

Resposta cicatricial corneana em diferentes modalidades de cirurgia refrativa

Corneal wound healing response following different modalities of refractive surgical procedures

Marcelo Vieira Netto¹
Renato Ambrósio Jr²
Maria Regina Chalita³
Ronald R. Krueger⁴
Steven E. Wilson⁵

RESUMO

A resposta cicatricial corneana secundária a procedimentos refrativos, representa assunto de alta relevância, pois influencia diretamente nos resultados pós-operatórios. Modificações técnicas nos atuais procedimentos, como a criação automatizada do retalho corneano ("flap") através de pulsos ultra-rápidos de laser ("Femtosecond laser"), novas modalidades de ceratectomia superficial como a criação de um retalho epitelial com ou sem tratamento prévio com álcool (LASEK ou Epi-LASIK) e a utilização de quimioterápicos como a mitomicina C, vêm sendo propostas como técnicas alternativas aos tradicionais LASIK e PRK. Inúmeras vantagens teóricas vêm impulsionando a difusão dessas novas técnicas, entretanto, melhor entendimento da resposta cicatricial subsequente a esses procedimentos se faz necessário. O presente texto propõe revisão das principais características da cicatrização corneana que ocorrem após diferentes técnicas de cirurgia refrativa.

Descritores: Córnea; Cicatrização de feridas; Ceratomileuse assistida por excimer laser in situ/métodos; Epitélio da córnea; Erros de refração/cirurgia

INTRODUÇÃO

A resposta cicatricial desencadeada por procedimentos refrativos corneanos é de extrema importância, pois representa um fator determinante para sua segurança e eficácia. O resultado refrativo final, bem como diversas complicações pós-operatórias, como hipocorreção, hipercorreção, exacerbação de processos inflamatórios e formação de opacidades corneanas, estão diretamente relacionadas ao processo cicatricial corneano. Entretanto, esse é um evento notavelmente complexo, envolvendo inúmeras interações intercelulares. Diferentes estruturas anatômicas estão diretamente envolvidas, incluindo principalmente células epiteliais, estromais e imunológicas, nervos corneanos e produtos das glândulas lacrimais.

O processo cicatricial de reparação ao trauma se inicia imediatamente após a lesão epitelial, com a secundária liberação de citocinas e fatores de crescimento⁽¹⁻³⁾. Entende-se que as células epiteliais estejam em constante atividade metabólica e os diversos fatores tróficos produzidos por elas sejam responsáveis pela ativação dos diferentes sistemas que interagem entre si com o objetivo de preservação das propriedades anatômicas e fisiológicas do tecido corneano. Portanto, a cicatrização corneana nada mais é do que uma resposta de defesa celular observada nos quadros de infecção e injúria mecânica, cujos principais objetivos são a restauração da estrutura tecidual e o reestabelecimento de suas característica funcionais.

Trabalho realizado no Cole Eye Institute, The Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, OH

¹ Fellow em Córnea e Cirurgia Refrativa - Cole Eye Institute, The Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, OH. Pós-graduando nível doutorado - Universidade de São Paulo - USP.

² Médico Assistente da Clínica de Olhos Renato Ambrósio. Diretor Médico da Refracta - Rio.

³ Diretora Médica do Instituto Paulista de Estudo e Pesquisa em Oftalmologia - IPEPO.

⁴ Médico Diretor do Departamento de Cirurgia Refrativa - Cole Eye Institute, The Cleveland Clinic Foundation.

⁵ Médico Diretor do Departamento de Córnea - Cole Eye Institute, The Cleveland Clinic Foundation.

Os autores não possuem interesse comercial ou financeiro em nenhum produto mencionado no presente manuscrito.

Endereço para correspondência: Marcelo V. Netto, 3715 Warrensville Center Road 302, Beachwood (OH) Zip 44122 - EUA
E-mail: nettom@ccf.org

A resposta biocicatricial se inicia imediatamente após o trauma cirúrgico epitelial, o qual resulta na descarga de diferentes citocinas, incluindo: interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), sistema ligante FAS, fator medular ósseo 2 e 4 (FMO-2 e 4), fator de crescimento epitelial (FCE), fator de crescimento plaquetário (FCP) entre outras colagenases e metaloproteinases⁽³⁻⁹⁾. Dentre eles, a interleucina-1 exerce papel fundamental e é considerada a principal mediadora das respostas celulares subseqüentes⁽¹⁰⁾. TNF- α é produzida pelas células epiteliais e glândula lacrimal e também exerce importante função ao estimular os ceratócitos vizinhos à área acometida⁽¹⁾. Todas essas citocinas e fatores de crescimento são encontrados em níveis basais nas células epiteliais, representando componentes indispensáveis na homeostase tissular corneana. Entretanto, sua liberação em quantidades excessivas depende de um estímulo traumático.

A lesão epitelial leva à quebra da barreira epitelial, permitindo a ampla exposição das citocinas ao tecido estromal, onde as mesmas se ligam a receptores específicos nos ceratócitos. Como consequência, os principais fenômenos celulares desencadeados consistem na apoptose e necrose dos ceratócitos, replicação dos fibroblastos, influxo de células inflamatórias e formação de miofibroblastos.

SEQUÊNCIA DE EVENTOS CELULARES

O desaparecimento de ceratócitos após uma lesão epitelial corneana foi inicialmente evidenciada por Dohlman et al 1968⁽¹¹⁾. Estudos subseqüentes, realizados em diferentes espécies animais, confirmaram o desaparecimento dos ceratócitos como consequência à injúria epitelial⁽¹²⁻¹³⁾. Em 1986 o mecanismo de desaparecimento dos ceratócitos foi estabelecido por Wilson et al⁽¹⁾, como sendo um fenômeno mediado pela apoptose celular.

A apoptose representa um mecanismo de morte celular programada, que ocorre sem significativa liberação de enzimas lisossomais ou outros componentes intracelulares, capazes de lesar tecidos vizinhos. O processo de apoptose pode ser detectado por microscopia eletrônica, bem como por técnicas de imunofluorescência (TUNEL-assay)⁽¹⁻²⁾. A apoptose dos ceratócitos pode ser identificada imediatamente após o trauma epitelial e atinge um pico máximo quatro horas após a lesão, postergando-se por vários dias após o evento inicial⁽¹⁻²⁾. Caracterizam a apoptose a condensação cromatínica, degradação nuclear e eventual perda da membrana celular, resultando na liberação de corpúsculos apoptóticos⁽¹⁴⁻¹⁵⁾.

O exato mecanismo pelo qual os ceratócitos sofrem apoptose permanece controverso. Citocinas provenientes de células epiteliais lesadas são consideradas o principal fator desencadeador, responsáveis pelo início da apoptose celular. Várias citocinas já foram identificadas por suas propriedades de induzir apoptose, incluindo IL-1, TNF- α , FMO-2 e 4 e fator de crescimento com propriedades transformadoras (TGF)⁽⁴⁻⁹⁾.

Mediadores inflamatórios produzidos no estroma da córnea

são também considerados extremamente importantes na regulação da cicatrização epitelial, bem como atração de células inflamatórias provenientes de vasos límbicos e produtos de secreção glandular⁽¹⁶⁻¹⁷⁾. Citocinas como IL-1 e TNF- α liberados por células epiteliais lesadas se ligam a receptores nos ceratócitos e estimulam a produção de fatores estimuladores de colônia de granulócitos e fatores ativadores de monócitos. Dentre as várias células inflamatórias, identificam-se principalmente macrófagos, monócitos, células T e polimorfonucleares através de imunofluorescência e microscopia eletrônica⁽¹⁷⁾. Entre 12 e 24 horas após a lesão inicial, um elevado número de células de linhagem inflamatória migram para o estroma corneano, onde permanecem por várias semanas⁽¹⁶⁾. Wilson et al⁽¹⁸⁾, identificaram pela primeira vez em modelos vivos de camundongos o influxo de células inflamatórias derivadas da medula óssea para o estroma corneano 12 horas após a abração epitelial da córnea. Acredita-se que essas células inflamatórias tenham importante participação na reorganização estrutural pós-trauma, englobando corpúsculos celulares residuais e participando do processo de remodelação estromal⁽¹⁸⁾.

Subseqüente ao processo de apoptose, um significativo número de células corneanas morre por processo de necrose. A necrose celular por sua vez, é caracterizada pela perda da integridade da membrana plasmática, com subseqüente edema e lise celular, resultando na degradação do DNA nuclear e subseqüente resposta inflamatória, a qual acomete as células vizinhas⁽¹⁹⁾. O processo de necrose pode ser facilmente identificado através de análise ultra-estrutural com microscópio eletrônico.

A proliferação dos ceratócitos remanescentes inicia-se 12 a 24 horas após a injúria epitelial. Intensas atividades mitóticas podem ser observadas na zona de acelularidade criada pelos ceratócitos que sofreram apoptose. Anticorpos específicos, marcadores da fase mitótica (fase G1-M do ciclo celular) permitem a identificação e quantificação da atividade proliferativa celular⁽¹⁶⁾. Acredita-se que citocinas, como fatores de crescimento plaquetário liberadas do epitélio e sua respectiva membrana basal sejam responsáveis pela ativação e manutenção do processo de repopulação estromal⁽²⁰⁾. Os ceratócitos ativados, caracterizados por intensa atividade metabólica e proliferativa, são provavelmente os responsáveis pela transdiferenciação fenotípica dos ceratócitos, originando os chamados fibroblastos e miofibroblastos⁽²¹⁾.

Uma a duas semanas após a injúria corneana, é possível identificar inúmeros ceratócitos transdiferenciados em miofibroblastos⁽¹⁶⁾. Os miofibroblastos representam uma variação fenotípica dos ceratócitos, caracterizados por alto poder contrátil. Essas células são marcadas pela alterada transparência, secundária à desorganizada produção de colágenos cristalineanos⁽²²⁾. A transformação dos ceratócitos em miofibroblastos deve-se principalmente à presença de fatores de crescimento, como TGF- β e também ocorre secundariamente a uma diminuição na densidade celular^(9,23). A identificação direta dos miofibroblastos é possível através do emprego de anticorpos específicos contra a actina muscular alfa, abundantemen-

te encontrada nessas células. Os miofibroblastos são também responsáveis pela produção acentuada de material colágeno, metaloproteinases, gelatinases, glicosaminoglicanos e fatores de crescimento hepatocíticos e ceratocíticos^(9,22). A maior concentração dos miofibroblastos é identificada na junção epitélio-estromal e sua maior importância clínica está relacionada a opacificação corneana pós-operatória⁽¹⁶⁾. A transdiferenciação fenotípica dos ceratócitos secundária ao trauma cirúrgico resulta em importantes alterações fisiológicas, incluindo uma exacerbação na contratilidade e uma produção anômala de componentes da matriz extracelular⁽¹¹⁻¹²⁾.

A celularidade original e a função corneana tendem a retornar lentamente aos padrões de normalidade. Atividades apoptóticas, necróticas e proliferativas diminuem notavelmente uma semana após a injúria inicial^(16,24). Posteriormente, parte das células inflamatórias sofrem apoptose ou necrose, enquanto outras sofrem possível rediferenciação, retornando ao fenótipo original. Entretanto, a normalização anatomo-fisiológica da córnea é variável e pode se prolongar por meses ou anos. Por exemplo, em casos envolvendo uma cicatrização mais intensa, podem resultar em uma acentuada irregularidade e perda de estrutura corneana, levando a uma numerosa formação de miofibroblastos com significativa opacidade corneana, a qual pode até mesmo permanecer indefinidamente. Entretanto, a tendência é a re-organização estrutural e fisiológica da córnea, com recuperação de sua transparência⁽²⁴⁾.

Finalmente, a intensidade da resposta celular é variável, dependendo de características genéticas individuais (como grau de resistência tecidual a diferentes concentrações de fatores tróficos) e de fatores relacionados à técnica cirúrgica empregada (como localização, profundidade, extensão e regularidade da injúria epitélio-estromal)⁽²⁴⁾.

RESPOSTA CICATRICAL APÓS DIFERENTES MODALIDADES DE CIRURGIA REFRACTIVA

1- Reposta cicatricial pós-LASIK

Laser in situ keratomileusis (LASIK) representa atualmente a técnica cirúrgica mais empregada para a correção de ametropias. A criação de um retalho estromal corneano previamente à ceratectomia, permite que o mesmo seja reposicionado protegendo o leito estromal ablado. Além disso a integridade epitelial na região central da córnea, envolvendo especialmente a preservação da membrana basal, resulta em uma resposta cicatricial mais branda. Clinicamente, observamos após o LASIK uma recuperação mais rápida da visão, com mínimo desconforto e maior reprodutibilidade do efeito refracional.

A nível celular, observamos mínimo trauma epitelial periférico, correspondente à área de penetração do microcerátomo. A criação do retalho corneano resulta em uma cicatrização fibrótica exclusivamente na média periferia, correspondente a sua borda, onde existe uma lesão epitelial acompanhada por perfuração da membrana basal⁽²⁵⁾. A preservação da integridade epitelial na região central da córnea, resulta em menor

interação entre células epiteliais e estromais, levando à menor ativação dos ceratócitos e menor índice de apoptose e necrose celular^(16,24). Paralelamente, a integridade da membrana basal exerce provavelmente uma função de barreira mecânica, protegendo o leito estromal da ação de fatores pró-inflamatórios provenientes de células epiteliais e, em menor proporção, de células glandulares⁽²⁶⁾. Essa soma de fatores é responsável pela ausência de opacificação pós-operatória na região central da córnea.

Entretanto, em casos de complicações intra-operatórias, envolvendo a criação imperfeita do retalho corneano, como em casos de perfuração ou superficialização central do retalho ("button-holed flaps") ou a criação de retalhos irregulares, poderá haver uma reação cicatricial tipo fibrótica, com alta concentração de miofibroblastos, resultando na opacificação corneana.

O arco reflexo cerato-neuro-lacrimar exerce função primária na homeostase desses tecidos, entretanto o mesmo será afetado secundariamente à passagem do microcerátomo, afetando significativamente a resposta cicatricial⁽²⁴⁾. Principalmente em pacientes com baixa produção basal de lágrimas, maiores serão as repercussões na remodelação epitelial e conseqüente maior imprevisibilidade na resposta cicatricial.

Após o LASIK, a resposta cicatricial é geralmente mais branda, envolvendo menor ativação celular. Histologicamente observa-se menor hiperplasia epitelial e menor remodelação estromal. A hiperplasia epitelial parece ser um mecanismo de proteção, com função compensatória no reestabelecimento da conformação corneana original⁽²⁷⁻²⁸⁾. Principalmente nos casos onde o LASIK é aplicado para a correção de hipermetropias, com insuficientes zonas de transição, observa-se uma típica tendência das células epiteliais de suavizar a escultura final criada pelo laser. Acredita-se que as células corneanas tenham uma relativa memória e parte da remodelação pós-operatória tenha como objetivo restaurar sua conformação pré-operatória. Principalmente, evidenciam-se mínima diferenciação de ceratócitos em miofibroblastos, responsáveis pela reação fibrótica e conseqüente opacidade corneana pós-operatória. Entretanto a resposta cicatricial secundária ao LASIK é variável de acordo com características individuais, bem como fatores intra-operatórios, como profundidade e regularidade do leito estromal submetido à ceratectomia a laser⁽²⁹⁻³⁰⁾. Clinicamente, é observada menor regressão do efeito refrativo, com mais rápido restabelecimento da acuidade visual.

Esse geralmente é o comportamento cicatricial pós-operatório padrão após LASIK, mas obviamente existirão significativas alterações fisiológicas mediante complicações intra ou pós-operatórias. A presença de dano epitelial intra-operatório, por exemplo, pode prolongar a ativação celular e a resposta inflamatória, resultando em exagerada quimiotaxia e, conseqüentemente, atraindo significativa quantidade de células inflamatórias, podendo resultar em quadro de ceratite lamelar difusa⁽³¹⁻³²⁾. A descarga de citocinas será proporcional ao dano causado às células epiteliais. Dentre as diversas citocinas e fatores de crescimento liberados pelas células epiteliais

lesadas é dada grande importância ao fator de crescimento epitelial. O mesmo tem influência direta na remodelação epitelial pós-operatória, pois participa ativamente nos mecanismos de adesão e proliferação das células epiteliais⁽³³⁾.

Também como parte de um processo cicatricial atípico, a presença de células epiteliais abaixo do retalho estromal merece destaque. Células epiteliais acumuladas abaixo do retalho mantêm atividade metabólica, produzindo citocinas e fatores de crescimento capazes de afetar a remodelação estromal e atrair células inflamatórias, podendo resultar em quadro inflamatório difuso⁽³⁴⁾. Da mesma forma, mediante a presença de um processo infeccioso, haverá intensa ativação inflamatória com elevado grau de necrose celular, bem como intensa atividade colagenolítica⁽³⁵⁾. A presença de tais fatores complicadores alteram completamente o padrão de resposta cicatricial e podem levar a resultados anátomo-funcionais completamente imprevisíveis.

1.1- Resposta cicatricial pós-LASIK com emprego de pulso ultra-rápidos de laser ("Femtosecond laser") para a criação do retalho corneano

Uma recente alternativa para a criação do retalho estromal corneano consiste no emprego de micro-pulsos ultra-rápidos de laser. O mecanismo consiste na foto-disrupção tecidual com objetivo de se reproduzir um efeito de corte, perante mínima injúria térmica, resultando na criação de uma precisa lamela estromal. Estudos recentes vêm demonstrando vantagens teóricas da criação do retalho corneano com a utilização de pulsos ultra-rápidos de laser, devido a sua maior previsibilidade e conseqüente segurança⁽³⁶⁻³⁷⁾. Entretanto, estudos adicionais são necessários para confirmar as possíveis vantagens supracitadas.

Além disso, a resposta cicatricial observada após o uso de pulsos ultra-rápidos de laser apresenta algumas particularidades. Inicialmente, a não confluência das micro-disrupções criadas pelos pulsos de laser, pode resultar na presença de pontes estromais entre áreas de tecido não removidas. Conseqüentemente, é esperada uma maior aderência e dificuldade no levantamento do retalho, bem como maior irregularidade do leito estromal residual. Manobras vigorosas no intuito de se levantar o "flap" podem resultar em adicional traumatismo ao tecido estromal.

Relatos informais anunciam também uma maior incidência de ceratite lamelar difusa nos primeiros dias subseqüentes a cirurgia. A intensidade de energia utilizada para se obter o corte vertical (perpendicular a disposição das fibras de colágeno) com o laser é significativamente maior do que a energia utilizada para se obter o corte horizontal (seguindo o plano das fibras de colágeno). Acredita-se que a maior intensidade de laser aplicado nas bordas do retalho corneano resulte em um maior trauma epitelial com conseqüente maior liberação de citocinas pró-inflamatórias como interleucina I e fator de necrose tumoral. Essas incisões periféricas são confeccionadas de forma angular e aplicadas perpendicularmente ao plano corneano, utilizando-se uma fonte de energia até três vezes maior do que a empregada para a dissecação central do retalho.

Da mesma forma, é provável que o elevado nível de citocinas pró-inflamatórias estimule também uma maior produção de citocinas e fatores de crescimento estromais, resultando em uma maior atração de células inflamatórias para a interface do retalho estromal.

Relatos informais têm discutido também uma maior dificuldade para o levantamento de retalhos corneanos criados através de pulsos ultra-rápidos de laser, nos casos onde se faz necessário um retoque. Acredita-se que a maior irregularidade do leito estromal, associado a uma maior atividade inflamatória pós-cirúrgica contribua para uma adesão mais intensa entre o retalho e o leito estromal. Tal fator representa um inconveniente em casos onde se faz necessário um retoque pós-operatório, entretanto a teórica facilidade e segurança na criação de um segundo "flap" são fatores compensatórios para tal desvantagem. Além disso, acredita-se que uma adesão retalho-estromal pós-operatória possa ser benéfica no sentido de garantir uma maior estabilidade anatômica em casos de trauma ocular. Discute-se também a potencial contribuição biomecânica dessa adesão para a maior preservação estrutural da estrutura corneana. Modelos experimentais têm sido investigados no intuito de se intensificar a adesão pós-operatória entre o retalho e o leito estromal como potencial benefício na prevenção de ectasias iatrogênicas. Kaufman et al⁽³⁸⁾ utilizaram cola orgânica a base de fibrina, para promover uma significativa adesão retalho-estromal em coelhos submetidos ao LASIK. No mesmo estudo não foi evidenciado significativo aumento da resposta inflamatória mediante aplicação de cola orgânica. Entretanto, a contribuição biomecânica dessa teoricamente mais intensa adesão retalho-estromal não foi ainda estabelecida. Devido a potencial absorção a médio prazo da cola orgânica aplicada na interface, seria interessante a utilização de fatores de crescimento específicos que estimulassem a resposta cicatricial de forma regeneradora, com baixa indução de fibrose.

Também como o mesmo objetivo de se prevenir ou tratar ectasias corneanas secundárias a procedimentos refrativos, tem sido proposta a aplicação de riboflavina associada à radiação ultravioleta para se intensificar a adesão cruzada das fibras colagenares corneanas⁽³⁹⁾. A finalidade de tal inovadora proposta terapêutica consiste no aumento da resistência tecidual à deformação, mantendo a conformação anatômica do tecido corneano. Wollensak e Seiler têm apresentado promissores resultados clínicos em pacientes com ceratocone⁽⁴⁰⁾. Entretanto, futuros estudos são necessários no sentido de se estabelecer a real eficácia em longo prazo dessa terapia. Apesar de estimuladores resultados iniciais, são esperados que a renovação ("turn-over") dos ceratócitos e sua conseqüente produção da matriz extracelular, leve a reversão do efeito inicial desejado. Caso sua ação temporária se confirme, intermitentes aplicações deverão ser necessárias para manter a conformação estrutural da córnea. Entretanto, futuros estudos ainda se fazem necessários com a finalidade de se atestar a total segurança de tais aplicações.

2- Resposta cicatricial pós-PRK

A ceratectomia fotorefrativa (PRK) consiste na remoção mecânica da camada epitelial corneana, incluindo sua membrana basal, com subsequente fotodisrupção da membrana de Bowman e porção anterior do estroma corneano. A remoção mecânica da membrana basal epitelial, bem como a fotodisrupção da membrana de Bowman, resultam na completa exposição do leito estromal às citocinas e fatores de crescimento liberados pelas células epiteliais lesadas, bem como citocinas presentes no filme lacrimal.

A resposta cicatricial observada após PRK é de modo geral um fenômeno intenso, resultando muitas vezes em hiper ou hipocorreção, regressão do efeito refrativo e principalmente opacificação corneana após correção de altas ametropias. A intensidade da resposta cicatricial pós PRK tem relação direta com a quantidade de tecido estromal removido. A distribuição desigual dos ceratócitos, com maior concentração no estroma anterior, pode justificar as diferenças no grau de resposta cicatricial após a correção de diferentes níveis de ametropia⁽⁴¹⁾. Eventos celulares são mais marcantes após PRK, geralmente resultando em maior hiperplasia epitelial e remodelação estromal pós-operatória. Finalmente, quanto maior o erro refrativo inicial a ser corrigido, maior o risco de uma imprevisibilidade refracional final, bem como maiores serão os riscos de complicações.

A maior extensão epitelial submetida a lesão cirúrgica leva a maior liberação de fatores pró-inflamatórios epiteliais, principalmente IL-1, TNF- α , sistema ligante FAS, FMO-2 e 4, FCE, FCP e TGF⁽⁴⁻⁹⁾. Mediante dano à membrana basal epitelial, fatores de crescimento epitelial desencadeiam a produção de fibronectina no intuito de cobrir a área defeituosa, a qual servirá como uma matriz temporária para a adesão das células epiteliais⁽⁴²⁾. Além disso, outras citocinas, integrinas, lamininas e fibronectinas influenciam no mecanismo de adesão das células epiteliais⁽⁴³⁾. Essas citocinas também atuam no leito estromal exposto induzindo apoptose celular. Conseqüentemente, é observada uma intensa ativação celular, com alta taxa de apoptose e necrose de ceratócitos, bem como proliferação de fibroblastos e diferenciação de miofibroblastos.

Além disso, observa-se também uma alta produção de fibras colagenares desorganizadas, bem como outros materiais extracelulares, resultando em diferentes graus de opacidade corneana. A diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos pode ser bastante significativa após PRK, principalmente após a correção de elevados graus de miopia⁽¹⁶⁾. Os miofibroblastos representam uma variação fenotípica dos ceratócitos, caracterizados por alto poder contrátil⁽²²⁾. Apesar de contribuírem para o fechamento da ferida cicatricial, resultam em contratura e escarificação tecidual. Estudos "in vivo" e "in vitro" identificam a direta participação de TGF- β na diferenciação dos miofibroblastos^(9,23). Acredita-se também que a expressão de TGF- β esteja significativamente elevada durante o período de reconstrução epitelial. Por isso, o risco de opacificação corneana é maior em casos de reepitelização lenta,

quando o leito estromal sofre prolongada exposição à ação de TGF- β . Estudos experimentais em coelhos com bloqueadores de TGF- β mostraram significativa redução na formação de opacificação pós-operatória⁽⁴⁴⁾.

A resposta cicatricial pós-PRK é geralmente caracterizada por uma maior hiperplasia epitelial e remodelação estromal. A hiperplasia epitelial resulta de uma tentativa de se restaurar a conformação original da córnea, bem como de se reestabelecer a regularidade de sua superfície. A remodelação estromal ocorre como uma conseqüência da repopulação ("turn over") dos ceratócitos e a conseqüente produção e re-organização da matriz extracelular.

A uniformidade no diâmetro e o perfeito espaçamento das fibras colagenares no espaço intersticial resultam em máxima translucência corneana⁽⁴⁵⁾. Além disso, a balanceada distribuição de macromoléculas intersticiais, como proteoglicanos e glicosaminoglicanos, têm acentuada importância na manutenção das propriedades ópticas e fisiológicas do tecido corneano⁽⁴⁶⁾. Entretanto, o traumatismo cirúrgico representado pelo PRK leva a profunda desorganização anatômica. Além da agressão celular e alterações anatômicas, são quebradas importantes barreiras fisiológicas corneanas, levando a ativação de diferentes mecanismos de reparo celular. Ocasionalmente são formados miofibroblastos que respondem através da desorganizada produção de componentes extracelulares, resultando clinicamente em diferentes graus de opacidade pós-operatória.

A formação de "haze" corneano é mais comum após PRK e está diretamente relacionada à quantidade e profundidade de tecido estromal removido. Outros fatores como regularidade final do leito estromal e tempo de fechamento do defeito epitelial podem também repercutir no grau de opacificação corneano. Estudos experimentais têm demonstrado um pico de formação de miofibroblastos em torno de quatro semanas, coincidente com o aparecimento da opacidade corneana pós-operatória⁽¹⁶⁾. Além disso, a precisa localização subepitelial dos miofibroblastos é também coincidente com a identificação clínica da área de opacidade corneana.

Na maioria das vezes, o grau de opacificação corneana tende a diminuir com o passar do tempo. Geralmente, num período de 12 meses, observa-se significativa melhora no nível de opacidade corneana, embora em muitos casos não ocorra total desaparecimento da opacidade. O desaparecimento de miofibroblastos também é coincidente com a melhora da opacidade. Acredita-se que muitas dessas células desapareçam por processo de apoptose ou necrose celular. Entretanto, Maltseva et al demonstraram a reversibilidade fenotípica dos ceratócitos, provando que os miofibroblastos não são terminalmente diferenciados⁽⁴⁷⁾. Segundo os mesmos autores, a exposição de miofibroblastos a FGF-1 ou FGF-2 e heparina resulta na sua conversão fenotípica a fibroblastos⁽⁴⁷⁾.

Entretanto, a resposta cicatricial pós-PRK depende também de várias características individuais, incluindo fatores genéticos e diferentes graus de sensibilidade estromal às citocinas e fatores de crescimento. Além disso, variações técnicas

e diferentes quantidades de tecido corneano removido e diferentes níveis de irregularidades superficial repercutirão diretamente na intensidade da resposta pós-operatória.

Diferença entre a resposta cicatricial pós-PRK e pós-LASIK

PRK e LASIK representam os procedimentos refrativos mais comumente realizados. Entretanto, diferenças no processo cicatricial pós-operatório repercutirão em significativas vantagens e desvantagens clínicas. Clinicamente, o menor grau de desconforto pós-operatório, associado a uma rápida reabilitação visual e maior previsibilidade nos resultados ilustram as vantagens de um processo cicatricial mais brando evidenciado após LASIK.

Inúmeros estudos envolvendo ambas as técnicas foram conduzidos em diferentes espécies, com a finalidade de melhor compreensão do processo cicatricial pós-operatório⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾. Vários desses estudos contribuíram de forma significativa para um maior entendimento das interações celulares secundárias ao trauma cirúrgico corneano.

Mohan et al⁽¹⁶⁾ conduziram um dos maiores e mais completos estudos da resposta cicatricial em coelhos submetidos a PRK e LASIK. O referido estudo analisou diferenças quantitativas e qualitativas na resposta cicatricial secundária a ambos procedimentos. Um total de 144 coelhos foram distribuídos em três grupos: PRK para correção de baixa miopia (-4,5 dioptrias), PRK para correção de alta miopia (-9,0 dioptrias) e LASIK para correção de alta miopia (-9,0 dioptrias). Os respectivos animais foram sacrificados após 4, 24 e 72 horas, 1 e quatro semanas e 3 meses após o procedimento inicial, incluindo 8 animais em cada subgrupo. Foram quantificados o grau de apoptose e necrose celular, proliferação de fibroblastos, diferenciação de miofibroblastos e influxo de células inflamatórias.

O mesmo estudo identificou níveis significativamente mais elevados de apoptose celular, proliferação de fibroblastos e diferenciação de miofibroblastos após PRK para correção de alta miopia em comparação ao LASIK para correção de alta miopia e PRK para correção de baixa miopia. Além disso, foi observada significativa diferença no padrão de resposta entre PRK e LASIK. Após LASIK foi identificada uma resposta celular num plano mais profundo do estroma corneano, correspondendo à região localizada abaixo do retalho. Por outro lado, foi observado após PRK uma intensa atividade celular nas camadas mais superficiais do estroma corneano. Contrariamente aos achados pós-PRK, não foram identificados miofibroblastos no estroma corneano de animais submetidos ao LASIK, o que clinicamente se correlaciona com a ausência de opacificação estromal pós-LASIK.

Tais observações levam a crer que a maior integridade epitelial central associada à preservação da membrana basal epitelial observada após o LASIK possam ser responsabilizadas por tais diferenças. Entretanto, permanece obscuro o motivo pelo qual se observa uma abundante quantidade de miofibroblastos após PRK para correção de alta miopia, contrariamente ao que ocorre após PRK para correção de baixa miopia.

Tais diferenças apontam também para a participação de múltiplos mecanismos, como quantidade e profundidade de tecido estromal removido, bem como a regularidade final do leito estromal. Acredita-se que quanto maior seja a remoção tecidual, maior será a indução de irregularidades estromais e mais intensa será a resposta cicatricial restauradora, a qual poderá resultar em complicações clínicas como a opacificação corneana.

Técnicas alternativas de ceratectomia superficial

Devido às limitações do LASIK, envolvendo principalmente o risco de quebra do equilíbrio biomecânico corneano, os procedimentos refrativos baseados na ablação de superfície continuam representando uma viável alternativa principalmente para a correção de pacientes com córneas de baixa espessura ou pacientes com irregularidades topográficas. Por outro lado, limitações do PRK como dor pós-operatória, lenta recuperação visual e principalmente o maior risco de opacidades corneanas, têm levado a uma busca intensa por diferentes alternativas técnicas. Diferentes variações das chamadas técnicas de ablação superficial, como LASEK, PRK com mitomicina e mais recentemente Epi-LASIK tem sido descritas.

Várias vantagens teóricas das supracitadas técnicas têm sido descritas, entretanto controversos resultados clínicos, bem como limitações envolvendo o processo cicatricial pós-operatório, apontam a necessidade de estudos complementares.

2.1- Resposta cicatricial pós-LASEK

Laser subepitelial keratomileusis (LASEK) é considerada uma modificação da técnica PRK, onde é criado um retalho epitelial após a aplicação de solução alcoólica⁽⁵¹⁾. Após a fotodisrupção do tecido estromal, o retalho epitelial é reposicionado. As maiores vantagens teóricas associadas ao LASEK são a menor sintomatologia pós-operatória e a menor formação de opacidade corneana⁽⁵²⁾.

Acredita-se que o retalho epitelial criado atue como um curativo biológico, protegendo o estroma da ação de citocinas epiteliais, diminuindo a formação de opacidades corneanas, bem como minimizando a dor pós-operatória. Além disso, especula-se que grande parte das células epiteliais permaneçam viáveis após a aplicação de solução alcoólica, resultando em menor metabolismo epitelial. Lee et al⁽⁵³⁾ encontraram uma menor quantidade de TGF- β no fluido lacrimal no pós-operatório de LASEK em comparação ao PRK. Como dito anteriormente, TGF- β participa diretamente na conversão de fibroblastos em miofibroblastos, e sua baixa concentração pós-LASEK sugere um menor estímulo para opacificação corneana pós-operatória. Entretanto, diversos estudos clínicos contradizem as vantagens teóricas do LASEK e apontam diversas adversidades envolvendo o processo cicatricial⁽⁵⁴⁻⁵⁵⁾.

Chen et al⁽⁵⁶⁾ demonstraram uma alta taxa de sobrevivência das células epiteliais após exposição à solução alcoólica (20%) durante 20 segundos. A alta viabilidade das células epiteliais é considerada fundamental para manutenção das propriedades fisiológicas do epitélio. Entretanto, apesar da

alta viabilidade das células epiteliais, não foi realizada no mesmo estudo uma diferenciação entre os diversos tipos de células componentes do tecido epitelial. A simples preservação de células superficiais e aladas, as quais representam a grande maioria das células epiteliais não garantem a viabilidade do epitélio caso as células basais estejam lesadas. Portanto, o mais importante seria determinar a viabilidade específica das células basais, detentoras de alta capacidade proliferativa. Além disso, a membrana basal constitui um tecido de sustentação para as células basais e sua preservação é fundamental para a viabilidade dessas células.

Espana et al⁽⁵⁷⁾ demonstraram o plano de clivagem da membrana basal após LASEK como sendo entre as lâminas lúcida e densa, sugerindo total clivagem da membrana basal epitelial. Portanto, é de se esperar uma curta viabilidade das células basais e conseqüente inviabilidade epitelial após LASEK. A presença de um tecido epitelial não viável recobrimo o leito estromal pode resultar num lento e assimétrico processo de reepitelização, resultando em lenta recuperação da acuidade visual e até mesmo maior risco de opacidade corneana.

Além disso, existem diferentes graus de adesão epitélio-estromal exigindo muitas vezes diferentes tempos de exposição à solução alcoólica e principalmente variações no tempo requerido para criação do "flap" epitelial. A difícil reprodutibilidade técnica observada durante o LASEK pode resultar em significativa inacurácia do nomograma empregado e gerar importantes graus de hiper ou hipocorreções⁽⁵⁸⁾.

2.2- Resposta cicatricial pós-PRK com Mitomicina

A mitomicina C (MMC) é um quimioterápico de ação sistêmica, o qual foi recentemente introduzido na área oftalmológica. Sua aplicação tópica em casos selecionados têm trazido bons resultados no tratamento de glaucoma, pterígio e até neoplasias intra-epiteliais conjuntivais⁽⁵⁹⁻⁶¹⁾. O mecanismo de ação da mitomicina C baseia-se em seu efeito citostático, bloqueando a replicação do DNA e RNA, bem como toda síntese protéica celular⁽⁶⁰⁾. Como conseqüência, a mitomicina C é capaz de inibir a mitose celular e a proliferação das células epiteliais, estromais e endoteliais, bem como fibroblastos conjuntivais, componentes da cápsula de Tenon^(59,61).

Mais recentemente, o uso tópico da mitomicina foi introduzido com sucesso para tratamento e prevenção da opacificação corneana após PRK⁽⁶²⁾. Sua aplicação no tecido corneano, consiste na remoção do epitélio e aplicação direta no leito estromal em uma concentração de 0,02% durante período de tempo variável entre 12 segundos a 2 minutos.

A aplicação da mitomicina vêm sendo empregada com caráter terapêutico, em casos de opacidade pré-existente, ou profilático, em pacientes com alto risco para formação de opacidade corneana pós-operatória. Vigo et al⁽⁶³⁾ demonstraram uma significativa melhora na transparência em 31 pacientes com opacidade corneana pré-operatória, após serem submetidos à terapêutica com mitomicina C a 0,02% durante 2 minutos. Acredita-se que nesses casos com finalidade terapêutica, a remoção mecânica da fibrose sub-epitelial associada a ação

deletéria da mitomicina C sobre as células estromais, resulte na apoptose e necrose de muitos miofibroblastos, minimizando a opacidade corneana. Além disso a mitomicina tem também uma ação teoricamente preventiva, evitando o reaparecimento dos miofibroblastos nesses casos. Acredita-se que a forma mais eficaz de tratamento de opacidades corneanas pré-operatórias consista na remoção mecânica dos miofibroblastos através de laser com o uso da função foto-terapêutica (PTK), seguida da aplicação tópica da mitomicina. Dessa forma, os miofibroblastos serão eliminados pelo laser e a ação antimetabólica da mitocina C impedirá que novos miofibroblastos venham a se formar.

Por outro lado, em casos de alto risco para desenvolvimento de opacidade corneana pós-operatório, têm se indicado o uso da mitomicina C com finalidade profilática⁽⁶⁴⁾. As principais indicações consistem nos casos onde será necessária uma significativa remoção de tecido estromal, (geralmente superior a 85-90 micras) embora a paquimetria corneana não permita a segura realização do LASIK. Além disso, o uso profilático da mitomicina C tem sido indicado nos casos onde exista algum fator de risco para o desenvolvimento de opacidade corneana, incluindo-se: desenvolvimento de opacidade significativa no olho contralateral, retratamentos de olhos que desenvolveram opacidade anteriormente ou casos em que será feito PRK após prévio LASIK ou ceratotomia radial.

O mecanismo de ação da MMC nos casos profiláticos é o mesmo, consistindo no bloqueio da replicação dos fibroblastos, impedindo que mais fibroblastos venham a se transformar em miofibroblastos. Poucos fibroblastos previamente existentes podem vir a se diferenciar em miofibroblastos, levando a uma mínima opacificação corneana. Clinicamente observa-se uma opacidade residual mesmo após a aplicação da MMC com finalidade profilática. Estudos iniciais têm mostrado satisfatórios resultados com o uso de Mitomicina C em olhos virgens. Carones et al⁽⁶⁵⁾ reportaram menor incidência de opacidade corneana em um grupo de 60 pacientes com erro refracional entre -6,00 e -10,00 dioptrias, submetidos a PRK com mitomicina.

Entretanto, o bloqueio da replicação de fibroblastos a longo prazo pode resultar na defeituosa repopulação celular e conseqüente diminuição da celularidade estromal, levando a uma possível alteração estrutural do tecido corneano. Possíveis complicações como afinamento corneano e até mesmo ectasias são motivos de grande preocupação a longo prazo. Efeitos secundários tardios vêm sendo descritos vários anos após a aplicação córneo-escleral, em muitos casos ocorrendo 10 anos após a terapêutica inicial⁽⁶⁶⁻⁶⁷⁾.

Em resumo, embora eficaz e aparentemente seguro a curto e médio prazo, o uso da Mitomicina C deve ser bastante criterioso e preferivelmente evitado até que seja completamente afastada a possibilidade de complicações corneanas em longo prazo.

Também como uma tentativa de se diminuir o índice de opacificação pós PRK, têm se aventado o uso sistêmico de vitamina C. Acredita-se que a vitamina C tenha efeito protetor sobre a radiação ultravioleta liberada pelo excimer laser, resul-

tando na proteção dos ceratócitos e conseqüente menor ativação da resposta cicatricial. Kasetsuwan et al⁽⁶⁸⁾ observaram um menor dano tissular oxidativo, bem como uma menor reação inflamatória subsequente a aplicação tópica de vitamina C pós PRK. Stojanovic e Nitter⁽⁶⁹⁾ em um estudo envolvendo 201 pacientes também descreveram uma menor opacificação corneana em pacientes submetidos à suplementação alimentar contendo vitamina C. Entretanto, Corbett et al⁽⁷⁰⁾ não observaram qualquer efeito da vitamina C na prevenção da opacidade corneana em coelhos. Maiores e mais completos estudos populacionais entre diferentes centros se fazem necessário para se estabelecer a real eficácia da vitamina C na prevenção da opacidade corneana pós-operatória.

2.3- Resposta cicatricial pós Epi-LASIK

Recentemente foi descrito por Pallikaris et al⁽⁷¹⁾, uma nova técnica de ceratectomia superficial chamada Epi-LASIK, a qual consiste na criação de um retalho epitelial de forma automatizada. A nova técnica baseia-se no emprego de um microcerátomo modificado (epicerátomo), capaz de promover a separação epitélio-estromal. Teoricamente, o epicerátomo seria capaz de separar as duas camadas sem causar dano a nenhuma estrutura, utilizando-se de mecanismo de contra-pressão e alta frequência de oscilação de uma lâmina sem corte. Inegável vantagem consiste na maior sistematização e previsibilidade na criação do retalho epitelial, diminuindo o tempo intra-operatório, bem como evitando variações no grau de desidratação estromal.

A principal vantagem teórica seria a preservação da integridade da membrana basal, mantendo um epitélio altamente viável. Teoricamente, a membrana basal íntegra seria capaz de atuar como uma barreira mecânica, evitando o contato de citocinas pró-inflamatórias epiteliais com células estromais, minimizando a ativação da resposta apoptótica. Por outro lado, um epitélio totalmente íntegro possibilitaria uma mais rápida recuperação visual, bem como menor sintomatologia pós-operatória. Polemiza-se portanto se tais micro-erupções na membrana basal, observadas com microscopia eletrônica, seriam suficientes para bloquear ou ao menos minimizar o influxo estromal das citocinas epiteliais, diminuindo a incidência de opacificação corneana pós-operatória.

Entretanto, estudos anatômicos iniciais evidenciaram a presença de difusos micro-traumas ao nível da membrana basal⁽⁷²⁾.

Estudos em andamento* Netto MV, Chalita MR, Rayborn M, Wilson SE, Krueger RR, 2004, bem como publicações informais revelam uma mais rápida recuperação visual bem como uma maior facilidade e reprodutibilidade na criação do "flap" epitelial. Entretanto, foi observado em alguns casos uma desepitelização central tardia, resultando em uma lenta recuperação visual nesses casos. Finalmente, a eficácia dessa técnica na prevenção da opacificação corneana pós-operatória não foi ainda confirmada e merece cuidadosa investigação.

RESPOSTA CICATRICAL APÓS TRATAMENTO REFRACTIVO PERSONALIZADO

Recentes avanços tecnológicos baseados no maior conhecimento óptico trouxeram à tona a possibilidade de se corrigir erros refrativos baseados na análise da frente de onda. O maior objetivo desse tratamento consiste na correção de aberrações de alta ordem presentes no olho humano, resultando em uma melhoria quantitativa e qualitativa da visão final. Tal tecnologia pode ser teoricamente empregada nas diversas técnicas cirúrgicas existentes de ceratectomia lamelar e de superfície.

Entretanto, para se atingir o máximo resultado esperado, várias limitações precisam ser vencidas. Entre elas, destacam-se as respostas biomecânica e cicatricial pós-operatórias, capazes de interferir completamente no resultado final.

A precisão micrométrica dos novos modelos de laser permitem a delicada escultura do estroma corneano, guiados pela prévia análise da frente de onda. Entretanto, a resposta cicatricial representada principalmente pela remodelação estromal e hiperplasia epitelial tendem a mascarar parcialmente tal efeito⁽⁷³⁾. É esperado que células epiteliais preencham os microvales criados pelos raios de laser, compensando a nível superficial a delicada escultura planejada. Paralelamente à hiperplasia epitelial, à proliferação dos ceratócitos é capaz de remodelar o leito estromal, no intuito de se regularizar a interface epitélio-estromal, mascarando parcialmente os efeitos da micrométrica correção personalizada⁽⁷³⁾.

CONCLUSÃO

Diversos fatores participam da resposta cicatricial corneana, influenciando diretamente no resultado refrativo final, bem como na eventual presença de complicações pós-operatórias. O maior conhecimento dos mecanismos envolvidos na resposta cicatricial corneana ajudam na compreensão e seleção da técnica cirúrgica refrativa mais apropriada para cada paciente.

Para o futuro, espera-se um esforço continuado na busca por possíveis moduladores farmacológicos ou genéticos da resposta cicatricial desencadeada por procedimentos cerato-refrativos.

ABSTRACT

The corneal wound healing response following refractive procedures represents a subject of high relevance, due to its direct influence on the postoperative results. Technical modifications of current refractive procedures, like the automated flap creation with the femtosecond laser, LASEK, PRK with mitomycin C and Epi-LASIK have been proposed as alternatives to traditional LASIK and PRK. Several theoretical advantages have encouraged the diffusion of these new techniques; however, a better understanding of the corneal wound

* Encaminhado para publicação.

healing response following these procedures is required. The present text proposes a review of the corneal wound healing characteristics following different modalities of refractive surgical procedures.

Keywords: Córnea; Wound healing; Keratomileusis, laser in situ /methods; Epithelium corneal; Refractive errors/surgery

REFERÊNCIAS

- Wilson SE, He Y-G, Weng J, Li Q, McDowall AW, Vital M, et al. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: Hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization. *Exp Eye Res.* 1996; 62(4):325-7.
- Helena MC, Baerveldt F, Kim WJ, Wilson SE. Keratocyte apoptosis after corneal surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39(2):276-83.
- Mohan RR, Liang Q, Kim WJ, Helena MC, Baerveldt F, Wilson SE. Apoptosis in the cornea: further characterization of Fas/Fas ligand system. *Exp Eye Res.* 1997;65(4):575-89.
- Mohan RR, Kim WJ, Mohan RR, Chen L, Wilson SE. Bone morphogenic proteins 2 and 4 and their receptors in the adult human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39(13):2626-36.
- Wilson SE, He YG, Weng J, Li Q, McDowall AW, Vital M, Chwang EL. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Exp Eye Res.* 1996;62(4):325-7.
- Mohan RR, Mohan RR, Kim WJ, Wilson SE. Modulation of TNF-alpha-induced apoptosis in corneal fibroblasts by transcription factor NF-kb. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41(6):1327-36.
- Wilson SE, Chen L, Mohan RR, Liang Q, Liu J. Expression of HGF, KGF, EGF and receptor messenger RNAs following corneal epithelial wounding. *Exp Eye Res.* 1999;68(4):377-97.
- Tuominen IS, Tervo TM, Teppo AM, Valle TU, Gronhagen-Riska C, Vesaluoma MH. Human tear fluid PDGF-BB, TNF-alpha and TGF-beta1 vs corneal haze and regeneration of corneal epithelium and subbasal nerve plexus after PRK. *Exp Eye Res.* 2001;72(6):631-41.
- Jester JV, Huang J, Petroll WM, Cavanagh HD. TGFbeta induced myofibroblast differentiation of rabbit keratocytes requires synergistic TGFbeta, PDGF and integrin signaling. *Exp Eye Res.* 2002;75(6):645-57.
- Hong JW, Liu JJ, Lee JS, Mohan RR, Mohan RR, Woods DJ, et al. Proinflammatory chemokine induction in keratocytes and inflammatory cell infiltration into the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(12):2795-803.
- Dohlman CH, Gasset AR, Rose J. The effect of the absence of corneal epithelium or endothelium on stromal keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1968;7(5):520-34.
- Campos M, Szerenyi K, Lee M, McDonnell JM, Lopez PF, McDonnell PJ. Keratocyte loss after corneal deepithelialization in primates and rabbits. *Arch Ophthalmol.* 1994;112(12):254-60. Comment in: *Arch Ophthalmol.* 1994; 112(12):1509.
- Polack, F.M., Keratocyte loss after corneal deepithelialization in primates and rabbits. *Arch Ophthalmol.* 1994;112(12):1509. Comment on: *Arch Ophthalmol.* 112(2):254-60.
- Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol.* 1992;119(3):493-501.
- Lovelace CIP, Zhang J, Vanek PG, Collier B. Detecting apoptotic cells in situ. *Biomed Prod.* 1996;21:76-7.
- Mohan RR, Hutcheon AE, Choi R, Hong J, Lee J, Mohan RR, et al. Apoptosis, necrosis, proliferation, and myofibroblast generation in the stroma following LASIK and PRK. *Exp Eye Res.* 2003;76(1):71-87.
- O'Brien T, Li Q, Ashraf MF, Matteson DM, Stark WJ, Chan CC. Inflammatory response in the early stages of wound healing after excimer laser keratectomy. *Arch Ophthalmol.* 1998;116(11):1470-4.
- Wilson SE, Mohan RR, Netto M, Perez V, Possin D, Huang J, et al. RANK, RANKL, OPG, and M-CSF expression in stromal cells during corneal wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(7):2201-11.
- Graf B, Poulquien Y, Frouin MA, De Montaut F. The phenomena of reabsorption in the course of cicatrization of experimental wounds of the cornea (ultrastructural study). *Exp Eye Res.* 1972;13(1):24-32.
- Denk PO, Knorr M. The in vitro effect of platelet-derived growth factor isoforms on the proliferation of bovine corneal stromal fibroblasts depends on cell density. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1997;235(8):530-4.
- Cintron C, Gregory JD, Damle SP, Kublin CL. Biochemical analyses of proteoglycans in rabbit corneal scars. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1990; 31(10):1975-81.
- Jester JV, Moller-Pedersen T, Huang J, Sax CM, Kays WT, Cavanagh HD, et al. The cellular basis of corneal transparency: evidence for 'corneal crystallins'. *J Cell Sci.* 1999;112(Pt 5):613-22.
- Folger PA, Zekaria D, Grotendorst G, Masur SK. Transforming growth factor-beta-stimulated connective tissue growth factor expression during corneal myofibroblast differentiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(11):2534-41.
- Wilson SE, Netto M, Ambrosio R. Corneal cells: chatty in development, homeostasis, wound healing, and disease. *Am J Ophthalmol.* 2003;136(3):530-6.
- Ivarsen A, Laurberg T, Moller-Pedersen T. Characterisation of corneal fibrotic wound repair at the LASIK flap margin. *Br J Ophthalmol.* 2003;87(10):1272-8.
- Stramer BM, Zieske JD, Jung JC, Austin JS, Fini ME. Molecular mechanisms controlling the fibrotic repair phenotype in cornea: implications for surgical outcomes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(10):4237-46.
- Lohmann CP, Guell JL. Regression after LASIK for the treatment of myopia: the role of the corneal epithelium. *Semin Ophthalmol.* 1998;13(2):79-82.
- Reinstein DZ, Silverman RH, Raevsky T, Simoni GJ, Lloyd HO, Najafi DJ, et al. Arc-scanning very high-frequency digital ultrasound for 3D pachymetric mapping of the corneal epithelium and stroma in laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg.* 2000;16(4):414-30.
- Moller-Pedersen T, Cavanagh HD, Petroll WM, Jester JM. Corneal haze development after PRK is regulated by volume of stromal tissue removal. *Cornea.* 1998;17(6):627-39.
- Vinciguerra P, Azzolini M, Airaghi P, Radice P, De Molfetta V. Effect of decreasing surface and interface irregularities after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis on optical and functional outcomes. *J Refract Surg.* 1998;14(2 Suppl):S199-203.
- Holzer MP, Solomon KD, Vroman DT, Vargas LG, Sandoval HP, Kasper TJ, et al. Diffuse lamellar keratitis: evaluation of etiology, histopathologic findings, and clinical implications in an experimental animal model. *J Cataract Refract Surg.* 2003;29(3):542-9.
- Mulhern MG, Naor J, Rootman DS. The role of epithelial defects in intralamellar inflammation after laser in situ keratomileusis. *Can J Ophthalmol.* 2002;37(7):409-15.
- Nakamura Y, Sotozono C, Kinoshita S. The epidermal growth factor receptor (EGFR): role in corneal wound healing and homeostasis. *Exp Eye Res.* 2001; 72(5):511-7.
- Wilson SE, Mohan RR, Hutcheon AE, Mohan RR, Ambrosio R, Zieske JD, et al. Effect of ectopic epithelial tissue within the stroma on keratocyte apoptosis, mitosis, and myofibroblast transformation. *Exp Eye Res.* 2003;76(2): 193-201.
- Natarajan K, Chodosh J, Kennedy R. Innate immunity in the cornea: a putative role for keratocytes in the chemokine response to viral infection of the human corneal stroma. *Adv Exp Med Biol.* 2002;506(Pt 2):745-51.
- Krueger RR, Juhasz T, Gualano A, Marchi V. The picosecond laser for nonmechanical laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg.* 1998;14(4):467-9.
- Nordan LT, Slade SG, Baker RN, Suarez C, Juhasz T, Kurtz R. Femtosecond laser flap creation for laser in situ keratomileusis: six-month follow-up of initial U.S. clinical series. *J Refract Surg.* 2003;19(1):8-14.
- Ibrahim-Elzembely HA, Kaufman SC, Kaufman HE. Human fibrin tissue glue for corneal lamellar adhesion in rabbits: a preliminary study. *Cornea.* 2003; 22(8):735-9.
- Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking. *J Cataract Refract Surg.* 2003;29(9):1780-5.
- Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol.* 2003;135(5): 620-7.
- Patel SV, McLaren JW, Camp JJ, Nelson LR, Bourne WM. Automated quantification of keratocyte density by using confocal microscopy in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40(2):320-6.

42. Phan TM, Foster CS, Zagachin LM, Colvin RB. Role of fibronectin in the healing of superficial keratectomies in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1989;30(3):386-91.
43. Kurpakus MA, Daneshvar C, Davenport J, Kim A. Human corneal epithelial cell adhesion to laminins. *Curr Eye Res.* 1999;19(2):106-14.
44. Thom SB, Myers JS, Rapuano CJ, Eagle RC Jr, Siepser SB, Gomes JA. Effect of topical anti-transforming growth factor-beta on corneal stromal haze after photorefractive keratectomy in rabbits. *J Cataract Refract Surg.* 1997;23(9):1324-30.
45. Maurice DM. The transparency of the corneal stroma. *Vision Res.* 1970;10(1):107-8.
46. Michelacci YM. Collagens and proteoglycans of the corneal extracellular matrix. *Braz J Med Biol Res.* 2003;36(8):1037-46.
47. Maltseva O, Folger P, Zekaria D, Petridou S, Masur SK. Fibroblast growth factor reversal of the corneal myofibroblast phenotype. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(11):2490-5.
48. Miyamoto T, Saika S, Yamanaka A, Kawashima Y, Suzuki Y, Ohnishi Y. Wound healing in rabbit corneas after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 2003;29(1):153-8.
49. Wachtlin J, Langenbeck K, Schrunder S, Zhang EP, Hoffmann F. Immunohistology of corneal wound healing after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg.* 1999;15(4):451-8.
50. Park CK, Kim JH. Comparison of wound healing after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis in rabbits. *J Cataract Refract Surg.* 1999;25(6):842-50.
51. Camellin M. Laser epithelial keratomileusis for myopia. *J Refract Surg.* 2003;19(6):666-70.
52. Vinciguerra P, Camesasca FI, Randazzo A. One-year results of butterfly laser epithelial keratomileusis. *J Refract Surg.* 2003;19(2 Suppl):S223-6.
53. Lee JB, Choe CM, Kim HS, Seo KY, Seong GJ, Kim EK. Comparison of TGF-beta1 in tears following laser subepithelial keratomileusis and photorefractive keratectomy. *J Refract Surg.* 2002;18(2):130-4.
54. Litwak S, Zadok D, Garcia-de Quevedo V, Robledo N, Chayet AS. Laser-assisted subepithelial keratectomy versus photorefractive keratectomy for the correction of myopia. A prospective comparative study. *J Cataract Refract Surg.* 2002;28(8):1330-3.
55. Lee JB, Seong GJ, Lee JH, Seo KY, Lee YG, Kim EK. Comparison of laser epithelial keratomileusis and photorefractive keratectomy for low to moderate myopia. *J Cataract Refract Surg.* 2001;27(4):565-70.
56. Chen CC, Chang JH, Lee JB, Javier J, Azar DT. Human corneal epithelial cell viability and morphology after dilute alcohol exposure. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43(8):2593-602.
57. Espana EM, Grueterich M, Mateo A, Romano AC, Yee SB, Yee RW, et al. Cleavage of corneal basement membrane components by ethanol exposure in laser-assisted subepithelial keratectomy. *J Cataract Refract Surg.* 2003;29(6):1192-7.
58. Ambrosio R, Wilson S. LASIK vs LASEK vs PRK: advantages and indications. *Semin Ophthalmol.* 2003;18(1):2-10.
59. Lee JS, Oum BS, Lee SH. Mitomycin C influence on inhibition of cellular proliferation and subsequent synthesis of type I collagen and laminin in primary and recurrent pterygia. *Ophthalmic Res.* 2001;33(2):140-6.
60. Watanabe J, Sawaguchi S, Fukuchi T, Abe H, Zhou L. Effects of mitomycin C on the expression of proliferating cell nuclear antigen after filtering surgery in rabbits. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1997;235(4):234-40.
61. Pinilla I, Larrosa JM, Polo V, Honrubia FM. Subconjunctival injection of low doses of mitomycin C: effects on fibroblast proliferation. *Ophthalmologica.* 1998;212(5):306-9.
62. Majmudar PA, Forstot SL, Dennis RF, Nirankari VS, Damiano RE, Brenart R, et al. Topical mitomycin-C for subepithelial fibrosis after refractive corneal surgery. *Ophthalmology.* 2000;107(1):89-94.
63. Vigo L, Scandola E, Carones F. Scraping and mitomycin C to treat haze and regression after photorefractive keratectomy for myopia. *J Refract Surg.* 2003;19(4):449-54.
64. Lane HA, Swale JA, Majmudar PA. Prophylactic use of mitomycin-C in the management of a buttonholed LASIK flap. *J Cataract Refract Surg.* 2003;29(2):390-2.
65. Carones F, Vigo L, Scandola E, Vacchini L. Evaluation of the prophylactic use of mitomycin-C to inhibit haze formation after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg.* 2002;28(12):2088-95.
66. Safianik B, Ben-Zion I, Garzozzi HJ. Serious corneoscleral complications after pterygium excision with mitomycin C. *Br J Ophthalmol.* 2002;86:357-8.
67. Dougherty PJ, Hardten DR, Lindstrom RL. Corneoscleral melt after pterygium surgery using a single intraoperative application of mitomycin-C. *Cornea.* 1996;15(5):537-40.
68. Kasetsuwan N, Wu FM, Hsieh F, Sanchez D, McDonnell PJ. Effect of topical ascorbic acid on free radical tissue damage and inflammatory cell influx in the cornea after excimer laser corneal surgery. *Arch Ophthalmol.* 1999;117(5):649-52.
69. Stojanovic A, Nitter TA. Correlation between ultraviolet radiation level and the incidence of late-onset corneal haze after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg.* 2001;27(3):404-10.
70. Corbett MC, O'Brart DP, Patmore AL, Marshall J. Effect of collagenase inhibitors on corneal haze after PRK. *Exp Eye Res.* 2001;72(3):253-9.
71. Pallikaris IG, Katsanevaki VJ, Kalyvianaki MI, Naoumidi II. Advances in subepithelial excimer refractive surgery techniques: Epi-LASIK. *Curr Opin Ophthalmol.* 2003;14(4):207-12.
72. Pallikaris IG, Naoumidi II, Kalyvianaki MI, Katsanevaki VJ. Epi-LASIK: comparative histological evaluation of mechanical and alcohol-assisted epithelial separation. *J Cataract Refract Surg.* 2003;29(8):1496-501.
73. Netto MV, Wilson SE. Corneal wound healing relevance to wavefront guided laser treatments. *Ophthalmol Clin North Am.* 2004;17(2):225-31.

XVII JORNADA DE OFTALMOLOGIA CENTRO DE ESTUDOS PROF. HEITOR MARBACK

11 e 12 de Março de 2005
Fiesta Convention Center
Salvador - BA

INFORMAÇÕES: **INTERLINK Consultoria & Eventos Ltd.**
Tel: (71) 336-5644 - Fax (71) 336-5633
Email: itl@interlinkeventos.com.br
Home page: www.interlineventos.com.br