerviosos sub-basal y subepitelial estuvieron ausentes durante el primer mes, hubo una recuperación parcial a los 6 meses (73,3 %) y total al año. Las fibras nerviosas estromales estuvieron ausentes al mes, a los 6 meses se recuperaron en 96,7 % y de manera total al año. Se encontró alteración de la morfología de los queratocitos del estroma anterior y medio en el primer mes (96,7 %), con inicio de la repoblación celular en 83,3 % a los 3 meses y al año se evidenció una regeneración total. El edema estromal estuvo presente en el primer mes en 83,3 % de los casos, solo en 3,3 % a los 6 meses y al año no hubo ningún paciente. El *haze* se observó al mes y a los tres meses en el 100 % de los pacientes, predominó al mes en el grado II, a los seis meses con grado I y disminuyó a 60 % sin *haze* al año. No se encontraron alteraciones en la morfología o densidad de las células endoteliales.

**Conclusiones:** los resultados obtenidos reafirman los criterios de que el *crosslinking* del colágeno corneal es un método de tratamiento seguro.

**Palabras clave:** queratocono, microscopia confocal, *crosslinking*.

---

## ABSTRACT

**Objective:** to describe the changes of the corneal cellular structure of patients with keratoconus after the cross-linking treatment.

**Methods:** the sample was made up of 30 eyes from 30 patients, who had progressive keratoconus and were treated with corneal collagen crosslinking and confocal microscopy. The analyzed variables were the alterations in the sub-basal and sub-epithelial nervous plexuses, in the stromal nerves, the changes in keratocytes in the anterior and medium stroma, the changes of the endothelial cells, the depth of treatment as well as the presence and the progression of haze and the stromal edema.

**Results:** there no sub-basal and sub-epithelial nervous plexuses during the first month, there were re-innervations after 6 months in 73,3 % of eyes and total recovery after 12 months. Likewise, there was no stromal nervous fibers in the first month, but after 6 months they were recovered in 96,7 % of patients and the total recovery was attained after a year. Rarefaction of the keratocytes in the anterior and the medium stroma was found during the first month in 96,7 % of cases, the onset of the cell repopulation was observed after 3 months in 83,3 % of cases and a total regeneration was evident after 1 year. The stromal edema was present in the first month in 83,3 % of cases, 6 months later was seen in 3.3 % and after 1 year, no patient was affected. Haze was identified on the first month and after 3 months in 100 % of patients. The haze grade II predominated in the first month, the grade I after 6 months and 60 % of patients presented with no haze after a year.

**Conclusions:** the obtained results confirmed the criteria which establish that the corneal collagen crosslinking is a safe treatment method.

**Key words:** keratoconus, confocal microscopy, crosslinking.

---

## INTRODUCCIÓN

El queratocono es una enfermedad no inflamatoria en la cual la córnea adopta una forma cónica debido al adelgazamiento y protrusión. Se presenta en la pubertad y progresa hasta la tercera o cuarta década de la vida. La incidencia es de 1 / 2 000 casos en la población. Clínicamente esta ectasia conduce a miopía y astigmatismo irregular.<sup>1</sup>

La etiología aún no está bien esclarecida. Surge comúnmente de la combinación de factores genéticos y ambientales.<sup>2</sup>

La resistencia biomecánica de la córnea depende de los enlaces covalentes entre las moléculas de colágeno. En el queratocono, los queratocitos activados invaden la membrana de Bowman previamente alterada, con apoptosis posterior de estos, pérdida del estroma anterior y se provoca un adelgazamiento progresivo corneal. En el queratocono la resistencia estromal disminuye en un 50 %.<sup>3</sup>

El *crosslinking* del colágeno corneal inducido, es una reacción de polimerización de las fibras estromales mediante la acción de una sustancia fotosensibilizante (riboflavina) y la radiación ultravioleta.<sup>3</sup> La riboflavina tiene un efecto protector al paso de la irradiación hacia estructuras más profundas; además libera radicales libres al ser estimulada con la luz que conduce a la formación de nuevas uniones covalentes entre las moléculas del colágeno. El tratamiento produce incremento en la resistencia del tejido y grosor de la

---

fibra de colágeno, esto puede enlentecer o detener la progresión de la queratectasia. Hasta ahora es el único medio descrito para actuar en la fisiopatología del queratocono.<sup>4,5</sup>

La microscopia confocal ofrece la capacidad de obtención de cortes ópticos seriados de forma no invasiva en organismos vivos. En la córnea permite que puedan hacerse múltiples exámenes al mismo tejido, en el tiempo. Existen numerosos sistemas de imagen confocal. En el Confoscan 4, dos haces de luz se encuentran en planos ópticos conjugados y un módulo de *scanning* mueve la imagen del haz a lo largo de la córnea en tiempo real.<sup>6</sup> Esta técnica muestra todas las capas de la córnea en condiciones fisiológicas o patológicas,<sup>2</sup> y condiciona la posibilidad de seguimiento de los cambios o modificaciones en la estructura celular corneal después de tratamientos quirúrgicos a ese nivel. Por todo esto, permite analizar los procesos celulares ocurridos luego del tratamiento con *crosslinking* del colágeno corneal en pacientes con queratocono, como la necrosis y repoblación de los queratocitos, y la regeneración de los plexos nerviosos.

Se realizó un estudio para describir las modificaciones en la estructura celular corneal posterior al tratamiento con *crosslinking* en pacientes con queratocono. Se determinó las alteraciones en los plexos nerviosos sub-basal y subepitelial en los nervios estromales, la profundidad del tratamiento por el área de transición vertical, la presencia y evolución del haze y del edema estromal; así como el comportamiento de los queratocitos y de las células endoteliales después del procedimiento.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo, de serie de casos entre junio de 2009 y octubre de 2010 en el Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". Se estudiaron 30 pacientes (30 ojos), con diagnóstico de queratocono progresivo y tratamiento con *crosslinking* del colágeno corneal. A estos se les realizó microscopia confocal con el Confoscan 4 de la Nidek en el preoperatorio, al mes, a los 3, 6 y 12 meses del tratamiento. Se investigaron las alteraciones en los plexos nerviosos sub-basal y subepitelial, en los nervios estromales, las modificaciones de los queratocitos en estroma anterior y medio, los cambios de las células endoteliales, la profundidad del tratamiento por el área de transición vertical (ATV), la presencia y evolución del haze por grados y del edema estromal. Se excluyeron los pacientes que no asistieron a los exámenes programados y los que no cooperaron en la realización del examen.

El protocolo de tratamiento consistió en la desepitelización en los 9 mm de diámetro de la córnea central, con instilación posterior de Medio-Cross (fosfato de riboflavina / dextrán 0,1 %) cada 5 minutos por 30 minutos antes y durante la irradiación de luz ultravioleta, que se aplicó en los 7 mm centrales.<sup>7</sup> Al finalizar el tratamiento se colocó el lente de contacto blando terapéutico que se retiró a los 4 días, con epitelización total de la córnea. En el posoperatorio se indicó colirios esteroideos, antibióticos y lágrimas artificiales. El sistema de radiación UV-X que se utilizó cumplía los siguientes parámetros: rango de longitud de onda, 370 nm; intensidad de iluminación, 3,0 mW / cm<sup>2</sup>; distancia de trabajo, 50 mm; emisión de luz, onda continua; diámetro de iluminación, pequeña (7 mm); poder eléctrico, 100V a 240V.

Los resultados se resumieron en tablas y gráficos, expresados en frecuencias absolutas y relativas. La investigación cumplió con los aspectos éticos relacionados con el paciente.

## RESULTADOS

Los plexos nerviosos sub-basal y subepitelial no se observaron en el área irradiada al mes de la intervención en la totalidad de los casos. La reinervación comenzó a los 3 meses en 66,7 % de los pacientes. Fue evidente la recuperación total de los plexos a los 6 meses en 73,3 % y a los 12 meses en el 100 % de los casos (tabla 1).

**Tabla 1.** Comportamiento de los plexo sub-basal y subepitelial por microscopia confocal

Aspectos	1 mes		3 meses		6 meses		12 meses	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Ausencia de fibras nerviosas	30	100,0	10	33,3	2	6,7	-	-
Inicio de la reinervación	-	-	20	66,7	6	20,0	-	-
Reinervación total	-	-	-	-	22	73,3	30	100,0
Total	30	100,0	30	100,0	30	100,0	30	100,0

Las fibras nerviosas estromales presentaron un comportamiento similar al de los plexos nerviosos. Estas estuvieron ausentes al mes y la reinervación se inició en 66,7 % de los pacientes a los 3 meses. A los 6 meses se recuperaron en 96,7 % de los casos para completarse en la totalidad de los pacientes al año del procedimiento (tabla 2).

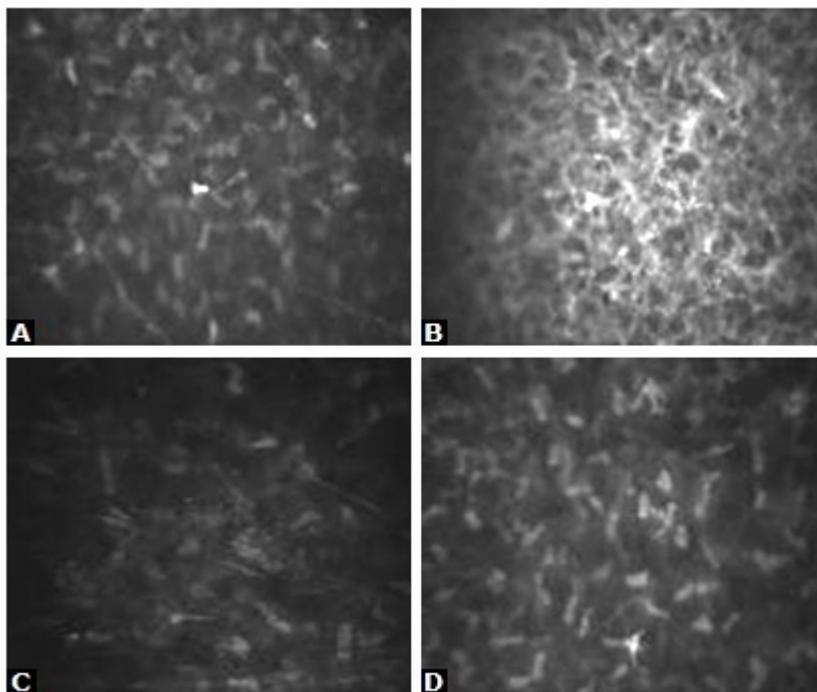
**Tabla 2.** Comportamiento de las fibras nerviosas estromales por microscopia confocal

Aspectos	1 mes		3 meses		6 meses		12 meses	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Ausencia de fibras nerviosas	30	100,0	10	33,3	-	-	-	-
Inicio de la reinervación	-	-	20	66,7	1	3,3	-	-
Reinervación total	-	-	-	-	29	96,7	30	100,0
Total	30	100,0	30	100,0	30	100,0	30	100,0

En 96,7 % de los pacientes hubo alteración en la morfología de los queratocitos del estroma anterior y medio al primer mes del tratamiento. La repoblación celular comenzó a los tres meses en 83,3 % y fue evidente su recuperación a los 6 meses en 96,7 % (tabla 3). Al año en el 100 % de los casos se encontró regeneración total de los queratocitos. (Fig. 1).

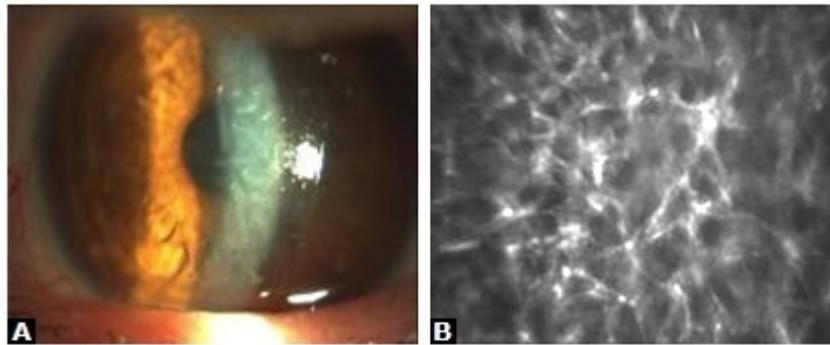
**Tabla 3.** Comportamiento de los queratocitos en estroma anterior y medio por microscopia confocal

Aspectos	1 mes		3 meses		6 meses		12 meses	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Rarefacción de los queratocitos	29	96,7	5	16,7	-	-	-	-
Inicio de la repoblación de queratocitos	1	3,3	25	83,3	1	3,3	-	-
Repoblación total de los queratocitos	-	-	-	-	29	96,7	30	100,0
Total	30	100,0	30	100,0	30	100,0	30	100,0



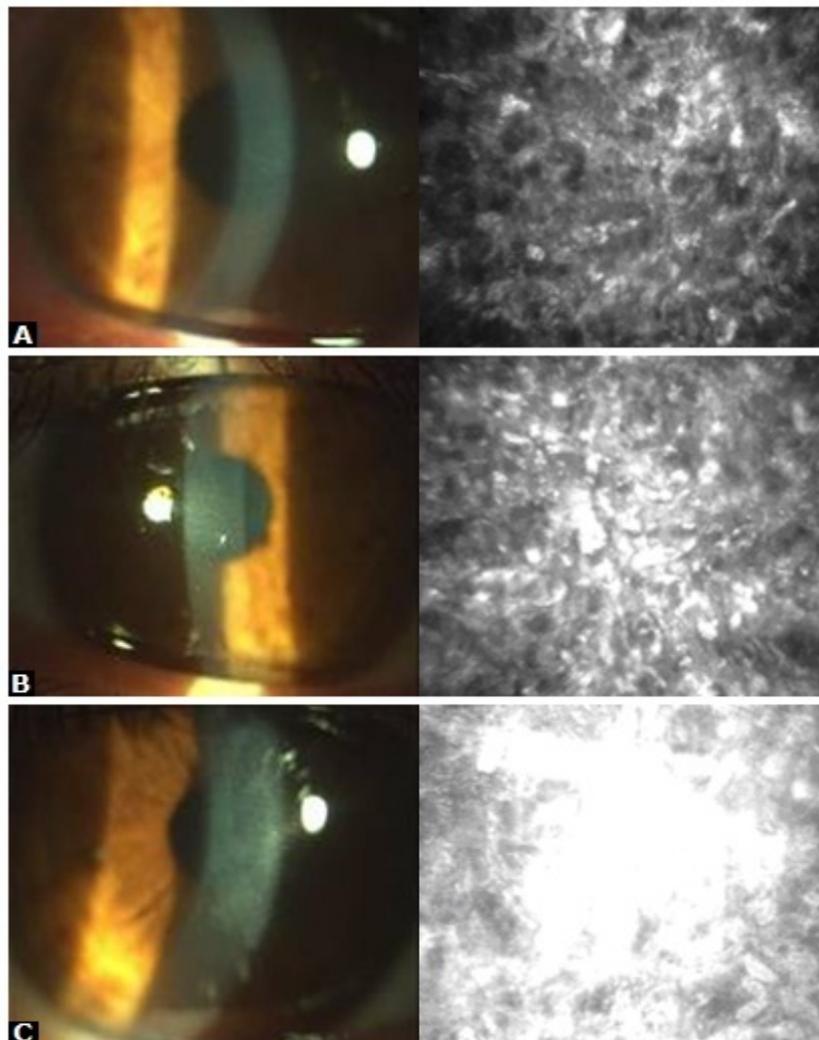
**Fig. 1.** Regeneración de los queratocitos en estroma anterior por microscopia confocal (Confoscan 4). A: preoperatorio con queratocitos activados. B: al mes afectación de la morfología y densidad de los queratocitos asociado a edema. C: a los tres meses con inicio de la repoblación de queratocitos. D: a los seis meses con repoblación total.

Al analizar el comportamiento del edema estromal por microscopia confocal, posterior al *crosslinking*, se observó que estuvo presente en 83,3 % de los casos al primer mes después del procedimiento. Este persistió hasta los 3 meses en 16,7 % y solo se observó en 3,3 % a los 6 meses (Fig. 2). A los 12 meses no hubo ningún paciente con edema estromal.



**Fig. 2.**Edema estromal posterior al crosslinking. A: edema por lámpara de hendidura. B: microscopia confocal del caso.

A los 3 meses de la operación el 100 % de los pacientes aún presentaban *haze* de diferentes grados (Fig. 3). Al mes predominaron los pacientes con grado II (70 %), y tuvo un ligero incremento a 76,7 % a los 3 meses. A los 6 meses la mitad de los pacientes presentó *haze* grado I y disminuyó paulatinamente hasta un 60 % de pacientes sin *haze* a los 12 meses (tabla 4).

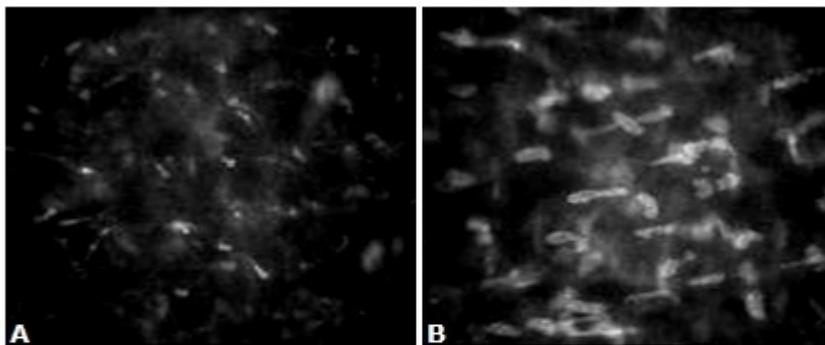


**Fig. 3.**Diferentes grados de *haze* en estroma anterior después de realizado *crosslinking*. A: grado I. B: grado II. C: grado III.

**Tabla 4.** Comportamiento del *haze* por microscopia confocal

Grados	1 mes		3 meses		6 meses		12 meses	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
0	-	-	-	-	4	13,3	18	60,0
I	4	13,3	1	3,3	15	50,0	10	33,3
II	21	70,0	23	76,7	11	36,7	2	6,7
III	5	16,7	6	20,0	-	-	-	-
IV	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	30	100,0	30	100,0	30	100,0	30	100,0

En relación con la profundidad del efecto del tratamiento se observó que fue hasta 300  $\mu$  en 10 % de los pacientes y el 86,7 % hasta 370  $\mu$ . Se encontró un paciente con efecto del *crosslinking* hasta 400  $\mu$  (Fig. 4). En ningún control por microscopia confocal se encontró alteración en la morfología o densidad de las células endoteliales.



**Fig. 4.** Área de transición vertical al mes del tratamiento. A: a 300 micras de profundidad zona de baja reflectividad, edema estromal con presencia de cuerpos apoptóticos, ausencia de fibras nerviosas. B: a 350 micras de profundidad queratocitos de morfología aparentemente normal y zonas de extensión del edema estromal.

## DISCUSIÓN

La microscopia confocal es una técnica clínica novedosa para evaluar la recuperación del tejido corneal a largo plazo. Particularmente en el *crosslinking* permite evaluar la evolución posterior al tratamiento, así como su seguridad.

La córnea es inervada por fibras derivadas de la división oftálmica del nervio trigémino. Los troncos corneales estromales se extienden lateral y anteriormente desde el plexo nervioso profundo. Estos corren solitarios, forman bifurcaciones en forma de "Y" y son más finos de manera progresiva hacia los niveles del estroma anterior. Desde aquí, las fibras perforan la capa de Bowman y forman un plexo neural denso, por debajo de las células epiteliales basales, que es el plexo sub-basal responsable de la inervación del epitelio. El plexo sub-basal tiene mayor irregularidad y ramificación en el queratocono. Antes de que estas fibras penetren la capa de Bowman forman el plexo subepitelial, que en el queratocono se dispone en un patrón oblicuo u horizontal. Aunque las fibras nerviosas corren frecuentemente en el mismo paquete nervioso, el microscopio confocal permite la visualización de las fibras más reflectivas.<sup>6,8,9</sup>

Estudios recientes reportan una disminución significativa en la densidad del plexo sub-basal luego de una cirugía refractiva con láser de superficie, con una recuperación a los niveles preoperatorios a partir de los 6 meses.<sup>10</sup> En relación, después del *crosslinking* es muy similar.

Recientemente se informó que la anatomía del plexo subepitelial es restaurada 1 año después del procedimiento con recuperación de su densidad. En esta investigación se encontró ausencia de los plexos nerviosos subepitelial y sub-basal en el área central irradiada al mes después del tratamiento, con una reinervación total a los 6 meses en más de 70 % de los casos.<sup>11,12</sup> En las fibras nerviosas estromales sucedió de manera semejante, ausencia de fibras al mes y más del 60 % con inicio de la reinervación a los 3 meses del tratamiento. La recuperación a los seis meses ocurrió en la mayoría de los casos; resultados que coinciden con otros estudios donde la regeneración comienza efectivamente alrededor del mes del *crosslinking*, desde las fibras más profundas y centripetamente, con recuperación significativa a los 6 meses del tratamiento.<sup>13</sup>

Los queratocitos son las células del estroma corneal, constituyen 5 % de su volumen. Estos son visualizados en la microscopia confocal a través de sus núcleos grises oscuros o blancos, se extienden en la matriz acelular transparente de variado brillo y morfología, según la profundidad estromal en que se encuentren. El estroma corneal se subdivide en capas para ser estudiado. El estroma anterior comienza debajo de la capa de Bowman con mayor densidad de queratocitos y núcleos en forma poligonal. En el estroma anterior-medio son más ovales con menor densidad que en el anterior. En el estroma medio es donde menor densidad existe.<sup>6</sup> En importantes estudios se ha encontrado, en el estroma anterior-medio, una rarefacción de los queratocitos acompañada de edema estromal en el primer mes; esta puede tomar apariencia de red trabecular, donde pueden ser detectados núcleos de queratocitos elongados y pequeños que corresponden con queratocitos necróticos enmascarados y cuerpos apoptóticos, respectivamente. La repoblación inicial generalmente ocurre a los 3 meses en esta profundidad y se regeneran casi completamente a los 6 meses.<sup>13-17</sup>

Las alteraciones posteriores al *crosslinking* corneal son reversibles gradualmente durante su seguimiento en meses y permanece estable al año.<sup>14</sup> Los resultados de este estudio coinciden con los consultados, alteración de los queratocitos en estroma anterior-medio en casi la totalidad de los casos al primer mes del tratamiento, frecuentemente queratocitos alargados necróticos y cuerpos apoptóticos. A los 12 meses se observó regeneración celular total del estroma anterior y medio en los pacientes.

Aunque el método de *crosslinking* del colágeno corneal es mínimamente invasivo, se han reportado recientemente posibles efectos adversos detectados por microscopia confocal. El edema estromal corneal en la mayoría de los casos al mes del tratamiento, que persistió solo en 1 paciente a los 6 meses, se comportó de manera similar a otros estudios reportados.<sup>13,15</sup>

El *haze* representa la cicatrización del tejido y puede ocurrir luego de la cirugía de superficie con el láser de excímeros, fundamentalmente en la queratectomía fotorrefractiva. Consiste en una opacidad subepitelial y estromal anterior de variada densidad y profundidad, y frecuentemente persiste por tres a nueve meses.<sup>6</sup> Algunas investigaciones plantean que está en relación con la respuesta pronunciada de la repoblación de los queratocitos, con alta densidad y reflectividad; así como con la migración de fibroblastos después de la repoblación. La formación de la cicatriz, al microscopio confocal, aparece como una placa elevada de nuevo colágeno con queratocitos activados. En algunos estudios publicados en el 2009, se plantea que parámetros como el valor de la queratometría y el grosor corneal en relación al estadio del queratocono pueden predecir el desarrollo del *haze* corneal posterior al *crosslinking*.<sup>18</sup> En la microscopia confocal se clasifica en grados según la intensidad de la

hiperreflectividad. En esta investigación a los 12 meses persistió en 2 pacientes a pesar de la terapéutica esteroidea tópica, similar a otros estudios consultados.<sup>13,14,18</sup>

En experimentos realizados en animales inicialmente se demostró que el efecto del *crosslinking* ocurría hasta aproximadamente 350  $\mu$  de profundidad. La extensión y profundidad de la muerte celular, la conservación de las células endoteliales, así como de estructuras más profundas como iris, cristalino y retina, depende de varios factores. Entre estos factores se encuentran la dosis de irradiación de 3 mW/cm<sup>2</sup>, la longitud de onda de 370 nm, la aplicación de la riboflavina con su efecto de pantalla y el grosor mínimo corneal respetado de 400  $\mu$ .<sup>17</sup> En este estudio en el 86,7 % de los pacientes el efecto de toxicidad con muerte celular ocurrió hasta una profundidad de 370  $\mu$ , un pequeño porcentaje en 300  $\mu$  y solamente en un caso se extendió a 400  $\mu$ .

Las células endoteliales al encontrarse adyacentes al estroma corneal y no tener la capacidad de regeneración son las más sensibles de sufrir daños irreversibles con este tratamiento. Al respetar los criterios de seguridad antes expuestos no debe ocurrir daño. No se observó en los pacientes estudiados modificación en la densidad o morfología de las células endoteliales, resultado similar a lo observado en otras investigaciones.<sup>19</sup>

En conclusión la microscopia confocal es un medio diagnóstico que permite el seguimiento de las modificaciones histológicas que ocurren por el efecto del *crosslinking* corneal. Permite evidenciar la recuperación del tejido en el período de seguimiento de los casos tratados. Los resultados obtenidos en el período de un año en este grupo de pacientes reafirman los criterios expuestos de que el *crosslinking* del colágeno corneal es un método de tratamiento seguro.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Patel DV, McGhee NJ. Mapping the corneal sub-basal nerve plexus in Keratoconus by in vivo Laser scanning confocal microscopy. Invest of Ophthalmol Vis Sci. 2006;47(4):1348-51.
2. Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee NJ. 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.
3. Torres RM, Merayo-Llodes J, Jaramillo MA, Galvis V. Biomecánica de la córnea. Arch Soc Esp Ophthalmol. [citado: 18 enero 2012] 2005;80(4). Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S036566912005000400004&script=sci\\_arttext](http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S036566912005000400004&script=sci_arttext)
4. Wollensak G, Aurich H, Wirbelauer C, Sel S. Significance of the riboflavin film in corneal collagen crosslinking. J Cataract Refract Surg. 2010;36(1):114-20.
5. Wollensak G, Wilsch M, Spoerl E, Seiler T. Collagen fiber diameter in the rabbit cornea after collagen crosslinking by riboflavin/UVA. Cornea. 2004;23(5):503-7.
6. Mastropasqua L, Nubile M. Normal Corneal Morphology: En: Mastropasqua L, Nubile M. Confocal Microscopy of the cornea. Hertfordshire: SLACK; 2002. p. 7-16.
7. Wollensak GE, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. Am J Ophthalmol. 2003;135(5):620-7.

8. Tavakoli M, Hossain P, Malik RA. Clinical applications of corneal confocal microscopy. *Clinical Ophthalmology*. 2008;2(2):435-45.
9. Oliveira Soto O, Efron N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy. *Cornea*. 2001;20(4):374-84.
10. Lee JS, Oum BS, Choi HY, Lee JE, Cho BM. Differences in corneal thickness and corneal endothelium related to duration in diabetes. *Eye*. 2006;20(3):315-8.
11. Mazzotta C, Traversi C, Baiocchi S, Caporossi O, Bovone C, Sparano MC, et al. Corneal healing after riboflavin ultraviolet-A collagen cross-linking determined by confocal laser scanning microscopy in vivo: early and late modifications. *Am J Ophthalmol*. 2008;146(4):527-33.
12. Mazzotta C, Traversi C, Baiocchi S, Sergio P, Caporossi T, Caporossi A. Conservative treatment of keratoconus by riboflavin-UV-A-induced cross-linking of corneal collagen: qualitative investigation. *Eur J Ophthalmol*. 2006;16(4):530-5.
13. Mazzotta C, Balestrazzi A, Traversi C, Baiocchi S, Caporossi T, Tommasi C, et al. Treatment of progressive keratoconus by riboflavin-UV-A-induced cross-linking of corneal collagen: ultrastructural analysis by Heidelberg Retinal Tomograph II in vivo confocal microscopy in humans. *Cornea*. 2007;26(4):390-7.
14. Kymionis G, Diakonou VF, Kalyvianaki M, Portaliou D, Siganos Ch, Kozobolis VP, et al. Year Follow-up of Corneal Confocal Microscopy after Corneal Cross-Linking in Patients with Post Laser in Situ Keratosclerosis Ectasia and Keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2009;147(5):774-9.
15. Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C, Traversi C, Caporossi T. Parasurgical therapy for keratoconus by riboflavinultraviolet type a rays induced cross-linking of corneal collagen: preliminary refractive results in an Italian study. *J Cataract Refract Surg*. 2006;32(5):837-45.
16. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T. Keratocyte apoptosis after corneal collagen crosslinking using riboflavin/UVA treatment. *Cornea*. 2004;23(1):43-9.
17. Tomkins O, Garzoni HJ. Collagen cross-linking: Strengthening the unstable cornea. *Clinical Ophthalmology*. 2008;2(4):863-7.
18. Raiskup FD, Hoyer A, Spoerl E. Permanent Corneal Haze after Riboflavin-UVA-induced Cross-linking in Keratoconus. *Journal of Refractive Surgery*. 2009;25(9):824-8.
19. Kymionis GD, Portaliou DM, Pallikaris IG. Additional complications of corneal crosslinking. *J Cataract Refract Surg*. 2010;36(1):185.

Recibido: 10 de septiembre de 2011.

Aprobado: 27 de abril de 2012.

Dra. *Madelyn Jareño Ochoa*. Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer".  
Ave. 76 No. 3104 entre 31 y 41, Marianao. La Habana, Cuba. Correo electrónico:  
[madelynjo@infomed.sld.cu](mailto:madelynjo@infomed.sld.cu)