



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2013/2014

Ana Sofia da Rocha Teixeira
Crosslinking no tratamento do
queratocone e ectasia pós-lasik

março, 2014

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Ana Sofia da Rocha Teixeira
Crosslinking no tratamento do
queratocone e ectasia pós-lasik

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Oftalmologia

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:
Doutor Luís Miguel Gonçalves Torrão**

**Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:
Acta Oftalmológica**

março, 2014

FMUP

Eu, Ana Sofia da Rocha Ferreira, abaixo assinado, nº mecanográfico 2002 01 165, estudante do 6º ano do Ciclo de Estudos Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 26/03/2014

Assinatura conforme cartão de identificação:

Ana Sofia da Rocha Ferreira

NOME

Ana Sofia da Rocha Teixeira

CARTÃO DE CIDADÃO OU PASSAPORTE (se estrangeiro)

E-MAIL

TELEFONE OU TELEMÓVEL

13468392

mimed07045@med.up.pt

915049589

NÚMERO DE ESTUDANTE

DATA DE CONCLUSÃO

200701165

2014

DESIGNAÇÃO DA ÁREA DO PROJECTO

Oftalmologia

TÍTULO DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA (riscar o que não interessa)

Crosslinking no tratamento do queratocone e ectasia pós-lasik

ORIENTADOR

Luís Miguel Gonçalves Torrão

COORDENADOR (se aplicável)

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação/Monografia (riscar o que não interessa) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projectos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 26 / 03 / 2014

Assinatura conforme cartão de identificação:

Ana Sofia da Rocha Teixeira

*À minha Família,
Aos meus Amigos,
E ao Luís.*

Crosslinking no tratamento do queratocone e ectasia pós-lasik

Ana Sofia da Rocha Teixeira¹

Luís Miguel Gonçalves Torrão^{1, 2}

¹ Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Alameda Professor Hernâni Monteiro, 4200 - 319 Porto, PORTUGAL

² Serviço de Oftalmologia, Hospital de São João, Alameda Professor Hernâni Monteiro, 4200 - 319 Porto, PORTUGAL

Resumo

Esta revisão tem como objetivo sumarizar as alterações que o *crosslinking* promove ao nível dos parâmetros biomecânicos da córnea e o seu impacto na acuidade visual dos doentes com queratocone e ectasia pós-lasik.

O queratocone e a ectasia pós-lasik são doenças da córnea que levam à perda progressiva de visão. Nenhum dos tratamentos mais usados atualmente modifica a fisiopatologia da doença, limitando-se a tratar os sintomas. O *crosslinking*, usando a radiação UVA juntamente com a riboflavina, assume-se como uma terapêutica que intervém ao nível dos parâmetros biomecânicos da córnea, parando a progressão da doença.

Após análise da literatura existente, comprova-se que o *crosslinking*, um tratamento que promove o aumento da rigidez da córnea, aumento do diâmetro das fibras de colagénio, maior resistência à digestão enzimática e a um achatamento da curvatura da córnea, leva à melhoria da acuidade visual dos doentes com queratocone e ectasia pós-LASIK. Assim, e com o objetivo de parar a progressão da doença, deve ser realizado o mais precocemente possível.

Abstract

This review aims to summarize the changes that crosslinking promotes on biomechanical parameters of the cornea and their impact on visual acuity of the patients with keratoconus and post- LASIK ectasia.

The keratoconus and post-LASIK ectasia are corneal diseases that lead to progressive loss of vision. None of the treatments commonly used modifies the pathophysiology of the disease and only treat the symptoms. Crosslinking using UVA light with riboflavin enhances the biomechanical properties of the corneal tissue and halt the progression of the diseases.

After review of the literature, it was demonstrated that crosslinking, a treatment that increases the rigidity of the cornea, the diameter of collagen fibers, enhances the resistance to proteolysis and a flattening of the curvature of the cornea. Those changes lead to improved visual acuity of patients with keratoconus and post-LASIK ectasia. Thus, in order to stop the progression of the disease, it should be performed as early as possible.

Palavras-chave

Crosslinking, Queratocone, Ectasia pós-LASIK

Key-words

Crosslinking, keratoconus, post-LASIK Ectasia

Introdução

A córnea, a porção mais anterior do olho, caracteriza-se pela sua robustez, protegendo as estruturas mais interiores do olho, e transparência, fundamental para a correta passagem da luz até à retina. É também responsável por aproximadamente 75% do poder de focar a imagem[1]. O estroma da córnea é composto maioritariamente por colagénio, água e proteoglicanos. As fibras de colagénio são meticulosamente organizadas, dispendo-se paralelamente entre si numa conformação lamelar[2].

O queratocone é um tipo de ectasia da córnea que leva à perda de espessura da mesma devido à diminuição das ligações covalentes entre as fibras de colagénio. Essa mudança estrutural leva ao desenvolvimento de uma curvatura cónica da córnea, causando miopia elevada e astigmatismo irregular, com perda progressiva da visão[3]. Afecta 1 em cada 2000 jovens adultos, tendo início pela adolescência e estabilizando pelos 40 anos[4].

Para além do *crosslinking*, as opções terapêuticas passam pelo tratamento conservador, com lentes de contacto rígidas, ou cirúrgico, com anéis corneanos intraestromais ou através do transplante de córnea[5]. Destas, apenas o *crosslinking* se propõe atuar no processo fisiopatológico.

A ectasia é uma complicação séria do tratamento com *Laser-Assisted in Situ Keratomileusis* (LASIK)[6]. Está associada a alterações da conformação da córnea, aumento da miopia e astigmatismo, bem como diminuição da acuidade visual. O tratamento passa não só pela queratoplastia lamelar ou penetrante, mas também pelos tratamentos mais conservadores, através de fármacos que diminuem a pressão

intra-ocular[7], lentes de contacto rígidas, anéis corneanos intraestromais[8] e/ou pelo *crosslinking*[9].

Esta opção terapêutica é uma técnica que usa a radiação ultra-violeta A (UVA), combinada com a riboflavina, também conhecida por vitamina B12, que atua como fotossensibilizadora, para fortalecer as ligações covalentes entre as fibras de colagénio e aumentar a estabilidade biomecânica do estroma da córnea[5]. O objetivo do tratamento é parar as alterações da córnea progressivas e irregulares, globalmente chamadas de ectasia, nomeadamente o queratocone e a ectasia pós-LASIK[10]. É importante salientar que o *crosslinking* atrasa a progressão da doença, ao intervir na fisiopatologia, não se limitando a corrigir os sintomas, nomeadamente a acuidade visual, como as restantes tratamentos mencionados[10, 11].

O objetivo deste estudo é sumarizar as diversas alterações nos parâmetros biomecânicos provocados pelo *crosslinking* no queratocone e na ectasia pós-LASIK.

Materiais e métodos

A pesquisa bibliográfica foi realizada através da Pubmed (MEDLINE), usando as seguintes queries: [crosslinking[All Fields] AND "ectasia"[All Fields] AND after[All Fields] AND ("keratomileusis, laser in situ"[MeSH Terms] OR ("keratomileusis"[All Fields] AND "laser"[All Fields] AND "situ"[All Fields]) OR "laser in situ keratomileusis"[All Fields] OR "lasik"[All Fields])] e [crosslinking[All Fields] AND ("keratoconus"[MeSH Terms] OR "keratoconus"[All Fields])].

A última pesquisa foi feita em Fevereiro de 2013, com um total de 159 artigos obtidos.

Foram incluídos os artigos que referissem as alterações biomecânicas após o *crosslinking* em doentes com queratocone ou ectasia pós-LASIK.

Foram excluídos os artigos que não tinham usado o *crosslinking* como tratamento ou que o tenham aplicado em outras patologias que não o queratocone ou a ectasia pós-LASIK.

No total, foram obtidos 42 artigos, que foram integralmente selecionados por um revisor apenas.

Procedimento

A técnica do *crosslinking* habitualmente guia-se pelo protocolo de Dresden, descrito pela primeira vez por *Wollensak* e colaboradores[12]. Este inicia-se com a aplicação de anestesia tópica, remoção de 8-9mm de epitélio central através de uma lâmina ou empregando uma escova rotativa, através do uso do álcool ou remoção com Laser[10].

É então aplicada uma solução de riboflavina a 0,1% a cada 2-5 minutos, durante meia hora, até que esta penetre por todo o estroma. A riboflavina tem uma função dupla, actuando não só como foto-sensibilizadora na indução de *crosslinking*, mas também como um “filtro selectivo”, protegendo os tecidos subjacentes dos possíveis efeitos citotóxicos da radiação UVA[12].

A córnea é irradiada com UVA por 30 minutos, numa dose de $3\text{mW}/\text{cm}^2$, correspondendo a $5,4\text{J}/\text{cm}^2$, que é contabilizada através de um medidor de radiação[11]. A riboflavina é continuamente administrada no intervalo acima descrito ao longo de todo o procedimento[10].

Por fim, é aplicada uma lente de contacto terapêutica até que o epitélio retirado regenere, e colocados agentes anti-inflamatórios e antibióticos tópicos[10].

Resultados

Rigidez da córnea

Diversos estudos comprovaram o aumento da rigidez da córnea após o tratamento com *crosslinking*[5, 13, 14], que se acredita ser devido à formação de ligações covalentes entre as fibras de colagénio[5]. A rigidez de uma córnea humana aumenta em até 320% após o tratamento[14]. Acredita-se que a remodelação das fibras de colagénio seja lenta, o que é crucial para a manutenção da estabilidade das ligações covalentes induzidas pelo procedimento[14]. Dado que o sucesso da técnica está dependente da manutenção da rigidez da córnea induzida pela interacção da radiação UVA com a riboflavina[14], são necessários mais estudos a longo prazo para que se consigam tirar conclusões seguras[5].

Histerese da córnea e factor de resistência corneano

A histerese da córnea (HC) refere-se à viscosidade da córnea, enquanto o factor de resistência corneano (FRC) indica-nos a capacidade da córnea resistir à deformação[15].

Diversos estudos *in vitro* demonstraram que tanto a HC como o FRC aumentavam após o tratamento com *crosslinking*. No entanto, *in vivo* esses resultados não se têm demonstrado[16].

Diâmetro das fibras de colagénio

As fibras de colagénio são expressas ao longo de toda a córnea, sendo responsáveis pela sua rigidez e força. Além disso, a sua correcta organização e orientação contribuem para que a córnea obtenha a transparência necessária à sua

adequada função[17]. Assim sendo, o diâmetro das fibras de colagénio é um dos parâmetros mais importantes a valorizar após o tratamento com *crosslinking*[5].

O diâmetro das fibras aumenta após o tratamento, quando comparado com córneas ectásicas não tratadas[17]. Além disso, constatou-se que esse aumento é maior no estroma corneano anterior do que no posterior, que poderá ser devido à maior intensidade do *crosslinking* localizada nessa zona[17].

Comportamento termomecânico

Diversos estudos comprovaram *in vitro* que é possível a ocorrência de dano fotoquímico, mais precisamente lesões foto-oxidativas nos queratócitos e células endoteliais, após a exposição à radiação UVA, que é largamente absorvida na presença da riboflavina[18]. Outro risco possível da exposição à radiação UVA é a lesão pelo calor, já que a radiação pode ser convertida em energia térmica que, ao dispersar pelos tecidos, pode provocar dano pelo calor intenso[19].

Partindo de duas premissas, que a córnea tolera temperaturas até aos 50°C e o *crosslinking* com UVA-riboflavina aumenta o limiar para 75°C[19], e que a espessura mínima da córnea para realizar o tratamento é de 400 µm para prevenir o dano endotelial[19], diversos estudos comprovaram que não há risco de lesão térmica após o *crosslinking* na córnea nem nas estruturas que lhe são posteriores, nomeadamente o cristalino e a retina[5].

Digestão enzimática

Dado que existe a hipótese de o aumento da actividade das collagenases, da pepsina e da tripsina, poder levar à diminuição da espessura da córnea, o facto de o

crosslinking diminuir a digestão enzimática é uma vantagem[20]. Essa resistência poderá ser dependente do nível de radiação UVA empregue: quanto mais elevada, mais resistente ficará a córnea. Um outro facto curioso foi a constatação de que a digestão enzimática ocorre preferencialmente nas córneas submetidas ao procedimento, enquanto nas córneas não tratadas não se verificam diferenças entre o estroma anterior e o posterior. Isto pode ser explicado com o facto de o estroma anterior receber maiores níveis de radiação, que funcionará como protectora contra as enzimas[20].

Um outro estudo comprovou que o colagénio de tipo 1 desenvolvia um polímero de alto peso molecular (no mínimo 1000-kDa), que aparecia na electroforese como uma banda intensa[21]. Esta nova molécula é resistente à digestão pela pepsina, mercaptoetanol e ao calor, facto que pode justificar uma menor digestão enzimática nas córneas submetidas ao *crosslinking*[21].

Hidratação da Córnea

A córnea tem uma capacidade imensa de absorver fluidos, que leva à turgescência e, conseqüentemente, à diminuição da transparência[21]. Nesse sentido, reveste-se de especial importância estudar a hidratação da córnea após o tratamento com radiação UVA combinada com riboflavina.

O grau de turgescência da matriz de colagénio está inversamente relacionado com a intensidade do procedimento: quanto maiores as doses usadas, menor é a turgescência da córnea[5]. Este facto foi comprovado através da microscopia electrónica, onde se constatou que, após hidratação, a matriz anterior, que recebe doses mais elevadas de tratamento, não tinha alterações na espessura enquanto a

matriz posterior, onde o *crosslinking* praticamente não é induzido, apresentava um aumento da turgescência e, portanto, da espessura[22].

Apoptose dos queratócitos

O *crosslinking* com UVA-riboflavina estimula tanto a apoptose dos queratócitos como a sua regeneração[23]. A apoptose é um evento inicial porém benigno, que se pensa ocorrer no sentido de proteger a córnea da inflamação, que leva à perda da transparência[24], sendo também dependente da dose[25].

Considera-se que o dano celular produzido pela radiação UVA seja causado pela produção de Radicais Livres de Oxigênio (ROS), que ao mesmo tempo que causam citotoxicidade, poderão ser os responsáveis pela indução de *crosslinkings* entre as fibras de colagénio[21]. No entanto, após o tratamento com radiação UVA combinada com riboflavina, observa-se um pequeno, mas significativo, aumento da proliferação celular[23]. Esse aumento pode eventualmente dever-se à reposição dos queratócitos apoptóticos por células precursoras, que serão activadas em resposta a determinados estímulos, de forma a reestruturarem o estroma corneano nativo e devolvendo-lhe a sua natural transparência[23]. Foi demonstrado que, alguns meses depois, a população de queratócitos é reposta[9].

Curvatura da córnea

Um dos principais factores que levam ao sucesso do *crosslinking* é a redução da curvatura da córnea[26], traduzida na queratometria pela diminuição do K_{max} [27].

A maioria dos estudos demonstra uma redução significativa no valor do K_{max} nos pacientes submetidos à terapêutica[26-28]. Esse efeito de achatamento pode

prolongar-se no tempo, ou seja, mesmo que imediatamente após o procedimento a diminuição da curvatura da córnea ainda não seja significativa, o acúmulo desse efeito por vários anos pode levar a uma reabilitação expressiva da acuidade visual[26, 29].

Acuidade Visual

A maior parte dos estudos refere uma melhoria da acuidade visual discreta, normalmente não estatisticamente significativa[12, 30]. Num estudo realizado em 2013 por *Brooks, N. et al* [31], em que os pacientes tratados com radiação UVA/riboflavina responderam a um questionário no sentido de objectivar a clínica do pós-tratamento, chegou-se à conclusão que a grande maioria notava melhorias no que concernia à melhoria dos sintomas, nomeadamente maior facilidade em conduzir à noite e na leitura, diplopia, sensação de corpo estranho, um ano após o procedimento[31]. Estes parâmetros subjectivos acabam por corroborar os achados biomecânicos após o *crosslinking*.

Considera-se que a melhoria da visão após o tratamento ocorre como resultado de uma diminuição do astigmatismo aliado à diminuição da curvatura da córnea, bem como da homogeneização topográfica da córnea devido à sua maior rigidez[26].

Discussão

O *crosslinking* é um tratamento novo que tem apresentado resultados encorajadores no que diz respeito ao tratamento doenças ectásicas da córnea[27]. As alterações que impõe ao nível dos parâmetros biomecânicos da córnea, do aumento da rigidez e da diminuição da morfologia cónica das córneas ectásicas promovem uma melhoria significativa da acuidade visual[32]. Esta melhoria da visão é causada não só pela diminuição do astigmatismo e da curvatura da córnea, mas também pela homogeneização topográfica da córnea devido ao aumento da rigidez, como resultado das ligações covalentes induzidas pelo *crosslinking* entre as fibras de colagénio. Assim, também as lentes de contacto se adaptam melhor à córnea submetida ao tratamento[26].

A estabilidade biomecânica da córnea induzida pela radiação UVA combinada com a riboflavina pára a progressão do queratocone e da ectasia iatrogénica após LASIK[9]. Para além das vantagens clínicas, apresenta-nos numerosos benefícios a nível económico e psicológico para os doentes, já que é um tratamento minimamente invasivo, com boa relação custo-benefício e que, portanto, traz pouco *stress* para os pacientes[26]. No entanto, há que ter em conta que o queratocone, bem como a ectasia pós-LASIK, ainda não são curáveis. Assim, e como o *crosslinking* pára a progressão, reveste-se de extrema importância a sua utilização tão cedo quanto possível para que o dano prévio seja mínimo.

Uma limitação da grande maioria dos estudos é o *follow-up* curto, pois a eficácia deste procedimento está dependente da manutenção das modificações biomecânicas induzidas na córnea. Assim, mais estudos devem ser realizados no

sentido de prolongar o tempo de seguimento dos doentes para que as alterações a longo prazo possam ser esclarecidas.

Referências

1. Hayes, S., et al., The effect of riboflavin/UVA collagen cross-linking therapy on the structure and hydrodynamic behaviour of the ungulate and rabbit corneal stroma. *PLoS One*, 8(1): p. e52860.2013.
2. Maurice, D.M., The structure and transparency of the cornea. *J Physiol*, 136(2): p. 263-86.1957.
3. Sherwin, T. and N.H. Brookes, Morphological changes in keratoconus: pathology or pathogenesis. *Clin Experiment Ophthalmol*, 32(2): p. 211-7. 2004.
4. Kennedy RH, B.W., Dyer JA., A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus. . *Am J Ophthalmol*, 101: p. 267–273. 1986.
5. Beshtawi, I.M., C. O'Donnell, and H. Radhakrishnan, Biomechanical properties of corneal tissue after ultraviolet-A-riboflavin crosslinking. *J Cataract Refract Surg*, 39(3): p. 451-62. 2013.
6. Randleman, J.B., Post-laser in-situ keratomileusis ectasia: current understanding and future directions. *Curr Opin Ophthalmol*, 17(4): p. 406-12. 2006.
7. Hiatt, J.A., B.S. Wachler, and C. Grant, Reversal of laser in situ keratomileusis-induced ectasia with intraocular pressure reduction. *J Cataract Refract Surg*, 31(8): p. 1652-5.2005.
8. Alio, J., et al., Intracorneal rings to correct corneal ectasia after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg*, 28(9): p. 1568-74. 2002.

9. Kymionis, G.D., et al., One-year follow-up of corneal confocal microscopy after corneal cross-linking in patients with post laser in situ keratosmilesis ectasia and keratoconus. *Am J Ophthalmol*, 147(5): p. 774-8, 778.e1. 2009.
10. Kymionis, G.D., et al., An overview of corneal collagen cross-linking (CXL). *Adv Ther*, 30(10): p. 858-69. 2013.
11. Wollensak, G., E. Spoerl, and T. Seiler, Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*, 135(5): p. 620-7. 2003.
12. Wollensak, G., Crosslinking treatment of progressive keratoconus: new hope. *Curr Opin Ophthalmol*, 17(4): p. 356-60. 2006.
13. Wollensak, G. and E. Iomdina, Biomechanical and histological changes after corneal crosslinking with and without epithelial debridement. *J Cataract Refract Surg*, 35(3): p. 540-6. 2009.
14. Wollensak, G. and E. Iomdina, Long-term biomechanical properties of rabbit cornea after photodynamic collagen crosslinking. *Acta Ophthalmol*, 87(1): p. 48-51. 2009.
15. Luce, D.A., Determining in vivo biomechanical properties of the cornea with an ocular response analyzer. *J Cataract Refract Surg*, 31(1): p. 156-62. 2005.
16. Sedaghat, M., M. Naderi, and M. Zarei-Ghanavati, Biomechanical parameters of the cornea after collagen crosslinking measured by waveform analysis. *J Cataract Refract Surg*, 36(10): p. 1728-31. 2010.
17. Wollensak, G., et al., Collagen fiber diameter in the rabbit cornea after collagen crosslinking by riboflavin/UVA. *Cornea*, 23(5): p. 503-7. 2004.

18. Wollensak, G., et al., Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro. *Eye (Lond)*, 18(7): p. 718-22. 2004.
19. Mencucci, R., et al., Riboflavin and ultraviolet A collagen crosslinking: in vivo thermographic analysis of the corneal surface. *J Cataract Refract Surg*, 33(6): p. 1005-8. 2007.
20. Spoerl, E., G. Wollensak, and T. Seiler, Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion. *Curr Eye Res*, 29(1): p. 35-40. 2004.
21. Wollensak, G. and B. Redl, Gel electrophoretic analysis of corneal collagen after photodynamic cross-linking treatment. *Cornea*, 27(3): p. 353-6. 2008.
22. Wollensak, G., et al., Hydration behavior of porcine cornea crosslinked with riboflavin and ultraviolet A. *J Cataract Refract Surg*, 33(3): p. 516-21. 2007.
23. Mencucci, R., et al., Effects of riboflavin/UVA corneal cross-linking on keratocytes and collagen fibres in human cornea. *Clin Experiment Ophthalmol*, 38(1): p. 49-56. 2010.
24. Wilson, S.E., M. Netto, and R. Ambrosio, Jr., Corneal cells: chatty in development, homeostasis, wound healing, and disease. *Am J Ophthalmol*, 136(3): p. 530-6. 2003.
25. Wollensak, G., et al., Keratocyte apoptosis after corneal collagen cross-linking using riboflavin/UVA treatment. *Cornea*, 23(1): p. 43-9. 2004.
26. Raiskup-Wolf, F., et al., Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in keratoconus: long-term results. *J Cataract Refract Surg*, 34(5): p. 796-801. 2008.

27. Viswanathan, D. and J. Males, Prospective longitudinal study of corneal collagen cross-linking in progressive keratoconus. *Clin Experiment Ophthalmol*, 41(6): p. 531-6. 2013.
28. Caporossi, A., et al., Long-term results of riboflavin ultraviolet a corneal collagen cross-linking for keratoconus in Italy: the Siena eye cross study. *Am J Ophthalmol*, 149(4): p. 585-93. 2010.
29. Koller, T., et al., Flattening of the cornea after collagen crosslinking for keratoconus. *J Cataract Refract Surg*, 37(8): p. 1488-92. 2011.
30. Caporossi, A., et al., Transepithelial corneal collagen crosslinking for progressive keratoconus: 24-month clinical results. *J Cataract Refract Surg*, 39(8): p. 1157-63. 2013.
31. Brooks, N.O., et al., Patient subjective visual function after corneal collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia. *J Cataract Refract Surg*, 38(4): p. 615-9. 2012.
32. Jankov, M.R., 2nd, et al., [Corneal Cross-linking for the treatment of keratoconus: preliminary results]. *Arq Bras Oftalmol*, 71(6): p. 813-8. 2008.

Agradecimentos

Ao Director do Serviço de Oftalmologia do Centro Hospitalar de São João, Prof. Doutor Falcão dos Reis.

Ao Doutor Luís Torrão, pela infindável paciência e extremo brio na orientação deste trabalho.

Normas para Publicação

ISSN 0871-8644

Os manuscritos devem ser dactilografados a dois espaços e de cada artigo devem ser enviados ao editor o original e uma cópia.

Título: A primeira página é reservada para o título e para os nomes dos autores.

Resumo: A segunda página é reservada para o resumo em português e em inglês. O sumário deve sintetizar o conteúdo do artigo e não conter mais do que 400 palavras. O resumo deve referir-se aos motivos que levaram à realização do trabalho, aos resultados e às conclusões.

Palavras-chave: A terceira página é reservada para as palavras-chave que também devem ser apresentadas em português e em inglês e não devem ser mais do que cinco.

Legendas das figuras: A quarta página destina-se às legendas das figuras. O texto das legendas deve ser sintético e cada figura será numerada.

Artigos: Os artigos originais devem ser organizados da seguinte maneira: após uma breve introdução sobre o assunto a ser apresentado, seguir-se-à o capítulo do material e métodos ou a descrição dos casos clínicos, de modo tão preciso que outrem possa repetir ou comparar os mesmos factos. Os resultados serão depois apresentados e, por último, seguir-se-à o capítulo da discussão para elucidar os resultados através da sua própria análise e do conforto com os resultados de outros autores.

Bibliografia: As referências bibliográficas devem ser incluídas em páginas separadas do corpo do artigo e numeradas. As citações bibliográficas serão feitas no texto apenas com os números entrelinhados das respectivas referências. Sempre que possível, as referências devem ser feitas apenas a trabalhos originais e seguirão o seguinte esquema para Revistas (1), Livros (2) e Capítulo de livros (3):

- (1) Barondes M, Pauleikhoff D, Chisholm IC, Misassian D, Bird AC: Bilaterality of drusen. Br. J. Ophthalmol 74: 180-2, 1990.
- (2) Helveston EM: Atlas of Strabismus surgery. 3ª ed., St. Louis, CV Mosby, 1985, p. 156.
- (3) Linfoot JA: Neuro-ophtalmological considerations in pituitary tumors. In: Linfoot JA, ed. Recent advances in the diagnosis and treatment of pituitary tumors. New York: Raven Press, 1979: 131-9.

Fotografias, gráficos e diagramas: Cada ilustração deve ser numerada e citada por ordem no texto. No verso da ilustração deve inscrever-se o número, uma seta para indicar a orientação e o nome do primeiro autor. As ilustrações a cores serão pagas pelos autores.

Quadros: Cada quadro deve ter um título, ser numerado e indicado por ordem no texto. A primeira linha é para a numeração e a segunda para o título. Mais explicações relativas ao quadro devem ser inscritas resumidamente na sua base, utilizando sinais convencionais.

Separatas: As separatas devem ser requisitadas desde o início pelo autor, estabelecendo-se o preço de ocasião.