

# ARCHIVOS DE LA S. A. O. O.

SOCIEDAD AMERICANA DE OFTALMOLOGIA Y OPTOMETRIA

## SUMARIO

### ACTAS DEL TERTIUM FORUM OPHTHALMOLOGICUM

	Págs.
<i>Estado precoz y tardío de la hialoides, después de crioextracción de la catarata, con y sin queratomileusis, en 171 casos consecutivos intervenidos en 1979</i>	
José I. Barraquer .....	7
<i>Estudios del epitelio pigmentario de la retina en cultivo</i>	
Elena Barraquer - Gerald J. Chader .....	11
<i>Epikeratophakia: refractive keratoplasty for the correction of aphakia.</i>	
Theodore Werblin - Miles H. Friedlander - Herbert Kaufman .....	21
<i>Experiencias en queratomileusis, queratofaquias y extracción del cristalino combinada con queratofaquia</i>	
Carlos Silva .....	31
<i>Relación entre agudeza visual y situación de la zona óptica en los operados de queratomileusis hipermetrónica asociada con intervención de catarata</i>	
José I. Barraquer .....	51
<i>Radial keratotomy</i>	
Richard A. Villaseñor .....	55
<i>Refractive keratoplasty cryobiologic considerations</i>	
Casimir A. Swinger .....	61

## A LOS COLABORADORES

Los artículos para publicación, crítica de libros, peticiones de intercambio y otras comunicaciones deben enviarse a: "Redacción Archivos de la Sociedad Americana de Oftalmología y Optometría", Apartado Aéreo 091019, Bogotá, 8, Colombia.

Los trabajos originales deben ir acompañados de una nota indicando que no han sido publicados y que en caso de ser aceptados no serán ofrecidos a otras revistas sin consentimiento de la Redacción de la S. A. O. O. Deben estar escritos a máquina, a doble espacio, en una sola cara, en papel tamaño corriente, con un margen de 5 centímetros e ir acompañados de una copia en carbón.

El nombre del autor debe ir seguido de su mayor grado académico y colocado a continuación del título del artículo. La dirección completa debe figurar al final del trabajo.

Las ilustraciones deben ir separadas del escrito, numeradas en orden y con las leyendas en hoja aparte. El nombre del autor debe ir escrito en el reverso de las láminas y en el extremo superior la palabra "Arriba". Los gráficos y esquemas deben ir dibujados con tinta china. Las microfotografías deben indicar el grado de aumento. Las radiografías pueden enviarse en original. Las fotografías de personas reconocibles deben ir acompañadas de la notificación de poseer autorización del sujeto, si es un adulto, o de los parientes si es menor.

La bibliografía debe limitarse a la consultada por el autor para la preparación del artículo, ir ordenada y alfabéticamente por el sistema Harvard y abreviada de acuerdo con el World List of Scientific Publication (el volumen en números arábigos subrayado, y la primera página en números arábigos):

v. g SCHEPENS, C. L., (1955) Amer. J. Ophthal., 38,8.

Cuando se cita un libro debe indicarse el nombre completo, editorial, lugar y año de publicación, edición y número de la página:

v. g. RYCROFT, B. W., (1955) "Corneal Grafts" p. 9 Butterworth. London.

Los autores recibirán pruebas de sus artículos para su corrección, y las que alteren el contenido del texto serán a su cargo. Los autores recibirán gratuitamente 50 apartes de su artículo. Los apartes adicionales se suministrarán a precio de costo.

Suscripción para un año:

Colombia: \$ 750.00

Extranjero: US\$ 24.00

ARCHIVOS DE LA SOCIEDAD  
AMERICANA DE OFTALMOLOGIA  
Y OPTOMETRIA

INSTITUTO BARRAQUER DE AMÉRICA

ARCHIVOS  
DE LA  
SOCIEDAD AMERICANA  
DE  
OFTALMOLOGIA Y OPTOMETRIA

REGISTRO No. 000933 DEL MINISTERIO DE GOBIERNO, ABRIL DE 1977  
PERMISO DE TARIFA POSTAL REDUCIDA No. 213 DE ADMINISTRACION POSTAL

---

---

Vol. 15 — Marzo de 1981 — No. 1

---

---

SECRETARIO GENERAL:  
FEDERICO SERRANO M. D.  
SECRETARIA DE REDACCION:  
CARMEN J. BARRAQUER M. D.

APARTADO AEREO 091019  
BOGOTA - COLOMBIA

SOCIEDAD AMERICANA  
DE  
OFTALMOLOGIA Y OPTOMETRIA

JUNTA DIRECTIVA

1980 — 1981

Dr. ORLANDO ANGULO  
Dr. FEDERICO SERRANO  
Dr. FABIAN MARTINEZ  
Dr. PABLO HENAO DE BRIGARD  
Dra. CARMEN BARRAQUER  
Dra. OLGA WINZ DE WILDE  
Dr. VICENTE RODRIGUEZ PLATA

Secretario General: Dr. FEDERICO SERRANO M. D.  
Secretaria Redacción: Dra. CARMEN BARRAQUER M. D.

El precio actual de la revista es de \$750 y US\$24.00

## ACTAS TERTIUM FORUM OPHTHALMOLOGICUM

### ESTADO PRECOZ Y TARDIO DE LA HIALOIDES. DESPUES DE CRIOEXTRACCION DE LA CATARATA. CON Y SIN QUERATOMILEUSIS, EN 171 CASOS CONSECUTIVOS INTERVENIDOS EN 1979

JOSE I. BARRAQUER, M. D.

BOGOTA, COLOMBIA

Para determinar si la asociación de queratomileusis a la extracción total de la catarata, y más concretamente, el alza de la tensión intraocular, determinada por la aplicación del anillo neumático tiene alguna influencia en el estado postoperatorio de la hialoides, revisamos 171 casos consecutivos, intervenidos durante el año de 1979, 103 de los cuales fueron extracción simple de la catarata y 68 en los cuales la intervención fue combinada con queratomileusis hipermetrónica.

El estado de la hialoides fue clasificado en 6 grupos. En la figura 1 podrá apreciarse esta clasificación mejor que con cualquier descripción. El estado de la hialoides fue registrado antes de los 30 días del postoperatorio, y después de los 90 días. Del estudio de la Tabla I, se desprende que la posición de la hialoides es muy semejante en los dos grupos. Sin embargo, antes de los 30 días se aprecia únicamente un 9.7% de hialoides rotas en los casos intervenidos sin queratomileusis, contra un 18.0% en los casos intervenidos con queratomileusis. Transcurridos los 3 meses, ese porcentaje es del 41.89% en los casos intervenidos sin queratomileusis, y del 30.23% en los casos intervenidos con queratomileusis.

El número de hialoides que se rompen espontáneamente, entre los 30 y 90 días, en los casos de crioextracción simple es del 32.19% y en los casos intervenidos con queratomileusis el porcentaje de las rupturas espontáneas tardías fue del 14.84%. (Tabla II). A pesar de estas diferencias, consideramos que la asociación de la queratomileusis con la crioextracción del cristalino no tiene una variación que sea significativa en el estado final de la hialoides.

Durante la intervención, se presentaron 2 casos de pérdida de vítreo en la crioextracción simple (1.94%) y 1 caso en las intervenciones combinadas (1.47%).

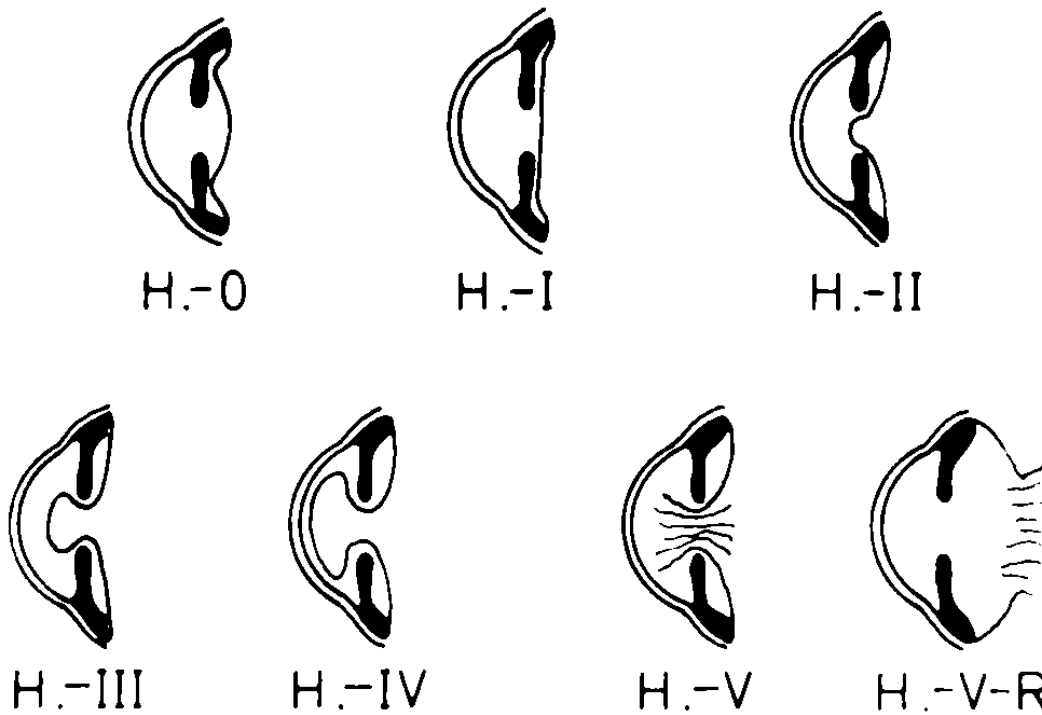


FIGURA 1

*Clasificación de las hialoides, en el curso postoperatorio de la cirugía de catarata.*

ESTADO PRECOZ Y TARDIO DE LA HIALOIDES

T A B L A I

ESTADO PRECOZ Y TARDIO DE LA HIALOIDES DESPUES  
DE CRIOEXTRACCION DE LA CATARATA CON Y SIN  
QUERATOMILEUSIS EN 171 CASOS CONSECUTIVOS  
INTERVENIDOS EN 1979

<i>Hialoides %</i>		<i>0</i>	<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>	<i>IV</i>	<i>V</i>	<i>V-R</i>
	Sin KM	12.62	21.35	29.12	16.50	7.76	9.70	2.91
Antes de 30 días	(103 casos) Con KM	9.09	19.69	36.36	16.66	0	18.10	1.53
	(68 casos) Sin KM	10.81	9.45	22.97	8.11	2.70	41.89	4.05
Después de 90 días	(103 casos) Con KM	12.30	12.30	25.61	16.92	1.53	30.23	1.53
	(68 casos)							

T A B L A II

CAMBIOS HERNIA HIALOIDEA EN POSTOPERATORIO TARDIO

<i>Hernia hialoides</i>	<i>Sin KM</i>	<i>Con KM</i>
Disminuye %	10.80	10.76
Se rompe tardiamente %	32.19	14.84



# ESTUDIOS DEL EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA EN CULTIVO

ELENA BARRAQUER y  
GERALD J. CHADER  
MARYLAND, U.S.A.

## *INTRODUCCION*

Muchas alteraciones de la función visual atribuidas a deficiencias metabólicas se consideran estar acompañadas de alteraciones del epitelio pigmentario de la retina. Debido a la asociación íntima entre estas células y los fotorreceptores retinianos, es también posible esperar que alteraciones de la función de este epitelio puedan causar alteraciones secundarias en los receptores.

Reciente evidencia obtenida en nuestro laboratorio sugiere que el calcio es importante en la manutención de receptores para la vitamina A, en las células del epitelio pigmentario; estas células normalmente contienen altos niveles de calcio. Calcio también es importante para el proceso de transducción de la luz en los fotorreceptores<sup>1</sup> y este proceso se considera estar bajo la influencia parcial de GMP cíclico y tal vez AMP cíclico<sup>2</sup>. Con el microscopio electrónico se ha comprobado que la adición de AMP cíclico a células pigmentarias en cultivo, produce cambios morfológicos expresados por un aumento en el contenido de melanina y un alargamiento de las microvellosidades del epitelio<sup>3</sup>.

Debido a estas propiedades nosotros hemos examinado los efectos de la variación de la concentración de calcio en la actividad de las células

del epitelio pigmentario, medida a través de la producción de pigmento y el contenido de GMP y AMP cíclicos.

El epitelio pigmentario de la retina consiste en un tipo único de células que, en condiciones apropiadas, crecen y se diferencian en varios medios de cultivo<sup>4</sup>. Células en cultivo pueden ser fácilmente expuestas a cambios en la concentración de diferentes elementos. Por esta razón, nosotros estudiamos los efectos de la variación de calcio en células pigmentarias del embrión de pollo *in vitro*. El uso de tejido embrionario tiene ciertas ventajas sobre el uso de tejido adulto, ya que crece mejor en cultivo y el epitelio pigmentario del embrión de pollo puede ser disecado totalmente de los tejidos vecinos. A partir de un número pequeño de embriones, se puede conseguir una gran cantidad de células que crecen *in vitro* de la misma forma que *in vivo*, o sea en un solo plano celular, cesando su crecimiento a las 3 o 4 semanas en cultivo, sin sufrir transformaciones aparentes. Estas células mantienen su morfología normal, presentando microvellosidades y lisosomas, su pigmentación es similar a la observada *in vivo* y mantienen su actividad fagocitaria<sup>5</sup>. Lo que es más importante, células pigmentarias en cultivo mantienen su estado de diferenciación y conservan muchos de los sistemas enzimáticos y protéicos que otros tipos celulares pierden al ser cultivados.

#### MATERIALES Y METODOS

Embriones de *Gallus gallus* fueron obtenidos de un proveedor comercial local. En el presente estudio usamos embriones en el estadio correspondiente a 7 u 8 días de incubación. El epitelio pigmentario se disecó en una pieza única que fue disociada en una solución enzimática de Coon (6 u/ml. de colagenasa, 0,1% de tripsina, 2% de suero de pollo), que contenía 4 mm. de EDTA, incubándolas a 37,5° C durante 10 o 15 minutos. El medio esencial mínimo de Eagle, con un suplemento de 5% de suero fetal bovino, fue usado para cultivar el epitelio en platos de plástico de 60 mm. de diámetro, que contenían 3 ml. del dicho medio.

Normalmente cultivamos 80 platos, usando aproximadamente 48 ojos. El medio de Eagle en 40 de los platos contenía la concentración usual de calcio (1,8 mm.) y en los 40 restantes la concentración fue reducida a 0,18 mm.

La capacidad de las células de sintetizar pigmento fue evaluada estudiando la actividad de la tirosinasa contenida en ellas a partir del siguiente ensayo:

## ESTUDIOS DEL EPITELIO PIGMENTARIO

Los cultivos fueron lavados 3 veces con medio de Dulbecco. Las células fueron removidas de los platos donde habían sido cultivadas y centrifugadas a 3.000 r.p.m., durante 3 minutos, para concentrarlas. El sedimento fue separado del sobrenadante y un extracto de células libres fue preparado homogeneizando la masa de células contenidas en el sedimento en 0,5 ml. de sobrenadante. Este extracto fue ultracentrifugado a 35.000 r.p.m., durante 1 hora, y el sobrenadante fue recogido separando 200 ul para determinar las proteínas contenidas. Mantuvimos todos estos procedimientos a baja temperatura (alrededor de 2°C), para evitar que la actividad enzimática se perdiese. La mezcla para el ensayo (volumen total 200 ul) fue preparada mezclando el extracto de células libres (sobrenadante), con una solución tampón de fosfato de sodio, L-DOPA, L-tirosina y L-tirosina marcada con tritio. La mezcla fue incubada durante 3 horas a 37,5°C. El proceso ocurrido en estas condiciones fue el siguiente: la tirosinasa contenida en el sobrenadante intercambió por un radical OH, el hidrógeno radioactivo del anillo de tirosina marcada, con la consecuente formación de agua tritiada. La reacción fue parada en un baño de hielo, y la mezcla fue pasada a través de columnas de resina sintética de intercambio iónico de 2,5 cm. de largo (Dowex 50W-X8). La mezcla del ensayo reaccionó con la resina sintética, excepto el agua radioactiva que pasó a través de dicha resina y se recogió en frascos. La cantidad de agua tritiada formada fue proporcional a la cantidad de tirosinasa presente en la mezcla. El agua tritiada fue diluída en 2,5 ml. de agua destilada y 16 ml. de una mezcla de cintilación para soluciones acuosas, y la radioactividad de esta solución fue medida. La cifra de desintegraciones por minuto (D.P.M.), indicó el grado de actividad de la tirosinasa contenida en las células.

Con otro grupo de cultivos estudiamos la concentración de nucleótidos cíclicos contenida en las células:

La muestra fue diluída en 6% de ácido Tricloroacético y colocada en una columna de resina sintética de intercambio iónico (Bio-Rad Ag 1-X8), lavándola con 10 ml. de agua destilada, 10 ml. de ácido fórmico 2N para recoger el AMP cíclico, y con 10 ml. de ácido fórmico 4N para recoger el GMP cíclico. Anhídrido acético y tritilamina (en solución de 1:2), fueron usados para aumentar la sensibilidad del ensayo. Para el radioinmunoensayo usamos un anti-

cuerpo para cada nucleótido cíclico, midiendo el desplazamiento específico de  $^{125}\text{I}$ -AMP cíclico y de  $^{125}\text{I}$ -GMP cíclico.

## RESULTADOS

### MORFOLOGIA:

En la primera semana en cultivo, las células del epitelio pigmentario presentaron cuerpos celulares relativamente transparentes con forma semejante a fibroblastos, hallándose distribuidas en el plato en forma solitaria o en grupos conteniendo 5 o 6 células separadas unas de otras. Con crecimiento ulterior, estas células tomaron forma hexagonal y formaron colonias de forma y localización regular, que recordaban a los adoquines del empedrado de las calles (figura 1). Mientras que la mayoría de células eran mononucleadas, fue posible encontrar algunas binucleadas. En cultivos de edad avanzada fue muy común el hallar muchas células multinucleadas.

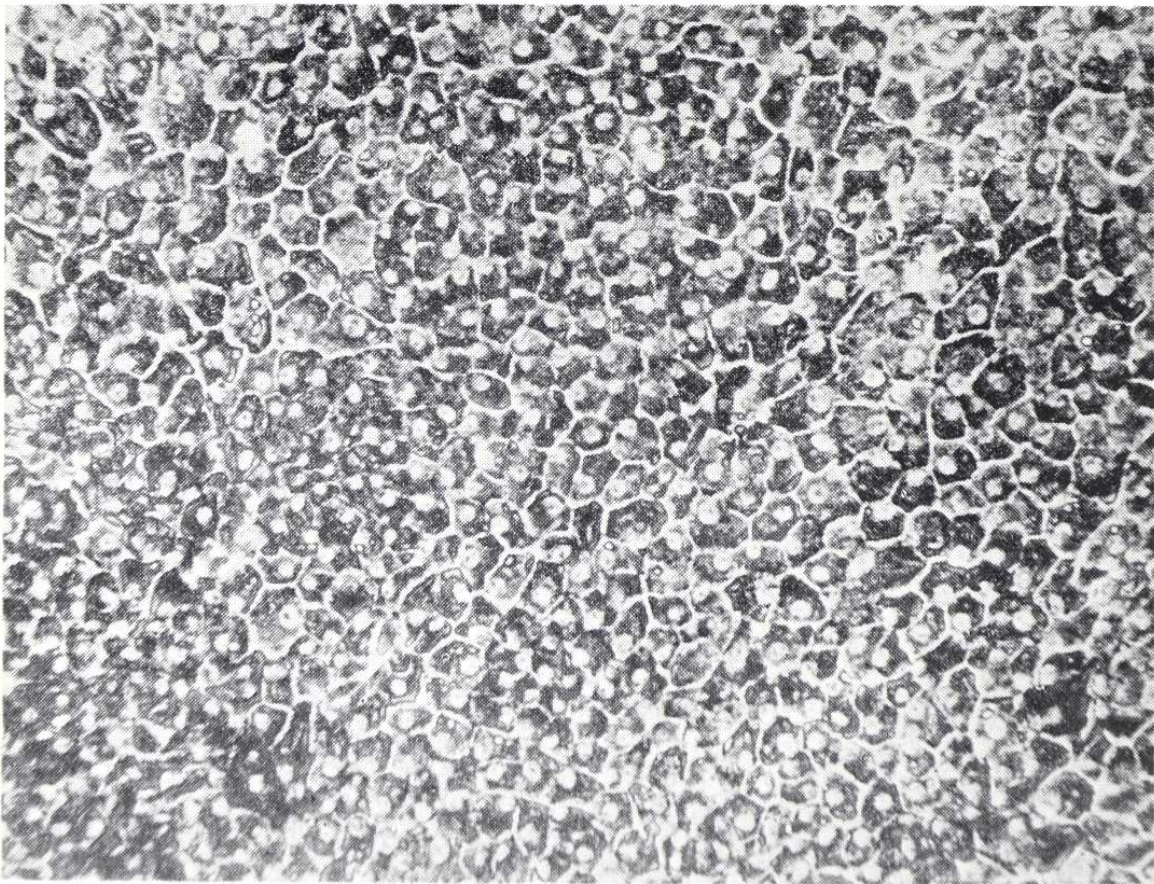


FIGURA 1

*Cultivo de células del epitelio pigmentario a las 2 semanas de edad en medio con concentración normal de calcio (1.8 mM). Foto tomada con microscopio electrónico.*

## ESTUDIOS DEL EPITELIO PIGMENTARIO

La pigmentación varió con la edad de las células y fue diferente en las células de distintas áreas de una misma colonia. Las células más viejas fueron localizadas en el centro de las colonias, el cual fue más oscuro que los bordes de éstas, donde encontramos células jóvenes en estado de división y con forma estrellada. Sin embargo, la pigmentación también varió en células de la misma edad, localizadas en la misma área de una colonia, donde se observaron células con distinta cantidad de pigmento colocadas una al lado de otra.

Los cultivos en el medio deficiente en calcio crecieron más despacio y con una coloración más clara que los cultivados en medio con una concentración normal de calcio. Esto se pudo observar a simple vista (figura 2), y con el microscopio óptico. Con éste se observó que los cultivos conteniendo medio con concentración normal de calcio, parecían 2 o 3 semanas más

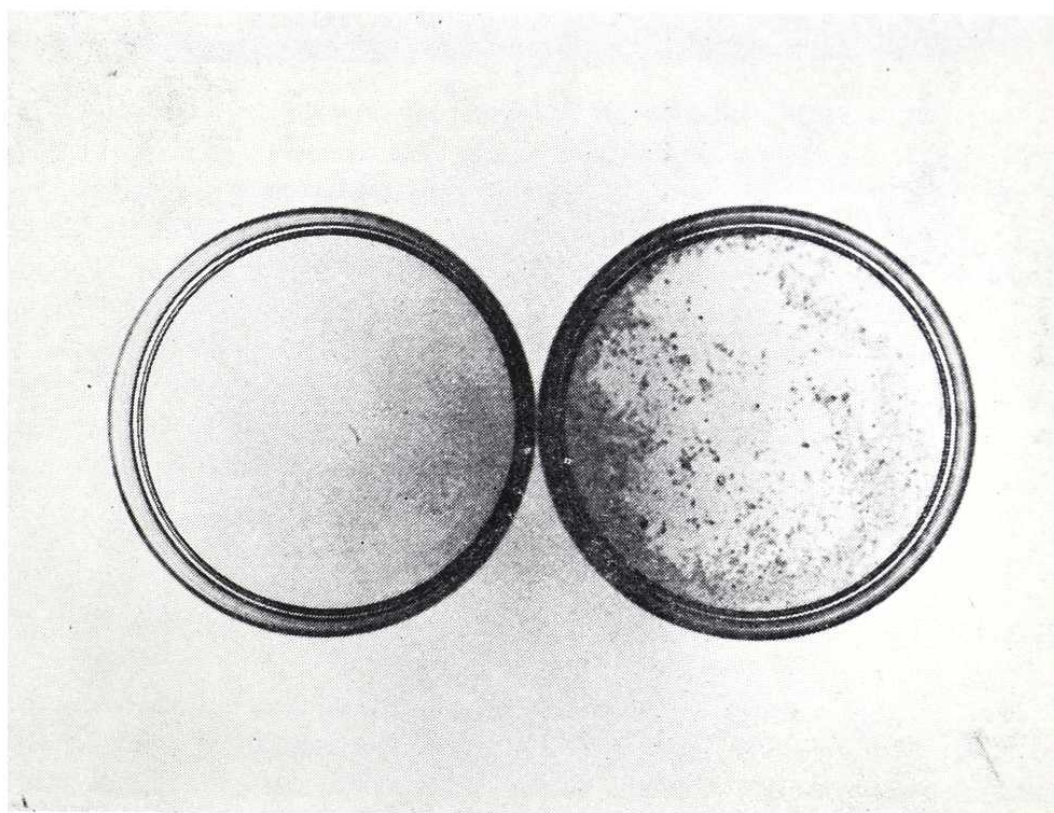


FIGURA 2

*Efecto del calcio en los cultivos de células del epitelio pigmentario. Derecha: plato conteniendo medio con concentración normal de calcio (1,8 mm). Izquierda: cultivo de la misma edad en medio deficiente en calcio (1,8 mm). Obsérvese la diferencia en la pigmentación de los dos cultivos.*

viejos que los cultivados en el medio deficiente en calcio: había un número mayor de colonias, conteniendo más pigmento. En contraste, cultivos en el medio con bajo calcio, mostraban muchas células jóvenes en estadio de división que, en un cultivo de la misma edad en medio, conteniendo una concentración normal de calcio, sólo habrían aparecido en los bordes de las colonias.

Con el microscopio electrónico se observaron otros cambios morfológicos en los cultivos en el medio deficiente en calcio: disminución del número de melanosomas y premelanosomas, menor cantidad de microvellosidades, aumento del retículo endoplásmico granular y de la producción de matriz celular, y en general las células parecieron anormalmente diferenciadas (figura 3)

#### *ACTIVIDAD DE LA TIROSINASA:*

Los dos tipos de cultivos presentaron una actividad enzimática diferente. En los cultivos conteniendo medio con concentración normal de calcio, la actividad de la tirosinasa disminuyó con la edad del cultivo, llegando a un máximo en cultivos de 6 días de edad. En los cultivos con medio deficiente en calcio, sin embargo, las células no alcanzaron el grado máximo de actividad enzimática hasta los 24 días de edad (figura 4). Esta observación no fue sorprendente debido a que el déficit de calcio retrasa el crecimiento y desarrollo de estas células en todos sus aspectos, y que se cree que el calcio es necesario para la formación de gránulos de pigmento ya que este elemento se encuentra unido a dichos gránulos en diferentes partes del cuerpo, especialmente en el epitelio pigmentario.

#### *CONCENTRACION DE LOS NUCLEOTIDOS CICLICOS:*

Las concentraciones de los nucleótidos cíclicos también variaron. En los cultivos conteniendo medio con concentración normal de calcio, hallamos una concentración máxima en los cultivos de 2 a 3 semanas de edad. Observamos una concentración máxima de GMP cíclico a los 11 días en cultivo, y una de AMP cíclico a los 17 días. Los dos nucleótidos cíclicos se encontraron en cultivo en concentraciones similares, pero estas fueron inferiores a las que se encuentran en las células del epitelio pigmentario del embrión de pollo *in vivo*.

## ESTUDIOS DEL EPITELIO PIGMENTARIO

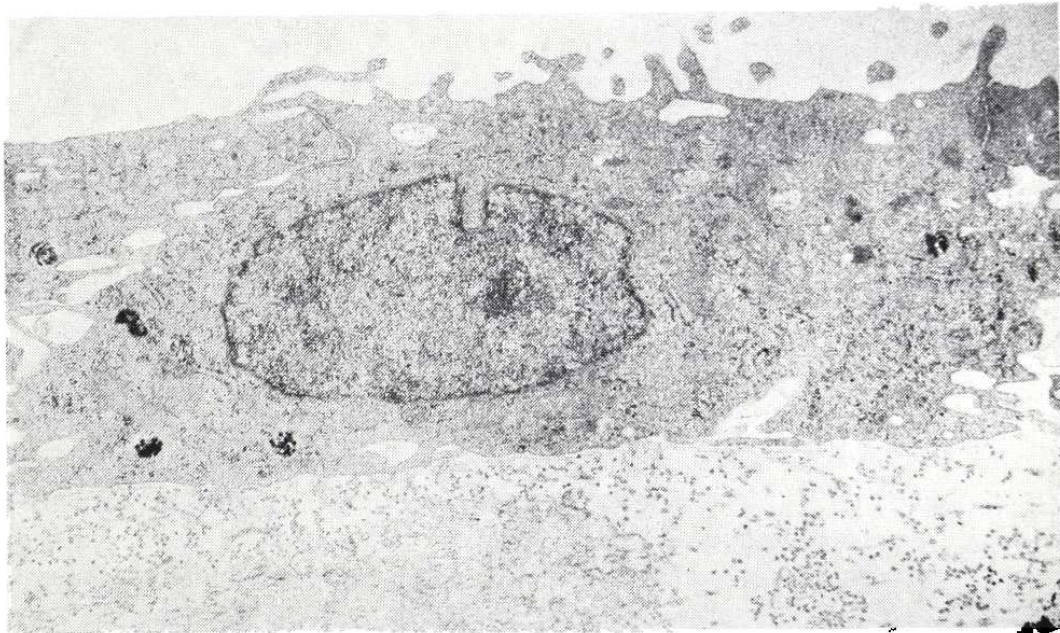
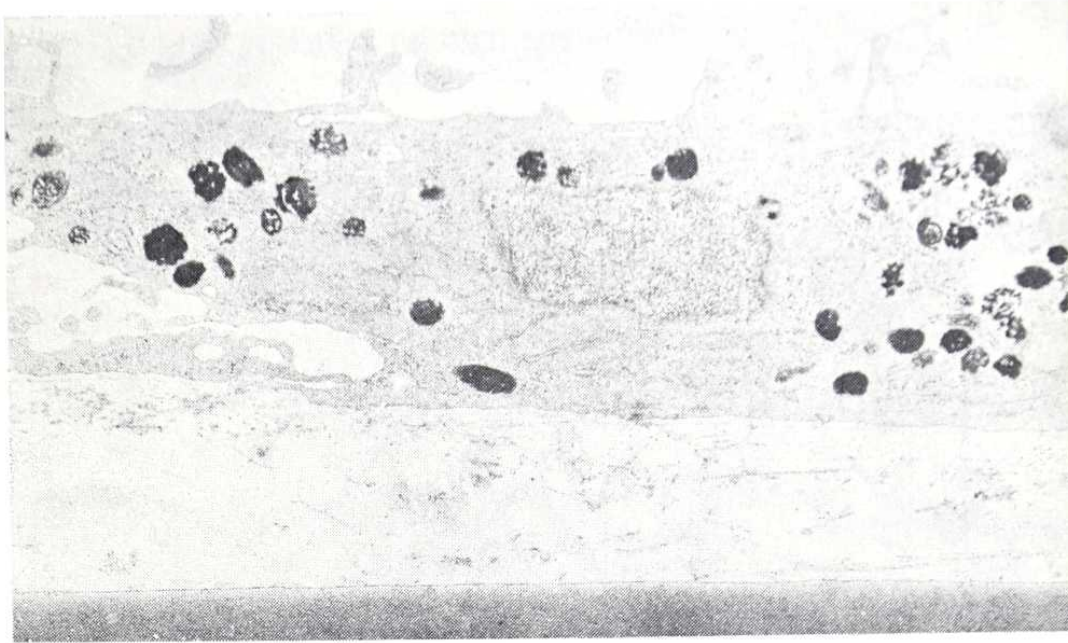


FIGURA 3 - A - B.

*Cultivos de epitelio pigmentario observados al microscopio electrónico. a) Medio de cultivo con concentración normal de calcio (1,8 mm); b) medio deficiente en calcio (0,18 mm): disminución del número de melanosomas y premelanosomas, menor cantidad de microvellosidades, aumento del RE granular y de la producción de matriz celular.*

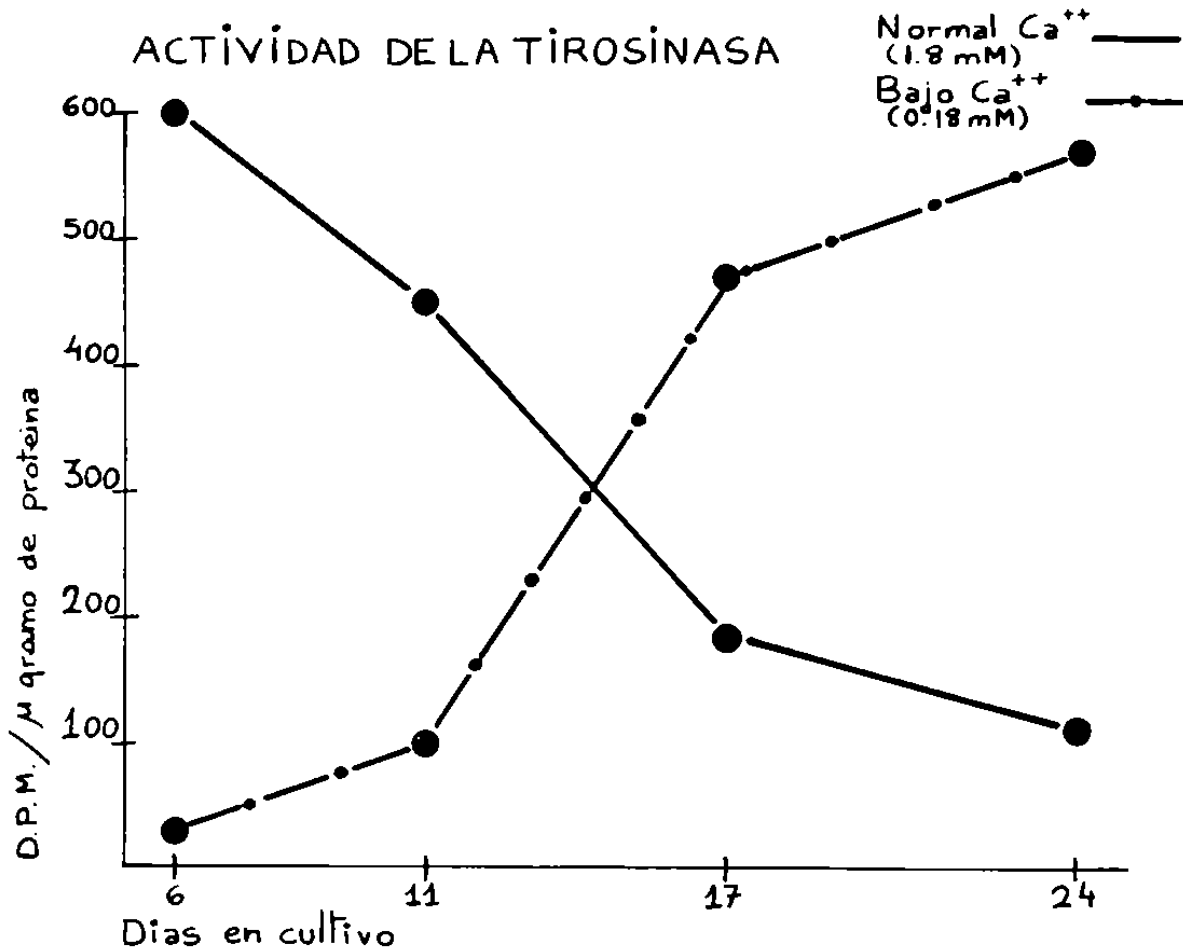


FIGURA 4

*Actividad de la tirosinasa en las células del epitelio pigmentario en cultivo. En medio normal en calcio (1,8 mM), la actividad disminuye con la edad del cultivo. En medio bajo en calcio (0,18 mM), las células no alcanzan su máxima actividad enzimática hasta los 24 días en cultivo.*

En los cultivos con medio deficiente en calcio ambos nucleótidos cíclicos también alcanzaron sus máximas concentraciones a las 2 o 3 semanas de vida en cultivo. Mientras que en el medio con concentración normal de calcio la concentración máxima de AMP cíclico era mayor que la de GMP cíclico, en el medio bajo en calcio esta relación se invertía (figura 5).

Se sabe que los nucleótidos cíclicos actúan como mensajeros intracelulares, y que el GMP cíclico es elevado en las células indiferenciadas que se encuentran en estadio de crecimiento máximo, mientras que el AMP cíclico es elevado en células bien diferenciadas.



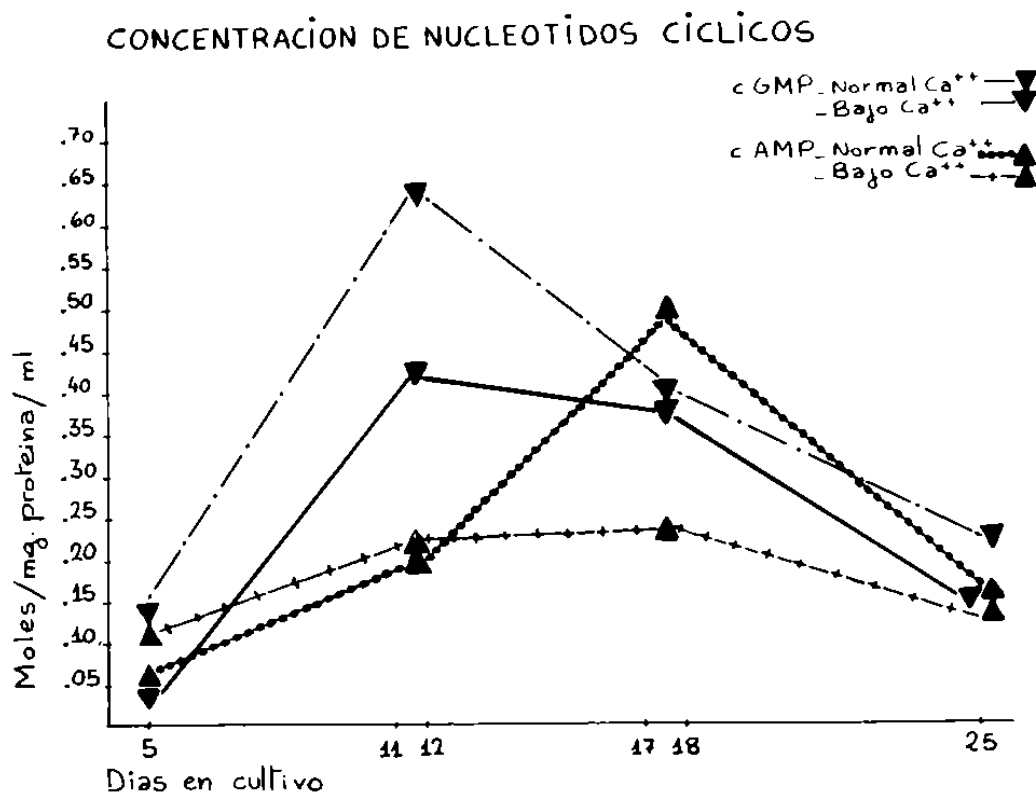


FIGURA 5

Concentración de los nucleótidos cíclicos en las células del epitelio pigmentario en cultivo. En medio normal en calcio (1,8), la concentración máxima de AMP cíclico es mayor que la de GMP cíclico, pero en el medio bajo en calcio (0,18 mm), esta relación se invierte.

Por lo que no es extraño observar el incremento de GMP cíclico en el medio deficiente en calcio junto con la disminución de AMP cíclico en dicho medio.

### CONCLUSIONES

Estos resultados sugieren que el calcio es un factor muy importante para la manutención del epitelio pigmentario en cultivo. Su ausencia en el medio de cultivo provoca cambios en la pigmentación normal de las células, en los niveles de concentración de los nucleótidos cíclicos y en la melanogénesis de los cultivos en estado joven. La falta de calcio en el medio de cultivo retrasa el crecimiento y diferenciación de las células, y produce

cambios en otros aspectos del fenotipo celular. Es probable que el calcio tenga una profunda influencia tanto en el desarrollo como en la homeostasis de las células del epitelio pigmentario de la retina *in vitro*, y posiblemente también *in vivo*.

Agradecemos la colaboración del doctor Francisco de Monasterio, en la revisión científica de este trabajo para su publicación.

#### REFERENCES

1. HAGINS, W. A., & YOSHIKAMI, S.: **Ionic mechanism in excitation of photoreceptors.** Ann. N. Y. Acad. Sci. 264: 314-325.
2. FLETCHER, R. T., & CHADER, G. J.: **Cyclic GMP: Control of concentration by light in retinal photoreceptors.** Biochem. Biophys. Res. Comm. 70: 1297-1302, 1976.
3. y 4. REDFERN, N., ISRAEL, P., BERGSMA, D., ROBISON, JR., W. G., WHITEHART, D., & CHADER, G. J.: **Neural retinal and pigment epithelial cells in culture: Patterns of differentiation and effects of prostaglandins and cyclic AMP on pigmentation.** Exp. Eye Res. 22: 559-568, 1976.
5. GOLDMAN, A. I., O'BRIEN, P. J., MASTERSON, E., ISRAEL, P., TEIRSTEIN, P., & CHADER, G. J.: **A quantitative system for studying phagocytosis in pigment epithelium tissue culture.** Exp. Eye Res. 28: 455-467, 1979.

## EPIKERATOPHAKIA: REFRACTIVE KERATOPLASTY FOR THE CORRECTION OF APHAKIA

THEODORE P. WERBLIN, M. D., PH. D.

MILES H. FRIEDLANDER, M. D.

HERBERT E. KAUFMAN, M. D.

NEW ORLEANS, LOUISIANA

### *INTRODUCTION*

Several hundred thousand cataract operations are performed annually in the United States <sup>1, 2</sup>. Many aphakic patients experience a poor quality of vision with aphakic spectacles despite good visual acuity because of inherent defects in aphakic spectacle lenses such as magnification, distortion, swim, and restricted visual field <sup>2, 3</sup>. Newer designs in lens manufacture have not eliminated these problems <sup>4</sup>. Because of size imbalance, spectacle correction is of no value in unilaterally aphakic patients, when the phakic eye has good vision <sup>5</sup>.

Extended wear contact lenses seem to offer a simple alternative to spectacles; however, not all patients can tolerate these lenses. It has been estimated that only about 50 to 60% of unselected patients can be successfully fitted with these lenses for a prolonged period of time <sup>1, 6</sup>. Alternately, daily wear contact lenses could be utilized; however they often present a significant problem for the elderly cataract patient, who has difficulty with their manipulation <sup>7</sup>. Even with the successful fitting and tolerance of contact lenses, these devices can cause severe, sometimes irreversible corneal damage, such as epithelial defects, neovascular invasion, and infections with either bacteria or fungi <sup>6, 8, 9</sup>. Finally, lens deposits, loss of lenses, and damage during manipulation make periodic replacement a necessity <sup>10</sup>.

Approximately 80,000 intraocular lenses were implanted in 1979 in the United States<sup>11</sup>. Despite their widespread usage, the long term safety of these devices remains unproven. In addition, the technique of insertion is significantly more difficult than that required for routine cataract surgery, thus creating increased morbidity (persistent iritis, lens dislocation, and corneal decompensation) in the hands of many surgeons<sup>11, 13, 14, 15</sup>. Once an eye with an intraocular lens decompensates, the removal of the lens (often necessitating a simultaneous corneal transplant) does not in many cases restore good vision because of persistent cystoid edema<sup>16</sup>.

Because of these problems with currently available forms of aphakic correction, we have attempted to develop a surgical procedure to meet the following criteria: 1) safety for the patient, including reversibility; 2) simplicity for the ophthalmic surgeon; 3) effective and long-lasting correction of the visual deficiency. Epikeratophakia, the "living contact lens" is a form of refractive keratoplasty, or surgical correction of vision, that may prove to meet these criteria.

### *EPIKERATOPHAKIA*

The extensive theoretical and clinical work of Dr. Jose Barraquer<sup>17, 18</sup>, has shown the feasibility of refractive keratoplasty for the correction of refractive error, and a few studies have been published confirming his results<sup>19, 20</sup>. However, the complexity of both keratophakia and keratomileusis, in terms of mathematical computations as well as cryolathing and surgical techniques and equipment, makes them essentially unavailable to the vast majority of ophthalmic surgeons.

Epikeratophakia is a simplified form of refractive keratoplasty in which a preserved, lathed, donor corneal lenticule is sutured on the de-epithelialized surface of the recipient cornea (Figure), avoiding the potentially hazardous procedure of lamellar keratectomy<sup>1</sup>. This tissue serves the function of a "living contact lens". Because only a small peripheral scar is created in the recipient cornea, the lenticule can be removed at a later time without effectively altering the recipient eye. Thus epikeratophakia embodies all of the desirable features of aphakic correction: safety, technical simplicity, good optical potential, general applicability, and reversibility.

In addition, many of the problems associated with computer technology and the cryolathing procedure may be eliminated with the use of preserved, pre-cut donor corneal tissue, which will allow the ophthalmic surgeon to

## EPIKERATOPHAKIA: REFRACTIVE KERATOPLASTY

order lenticules in a fashion analogous to ordering a contact lens<sup>21</sup>. With the availability of pre-cut lenticules, the technique of epikeratophakia should become available to the majority of ophthalmic surgeons as a reasonable and practical alternative for the visual rehabilitation of the aphakic patient.

### *APPLICABILITY OF EPIKERATOPHAKIA*

There are several categories of patients for whom epikeratophakia may prove to be the only available safe procedure. Patients who have had unilateral cataract surgery, who cannot tolerate contact lenses, and who do not want to risk the secondary implantation of an intraocular lens now have no reasonable alternative for visual correction. A considerable number of monocular aphakic children cannot be managed effectively with contact lenses, and they are not candidates for intraocular lenses because of the question of long term stability of these implants<sup>22</sup>. Many children with either acquired or congenital cataracts are now destined to develop irreversible amblyopia because the necessary surgery is not done due to the problems of visual rehabilitation and the resultant poor visual outcome<sup>23</sup>. Epikeratophakia offers the possibility of early, permanent visual rehabilitation of these patients and may dramatically affect their overall visual prognosis.

In addition to the correction of refractive problems of aphakia, this procedure could have much wider applicability. Theoretically, it would be possible to correct large astigmatic errors as well as refractive errors due to high myopia. Also, cosmetic problems from corneal scarring could possibly be treated with painted or tattooed epikeratophakia grafts.

### *ANIMAL STUDIES OF EPIKERATOPHAKIA*

We have tested epikeratophakia on dogs and monkeys. Our initial experimental work, performed on four dogs, was carried out primarily to establish the operative procedure and suture technique. Autopsy donor cornea material was lathed prior to surgery and stored in liquid nitrogen until the day of surgery. At surgery the recipient epithelium was removed. For the first animal, the lathed lenticule was sutured on top of the recipient cornea with a single running 10-0 nylon suture. Three additional dogs had a 7.5 mm trephine mark extending 0.15 mm into corneal stroma performed before the lathed tissue was sutured in place.

One of these four grafts became infected, but the recipient cornea beneath remained clear. The three remaining animals had epithelial cover over the grafts by day 11; however, they all showed an intense vascular reaction at the periphery of the recipient cornea that necessitated removal of the 10-0 sutures. The single graft with no trephine mark dehisced at day 17, leaving a normal recipient cornea beneath. Despite removal of all suture material and topical as well as systemic steroid therapy the animals continued to have an intense vascular reaction to the grafts.

Similar grafts were performed on three monkeys. One monkey had no peripheral trephine mark, one had a trephine mark with a 0.2 mm wedge resection of corneal tissue at the inner edge of the trephine mark, and the third had trephine mark, wedge resection, and peripheral undermining of the superficial stroma. None of the monkeys developed the vascular reaction seen in the dogs. The monkey with no trephine mark covered the graft with epithelium in one month (at which time the running 10-0 suture was removed) and the graft has remained clear until the present time. The remaining two animals had persistent epithelial problems. One of the grafts tore during suture removal. Later, the graft was removed, leaving a clear, normal-appearing recipient cornea beneath. The other monkey had its graft removed at one month for histologic examination. Again the cornea beneath returned to its original state in the course of a few weeks. The histologic study showed evidence of repopulation of the graft by host keratocytes.

#### *EARLY TRIALS OF EPIKERATOPHAKIA IN HUMANS*

Four unilateral aphakic patients with intolerance of soft contact lenses recieved epikeratophakia grafts. Three have successfully re-epithelialized. The first patient done had persistent epithelial problems and eventual dehiscence of the graft along the suture line, resulting in loss of the graft. The recipient cornea has re-epithelialized and the patient's vision is again correctable to 20/20.

The dioptric correction was within 2 diopters of the desired value in two of the three cases. One graft was done on an amblyopic 4-year-old child, and keratometry has not yet been completed. Two months postoperatively, the visual acuity in the second of the epikeratophakia patients is corrected to 20/60 with  $\pm 2.00 \pm 2.00 \times 85^\circ$  (20/80 uncorrected). The third epikeratophakia patient had optic nerve pathology prior to grafting and

## EPIKERATOPHAKIA: REFRACTIVE KERATOPLASTY

visual acuity is difficult to assess. Visual acuity in the 4-year-old patient similarly can not yet be accurately assessed.

In summary, it appears that the major technical problem with this procedure is that of epithelialization. Only subjects that failed to epithelialize developed problems with wound dehiscence and tearing of the grafts. It must be stressed that, even after those grafts that did poorly were removed, the underlying corneas appeared quite normal and did well after re-epithelialization. The graft epithelialization problem in the last three human subjects was managed very effectively with bandage soft contact lenses or by suturing lids closed for several days.

### *METHODS OF PROCEDURE*

Epikeratophakia grafts must adhere firmly to the host cornea. The donor stromal matrix must be repopulated by host keratocytes<sup>24</sup>, and the anterior surface must be re-covered with host epithelium. To achieve this, the following procedure has been adopted for the long term, prospective study of epikeratophakia in non-human primates now underway at the LSU Eye Center.

Each graft (preserved in liquid nitrogen or at -70°C) is lathed to a plus fourteen diopter correction (measured at the corneal plane). After the monkeys have been intubated, the operative eye is prepared and draped and a canthotomy performed if exposure is inadequate. A single Flieringa ring is sutured to the globe with four nylon sutures, the epithelium is removed with absolute alcohol, and the eye is irrigated with saline.

A 7 mm trephine mark 0.15 mm deep is made on the recipient cornea and a 0.2 mm wedge is cut from the inner edge of this mark around the entire circumference. The edge (wing) of the lathed donor tissue graft is then sutured into the groove created by the wedge resection so that donor and recipient Bowman's membrane are in direct continuity. (Figure).

The grafts are sutured in place with a single running 16 micron suture after initially placing four cardinal 10-0 sutures. The cardinals are removed after the 16 micron suture is tied. The 16 micron suture is removed only when and if a significant vascular reaction becomes apparent or the sutures become loose.

After the graft is sutured in place, the Flieringa ring is removed. 40 mg of subtenons Depo-Medrol (methylprednisolone acetate) and 10 mg of

subconjunctival gentamicin are injected. The canthotomy is closed with a single 4-0 gut suture.

In addition to the long term study of epikeratophakia on non-human primates, we are conducting a long term, double blind, prospective study comparing keratomileusis and epikeratophakia in humans. All patients in this study are aphakic (most are unilaterally aphakic) with a history of contact lens intolerance. All have known, stable visual acuities. Extensive preoperative evaluations are performed on each patient, including visual fields, endothelial cell counts, and fluorescein angiography (where indicated). The surgical technique to be employed is similar to that described for non-human primates, above. The keratomileusis technique is that described by Barraquer, except that preserved, pre-cut corneal tissue is used exclusively. All patients are randomized to either keratomileusis or epikeratophakia. The only exceptions to this randomization are patients requiring more than 15 diopters of correction; these are placed in the epikeratophakia group because this procedure is more compatible with the larger optical correction. Patients with a history of controlled glaucoma are placed in the keratomileusis group because the overall resultant corneal thickness is closer to the normal corneal thickness and postoperative intraocular pressure measurements made with routinely available instrumentation will probably be more accurate.

All postoperative determination of visual acuity will be made by an observer not involved in any of the surgical procedures. This observer will have no knowledge of the surgical techniques used in any given patient. It is hoped that about 40 patients will be enrolled in this study, to be followed postoperatively for as much as 5 years.

The data accumulated in this study will represent the first randomized, prospective comparison of these surgical techniques in patients with visual potentials clearly defined prior to refractive keratoplasty surgery.

## SUMMARY

We present a new, simplified surgical technique to change the refractive properties of the cornea. This procedure, called epikeratophakia, is a safe, relatively simple, and effective means for correction of aphakic vision, and possibly for other problems such as large amounts of astigmatism and myopia.

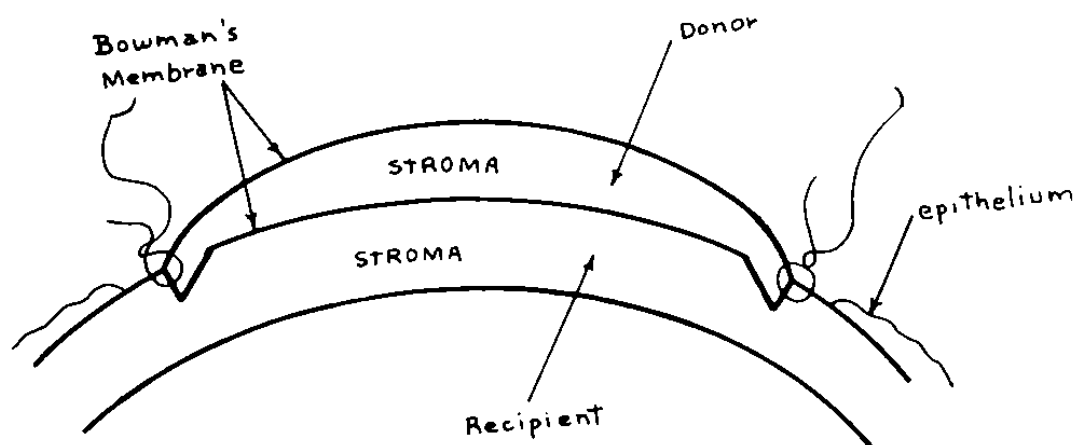


## EPIKERATOPHAKIA: REFRACTIVE KERATOPLASTY

Although several modalities, such as spectacles, contact lenses, and intraocular lenses, exist for the correction of aphakia, each has specific risks and disadvantages. Keratophakia and keratomileusis are effective in this respect, but involve the mastery of extremely complex mathematical calculations and cryolathing techniques. In addition, the lamellar dissection of the host cornea essential to these procedures could be potentially damaging and is not reversible.

Epikeratophakia involves the suturing of a lathed donor corneal lenticule on the de-epithelialized anterior surface of the recipient cornea. The only alteration of the visual axis of the host cornea is the removal of the epithelium. With the use of preserved corneal tissue, the ophthalmic surgeon need not be concerned with the complexities of cryolathing. If for some reason the lathed disc of donor cornea has to be removed, the recipient cornea would, after re-epithelialization, be returned virtually to its original state. The only permanent alteration of the recipient cornea is a small peripheral scar from the trephine cut to which the disc is sutured.

The optical correction of epikeratophakia should be similar in quality to that obtained from a contact lens, but requires no maintenance or manipulation on the part of the recipient, and should be relatively permanent. In addition, the procedure can be reversed, i.e., the disc can be removed without compromising the visual axis, and further corrective measures can be attempted, including a second epikeratophakia graft.



*The epikeratophakia graft is sutured atop the de-epithelialized recipient cornea. A small, wedge-shaped groove is made at the inner aspect of a superficial trephine mark in the recipient cornea. For non-human primates, a 7 mm, trephine is used; for humans, an 8 mm, trephine is used. The edge of the donor disc is sutured into the groove, so that there is direct continuity between the Bowman's membrane of the donor tissue and the Bowman's membrane of the recipient cornea.*

Thus, the surgical technique of epikeratophakia is safe, reasonably simple, and makes the correction of aphakia by refractive keratoplasty available to the general ophthalmic community as a practical alternative to other, perhaps less satisfactory means of optical correction.

#### REFERENCES

1. KAUFMAN, H. E.: **The correction of aphakia.** Am. J. Ophthalmol., 89: 1-10, 1980.
2. DABEZIES, O. H.: **Defects of vision through aphakic spectacle lenses.** Ophthalmology, 86: 325-379, 1979.
3. GASSET, A. R., LOBO, L. HOUDE, W.: **Permanent wear of soft contact lenses in aphakic eyes.** Am. J. Ophthalmol., 83: 115-120, 1977.
4. WELSH, R. C.: **Newer designs of aphakic spectacle eyeglasses.** Ophthalmology, 86: 380-388, 1979.
5. ENOCH, J. M.: **Physiology of monocular aphakia.** Ophthalmology, 86: 391-398, 1979.
6. HALBERG, G. P.: **Symposium: Contact Lens and Spectacle Lens Correction of Aphakia.** Discussion of contact lens papers. Ophthalmology, 86, 418-419, 1979.
7. BOYD, B. F.: **Extended wear contact lenses in 525 aphakic eyes.** Am. J. Ophthalmol., 88: 351-353, 1979.
8. WEINBERG, R. J.: **Deep corneal vascularization caused by aphakic soft contact lens wear.** Am. J. Ophthalmol., 83: 121-122, 1977.
9. COOPER, R. L.: **Soft contact lenses and infection.** Arch. Ophthalmol., 96: 1700, 1978.
10. KAUFMAN, H. E.: **Problems associated with prolonged wear soft contact lenses.** Ophthalmology, 86: 411-417, 1979.
11. JAFFE, N. S.: **The intracocular implant lens reflections on the current state of the art.** Ophthalmology, 86: 195-196, 1979.
12. JAFFE, N. S.: **The changing scene of intraocular lens surgery.** Am. J. Ophthalmol., 88: 819-828, 1979.
13. STARK, W. J., KRACHER, G. P., COWAN, C. L., et. al.: **Extended wear contact lenses and intraocular lenses for aphakic correction.** Am. J. Ophthalmol., 88: 535-542, 1979.
14. JAFFE, N. S., EICHENBAUM, D. M., CLAYMAN, H. M.: **A comparison of 500 Binkhorst implants with 500 routine intracapsular cataract extractions.** Am J. Ophthalmol., 85: 24-27, 1978.
15. STARK, W. J., HIRST, L. W., SNIP, R. C. et. al.: **A two-year trial of intraocular lenses at Wilmer Institute.** Am. J. Ophthalmol., 84: 769-774, 1977.
16. NORDAN, L. T., PETTIT, T. H.: **Hazards of bilateral intraocular lens implantation.** Am. J. Ophthalmol., 87: 322-329, 1979.

#### EPIKERATOPHAKIA: REFRACTIVE KERATOPLASTY

17. BARRAQUER, J. I.: **Keratomileusis and keratophakia**, in *Corneoplastic Surgery, Proceedings of the 2nd International Corneo-Plastic Conference*, PV Rycroft (ed). New York, Pergamon Press, 409-443, 1969.
18. TUCKER, D. N., BARRAQUER, J. I.: **Refractive keratoplasty: clinical results in 67 cases**. *Ann. Ophthalmol.*, 5: 335-352, 1973.
19. AINSLIE, D.: **The surgical correction of refractive errors by keratomileusis and keratophakia**. *Ann. Ophthalmol.*, 8: 349-367, 1976.
20. TROUTMAN, R. C., SWINGER, C. A., KELLY, R. J.: **Keratophakia: a preliminary evaluation**. *Ophthalmology*, 86: 523-530, 1979.
21. FRIEDLANDER, M. H., RICH, L. F., WERBLIN, T. P., et. al.: **Keratophakia using preserved lenticules**. *Ophthalmology*, in press.
22. MAIDA, J. W., SHEETS, J. H.: **Pseudophakia in children: A review of results of eighteen implant surgeons**. *Ophthalmic. Surg.* 10: 61-66, 1979.
23. HILER, D. A.: **The intraocular lens in the pediatric patient**. In *Surgery of the Infant Eye*. ML Kwitko (ed), New York, Appleton-Century-Crofts, 1979, Chapt 116, 265-289.
24. RICH, L. F., FRIEDLANDER, M. H., KAUFMAN, H. E., et. al.: **Keratocyte survival in keratophakia lenticules**. Submitted to *Am. J. Ophthalmol.*

## EXPERIENCIAS EN QUERATOMILEUSIS. QUERATOFASIAS Y EXTRACCION DEL CRISTALINO COMBINADA CON QUERATOFASIA

CARLOS SILVA  
BREMEN, ALEMANIA

En el transcurso de los últimos 24 meses, se han practicado en Bremen, 108 operaciones de queratomileusis, 38 intervenciones de queratofasia y 38 operaciones de extracción intracapsular de cristalino y queratofasia.

Los principios de esta intervención quirúrgica, han sido descritos previamente, y deseo en esta oportunidad remitirme a presentar los resultados obtenidos y explicar sobre las dificultades que se pueden presentar en las diferentes fases de la operación.

### *INDICACIONES PARA LA CIRUGIA REFRACTIVA*

En los casos iniciales nos circunscribimos a estudiar pacientes con ambliopía y anisometropía, especialmente en niños, luego de fracasos en rehabilitaciones visuales y con los lentes de contacto.

Al observar excelentes resultados en estos pacientes, tanto desde el punto de vista anatómico, como funcional, se trató a personas adultas con diversos grados de ambliopía y finalmente se han intervenido personas con buena agudeza visual con mala tolerancia a las lentillas de contacto.

En su experiencia el doctor Ainsley, de Londres, explicaba que con esta intervención se alcanza una corrección diaria de 24 horas, lo que conlleva

a que ojos ambliopes paulatinamente mejoran en su agudeza visual, no solo en niños, sino como observamos, en adultos jóvenes.

### *ESTUDIO FUNCIONAL DE LA AGUDEZA VISUAL PRE-OPERATORIA*

Se realiza una exploración de la refracción objetiva, en lo posible bajo atropina o en su defecto con zyklolat, valorando un buen grado de agudeza visual de cerca, pues indica una guía de buen pronóstico, luego de una intervención.

Esto tiene importancia en pacientes con un alto grado de miopía que no presentan alteraciones en la fijación.

Medida del espesor de la córnea, tensión intraocular y estudio de fondo de ojo con lentes de tres espejos. Se realiza un status ortóptico y pleóptico. Esperamos emplear en lo futuro un equipo de ultrasonido.

Hemos dividido para esta presentación, los casos de queratomileusis en tres grupos de pacientes:

De - 8.0 a -15.0 dioptrías.

De -15.0 a -20.0 dioptrías.

Con mayor de -20.0 dioptrías.

Comenzaremos por las personas de este último grupo.

En el estudio pre-operatorio, se advertía a estos pacientes, que una corrección exacta de su miopía no era factible, son personas que no alcanzan una buena agudeza visual sin corrección.

Son pacientes que en su evolución post-operatoria al reducirse enormemente el número de dioptrías, realizan ahora con o sin corrección sus labores cotidianas.

Es de anotar igualmente, que habiéndose explicado al paciente de su alta refracción, y que a nuestro parecer a posteriori, no se alcanzó una corrección quirúrgica adecuada, desde el punto de vista del paciente, las reducciones por ejemplo de -28.0 a -10.0, de -27.0 a -12.0 como observaremos en las tablas lo hacen sentirse seguro en sus actividades diarias.

Entre -8.0 y -15.0 dioptrías se obtienen los mejores resultados, llegándose a una corrección final que es más estable que en altos miópicos, con una buena visión post-operatoria.

## EXPERIENCIAS EN QUERATOMILEUSIS

Al demostrar los casos con buenos resultados, luego de una intervención, explicaremos igualmente los casos desfavorables y nos remontaremos a sus causas y dificultades encontradas en la fase operatoria.

Se ha seguido la técnica del profesor Barraquer en los cursos de cirugía refractiva, dictados en Bogotá.

La marca de referencia, anteriormente se realizaba con una aguja 8-0 en forma interlaminar a las 12 horas, coloreando luego con azul de metileno. Esto podría ser causa de siembra de células corneales interlaminares. Actualmente se practica una pequeña erosión longitudinal periférica corneal que se colorea igualmente.

En algunas ocasiones, no se obtiene una buena adaptación del anillo neumático, pero se regula con facilidad, realizando una disección parcial de la conjuntiva perilimbar.

En casos de hendidura palpebral estrecha, se colocan suturas en los bordes palpebrales, que refuerzan la acción del blefaróstato colibrí, y la excursión de microqueratomo sobre el anillo neumático, se realiza sin dificultades.

Sin embargo, no han faltado casos en nuestra estadística, en que se ha obtenido un disco corneal de menor espesor del requerido. En consecuencia, se sutura nuevamente el disco corneal a su lecho, y se posterga la operación por algunos meses.

La evolución post-operatoria es muy buena, como en una queratoplastia laminar.

En ocasiones al congelar el tejido, los bordes del disco se retraen algo de la base, pudiendo dificultar la talla óptica, produciéndose irregularidades en los bordes que dificultan luego la sutura.

Debe centrarse cuidadosamente el disco a la base, retirándose todo fluido restante hasta conseguir una coaptación perfecta del disco a la base.

El disco corneal luego de la queratectomía, debe tener de espesor entre 0.250 y 0.280 mm. Discos con mayor espesor en el post-operatorio a pesar de la perfecta claridad de la córnea no alcanzan a veces una mayor agudeza visual.

Una maniobra muy importante, es la colocación del disco tallado en su lecho. Se debe evitar manipulaciones innecesarias; se invierte la espátula

donde se encuentra el disco descongelado sobre el lecho corneal, y colocándolo muy suavemente sobre el mismo.

Dificultades se observaban al colocar el disco, y éste se retraía en sus bordes, enrollándose algo, y esto sería la causa de siembra de células en la entrecara.

La buena adaptación de la sutura es fundamental, pues no solamente es suficiente el realizar una sutura continúa muy limpia, sin maltratar el tejido luego de la talla óptica, sino el obtener una tensión ideal en los bordes.

Una pequeña deficiencia de adaptación del disco puede ser causa de invasión de células periféricas en la zona interlaminar causando turbidez corneal.

No deberá tocarse el disco con el fórceps, solamente fijando éste a la conjuntiva perilimbar.

Se realiza la tensión cuidadosa de la sutura y se anuda.

Es excelente el material de sutura como nylon o perlon.

En el post-operatorio se obtiene poco astigmatismo.

Al concluir la intervención se coloca un punto de tarsorrafia, quedando ambos ojos vendados.

En el cambio de vendajes luego de la operación, es importante que el paciente no pestañee en forma brusca, se pueden producir erosiones de la córnea que demoran en epitelizarse.

Se aplican gotas de antibióticos y adsorbonac al 2%, una vez al día.

En los niños, se puede dejar el vendaje oclusivo hasta 2 a 3 días sin presentarse dificultades subjetivas.

A los 14 días de la intervención se retiran las suturas ya sea bajo microscopio o ante la lámpara de hendidura.

### *CONTRAINDICACIONES*

Córneas muy delgadas.

Queratoconos.

## EXPERIENCIAS EN QUERATOMILEUSIS

Córneas planas.

Lesiones antiguas corneales.

### *MOLESTIAS SUBJETIVAS EN EL POST-OPERATORIO*

Visión de halos periféricos.

Incomodidad pasajera en la visión binocular.

Molestias a la sutura en el post-operatorio inmediato.

### *COMPLICACIONES*

Pérdida del tejido corneal y/o perforación durante la talla óptica.

Opacidades corneales periféricas.

Opacidades corneales centrales.

Neovascularización.

### *QUERATOFAQUIAS*

En la técnica de la queratofaquia, en hipermetropías, afaquias e intervenciones combinadas de extracción intracapsular del cristalino con queratofaquia, hemos seguido la técnica del tallado de un disco corneal dador, y su inclusión intralaminar.

En pacientes hipermetrópicos, a pesar de obtener excelentes resultados anatómicos, la mejoría de la agudeza visual es relativa, se trata de pacientes ambliopes y en ocasiones no se alcanza a corregir un mayor número de dioptrías como se calculó.

Sin embargo, en la evolución de varios meses, los pacientes presentan una mejoría subjetiva.

En personas afáquicas que no toleraban los lentes de contacto, ya sean luego de extracciones de cataratas, luego de accidentes perforantes del globo ocular con lesiones del cristalino, en niños afáquicos, luego de una aspiración hidrostática del cristalino, se observa un buen resultado objetivo y subjetivo, llegándose a una buena agudeza visual.



En hipermetropías y afáquicos la evolución post-operatoria es sin complicaciones, los ojos quedan tranquilos, al quedar la sutura intracorneal, no causan sensaciones molestas al paciente.

Para prevenir la movilización del lentículo corneal de inclusión, además de la sutura continua antitorque, se colocan puntos separados, los cuales se retiran a los 14 días de la operación.

La sutura antitorque queda otras dos a tres semanas, pero puede dejarse más tiempo sin complicaciones.

Se emplean corticoides tópicos en forma más precoz que en queratomileusis, obteniéndose una gran claridad corneal.

Al cabo de unos meses, no se puede determinar el lente corneal incluido, que ya forma una sola unidad con el tejido receptor.

No se han observado reacciones inmunológicas y el astigmatismo post-operatorio es de menor cuantía.

#### *EXTRACCION DEL CRISTALINO COMBINADA CON QUERATOFAQUIA*

En intervenciones combinadas de extracción intracapsular del cristalino asociada a queratofaquia, se practica la queratectomía, sutura del disco corneal mediante sutura antitorque y luego la inclusión del lentículo corneal previamente tallado.

Luego se realiza la extracción del cristalino.

El disco incluido queda centralizado.

La evolución post-operatoria es buena, los primeros días se presentan molestias subjetivas, algo mayores que en afaquias puras, el lentículo es algo edematoso, pero al cabo de 8 días al aplicarse corticoides tópicos, desaparecen las molestias subjetivas.

Se aplican gotas de Isopto-max, tres veces al día, y se dilata algo la pupila.

A los 14 días se retiran los puntos separados y la sutura antitorque la hemos dejado en ocasiones por varios meses, para controlar la evolución del astigmatismo, sin presentar opacidades corneales.

El lentículo queda perfectamente centrado, sin reacciones de autoinmunización, al emplearse córneas frescas.

#### **EXPERIENCIAS EN QUERATOMILEUSIS**

La evolución subjetiva del paciente es muy satisfactoria, ya que se sienten muy contentos de tener una buena visión de lejos, poder leer sin anteojos, aunque la evolución demora semanas y hasta meses.

Al ir disminuyendo progresivamente el espesor total de la córnea, la visión aumenta también progresivamente.

La dificultad de una corrección más exacta, reside en los cambios fisiológicos de la córnea dadora, su hidratación post-mortem y la dificultad de la medida exacta de este tejido.

CARLOS SILVA

KERATOMILEUSIS ÜBER - 20,0 DIOPTRIEN

Nummer	Alter	Monate	Radius	Pre - operative		Post - operative	
				Refraktion	Visus	Refraktion	Visus
5452	15	12	7,310	- 21,0	0,3	- 5,5	0,3
5494	15	14	7,240	- 21,0	0,4	- 7,0	0,3
5555	25	11	7,340	- 22,5 - 1,5 a 170	0,5	- 6,5 - 5,0 a 18	0,5
5591	30	14	7,160	- 21,5 - 1,5 a 170	0,5	- 6,0	0,5
5631	23	11	7,350	- 29,5 - 1,0 a 3	0,25	- 7,5 - 1,5 a 165	0,5
5480	33	6	7,940	- 20,25 - 2,25 a 38	0,3	- 6,5 - 2,5 a 38	0,2
6017	25	8	7,105	- 25,0 - 1,0 a 150	0,3	- 7,0 - 3,0 a 165	0,1
6019	36	10	7,105	- 23,75 - 1,75 a 5	0,05	- 6,0 - 2,5 a 25	0,2
6120	29	12	8,040	- 24,5 - 2,0 a 115	0,1	- 4,5 - 2,0 a 115	0,2
6137	38	5	7,580	- 22,5 - 1,5 a 60	0,3	+ 1,5 - 3,5 a 165	0,5
6274	30	9	7,568	- 24,0 - 2,5 a 5	0,3	- 4,0	0,15
6408	38	9	7,640	- 22,5 - 0,75 a 165	0,5	- 5,25 - 1,5 a 170	0,5

EXPERIENCIAS EN KERATOMILEUSIS

KERATOMILEUSIS ÜBER - 20,0 DIOPTRIEEN

Nummer	Alter	Monate	Radius	Pre - operative		Post - operative	
				Refraktion	Visus	Refraktion	Visus
5592	23	14	7,340	— 32,0 — 3,0 a 160	0,3	— 18,0	0,15
5493	39	12	7,540	— 20,0 — 1,5 a 16	0,3	— 11,0 — 0,5 a 95	0,2
5516	23	11	7,340	— 28,0 — 3,0 a 10	0,3	— 15,0	0,2
5637	23	8	7,725	— 27,0	0,07	— 12,0	0,1
5644	20	10	7,840	— 21,5 — 1,5 a 158	0,15	— 11,75	0,2
5803	21	12	7,690	— 27,25	0,2	— 12,0	0,1
6031	23	9	7,490	— 25,25 — 1,0 a 13	0,3	— 13,0	0,25
6178	20	10	7,340	— 27,5	0,3	— 16,0 — 2,25 a 40	0,3

CARLOS SILVA

KERATOMILEUSIS VOM - 15,0 bis - 20,0 DIOPTRIEN

Nummer	Alter	Monate	Radius	Pre - operative		Post - operative	
				Refraktion	Visus	Refraktion	Visus
5169	18	24	9,060	- 17,0 - 4,0 a 15	1/50	- 7,5 - 6,0 a 30	1/25
5222	20	12	8,649	- 16,0	0,07	- 6,0	0,05
5344	17	15	8,402	- 17,0	0,03	+ 1,25 - 1,25 a 20	0,07
5357	20	10	8,402	- 16,5	0,5	- 1,5	0,4
5410	19	12	8,000	- 19,5 - 3,0 a 50	0,15	- 6,5 - 5,0 a 18	0,25
5454	18	8	7,790	- 18,0 - 3,25 a 90	0,3	- 3,5 - 1,75 a 90	0,3
5627	25	11	7,420	- 18,0 - 1,5 a 35	0,3	- 6,0	0,25
5341	30	9	7,475	- 16,0	0,4	- 7,25	0,5
5884	17	8	7,580	- 17,25 - 4,25 a 154	0,1	- 2,5	0,07
6130	27	9	7,530	- 17,0	0,4	- 3,5 - 2,5 a 85	0,2
6333	20	6	7,430	- 15,0 - 0,75 a 110	0,5	- 6,5 - 2,0 a 110	0,5

EXPERIENCIAS EN KERATOMILEUSIS

KERATOMILEUSIS VOM - 15,0 bis - 20,0 DIOPTRIEEN

<i>Nummer</i>	<i>Alter</i>	<i>Monate</i>	<i>Radius</i>	<i>Pre - operative</i>		<i>Post - operative</i>	
				<i>Refraktion</i>	<i>Visus</i>	<i>Refraktion</i>	<i>Visus</i>
5151	17	18	8,693	— 17,5 — 2,25 a 35	0,1	— 12,5 — 1,5 a 30	0,1
5297	20	17	8,423	— 15,75 — 1,75 a 25	0,5	— 9,0	0,15
5541	20	12	7,550	— 18,0 — 1,25 a 175	0,4	— 12,0 — 1,0 a 70	0,25
5619	16	8	7,620	— 15,75 — 0,75 a 90	0,3	— 8,75 — 1,75 a 90	0,3
5824	13	10	7,345	— 18,5 — 2,5 a 5	0,1	— 8,25 — 2,0 a 160	0,15
6102	17	11	7,830	— 17,75 — 3,5 a 165	0,4	— 12,0 — 2,0 a 110	0,3
6200	14	10	7,380	— 18,5 — 3,0 a 42	0,3	— 11,5 — 2,0 a 20	0,3
6233	13	12	7,350	— 15,75 — 1,75 a 167	0,07	— 12,25 — 3,5 a 0	0,2

CARLOS SILVA

KERATOMILEUSIS VOM - 8,0 bis - 15,0 DIOPTRIEN

Nummer	Alter	Monate	Radius	Pre - operative		Post - operative	
				Refraktion	Visus	Refraktion	Visus
6011	14	11	8,045	— 13,25 — 4,0 a 30	0,25	— 4,5 — 3,25 a 18	0,4
6087	11	12	7,680	— 11,75 — 4,5 a 15	0,3	— 4,0 — 1,5 a 25	0,2
6078	33	11	7,880	— 11,5	0,5	— 1,25 — 2,25 a 55	0,5
5955	28	10	7,340	— 9,0 — 4,0 a 168	0,6	— 3,0 — 3,0 a 175	0,4
5930	30	7	7,850	— 9,0 — 2,0 a 100	0,6	— 0,5 — 1,0 a 60	0,4
5915	17	7	7,645	— 11,0 — 4,25 a 169	0,15	— 4,0 — 4,0 a 140	0,25
5871	20	8	7,630	— 9,75 — 3,5 a 22	0,2	— 1,0 — 6,0 a 25	0,3
5864	26	12	7,180	— 11,25 — 4,0 a 158	0,5	— 3,0 — 4,25 a 125	0,6
5800	20	11	7,180	— 10,25 — 1,0 a 145	0,6	Plan	0,3
6571	19	10	7,060	— 8,0 — 0,75 a 170	0,8	— 4,0 — 2,75 a 123	0,8

EXPERIENCIAS EN KERATOMILEUSIS

KERATOMILEUSIS VOM - 8,0 bis - 15,0 DIOPTRIEN

<i>Nummer</i>	<i>Alter</i>	<i>Monate</i>	<i>Radius</i>	<i>Pre - operative</i>		<i>Post - operative</i>	
				<i>Refraktion</i>	<i>Visus</i>	<i>Refraktion</i>	<i>Visus</i>
6276	24	8	7,080	— 10,0 — 4,0 a 22	0,6	— 3,0 — 4,25 a 125	0,6
6260	15	9	7,190	— 10,0 — 2,0 a 25	0,6	— 3,5 — 1,75 a 65	0,6
6259	34	10	7,550	— 10,75 — 2,75 a 58	0,6	— 3,0 — 4,0 a 62	0,4
6249	15	8	7,300	— 9,0 — 1,25 a 15	1,0	— 2,25 — 3,25 a 155	0,8
6166	17	8	7,430	— 14,25 — 1,75 a 60	0,4	— 2,75 — 5,0 a 40	0,5
6165	18	10	7,500	— 11,25 — 2,0 a 146	0,6	— 4,25 — 0,25 a 20	0,5
6159	10	12	7,820	— 7,75 — 2,25 a 78	0,1	— 2,5 — 2,0 a 120	0,15
6158	17	12	7,300	— 10,5 — 1,0 a 12	0,5	— 3,0 — 2,5 a 15	0,3
6139	27	10	7,530	— 11,25 — 2,25 a 20	0,5	— 3,5 — 2,5 a 85	0,2
6115	13	12	7,690	— 10,0 — 1,0 a 160	0,3	— 4,25	0,25



CARLOS SILVA

KERATOMILEUSIS VOM - 8,0 bis - 15,0 DIOPTRIEN

Nummer	Alter	Monate	Radius	Pre - operative		Post - operative	
				Refraktion	Visus	Refraktion	Visus
5657	21	9	7,430	- 8,75 - 1,75 a 180	0,8	- 2,75 - 2,25 a 5	0,4
5618	27	10	7,040	- 9,0 - 0,5 a 5	0,8	- 4,25 - 2,0 a 48	0,8
5602	18	14	7,390	- 8,25 - 2,25 a 12	0,8	- 2,25 - 5,5 a 178	0,8
5588	24	9	7,860	- 14,75 - 3,0 a 113	0,4	- 2,0 - 6,0 a 108	0,3
5546	19	12	7,890	- 11,25 - 1,75 a 13	0,2	- 0,25 - 4,25 a 168	0,3
5522	11	11	7,980	- 8,25 - 2,25 a 180	0,07	Plan	0,2
5464	16	10	7,860	- 9,75 - 2,0 a 75	0,8	+ 0,5 - 2,25 a 60	0,8
5334	19	8	8,594	- 9,5 - 0,75 a 105	0,4	- 0,5 - 1,0 a 105	0,3
5331	30	12	8,473	- 8,5 - 2,25 a 70	0,4	+ 0,25 - 0,5 a 180	0,3
5482	20	11	7,350	- 11,25 - 2,0 a 3	0,5	- 4,5	0,6

EXPERIENCIAS EN QUERATOMILEUSIS

KERATOPHAKIE BEI HYPERMETROPIEN

Nummer	Alter	Monate	Pre - operative		Post - operative	
			Refraktion	Visus	Refraktion	Visus
5054	12	12	+ 8,0 — 3,5 a 4	0,1	— 0,75 — 0,75 a 180	0,1
5145	10	9	+ 7,0 — 2,25 a 6	0,1	1,0 — 2,0 a 150	0,1
5148	9	10	+ 8,5 — 2,75 a 178	0,4	+ 3,25 — 3,0 a 20	0,5
5168	11	11	+ 6,25	0,1	Plan — 2,25 a 75	0,1
5175	9	12	+ 10,5 — 0,75 a 140	0,1	2,75	0,15
5492	10	10	+ 8,0 — 2,0 a 138	0,1	1,25 — 2,0 a 140	0,15
5295	13	12	+ 11,55 — 2,0 a 10	0,1	4,0	0,1
5592	16	10	10,25 — 1,5 a 5	0,2	0,5 — 0,75 a 100	0,5
5651	13	8	9,0 — 1,5 a 25	0,1	Plan	0,15

CARLOS SILVA

KERATOPHAKIE BEI HYPERMETROPIEN

Nummer	Alter	Monate	Pre - operative		Post - operative	
			Refraktion	Visus	Refraktion	Visus
5808	14	6	7,0 — 1,25 a 170	1/35	Plan	0,1
6228	15	8	+ 10,0	0,1	Plan	0,07
5280	15	10	+ 8,6 — 0,75 a 150	0,3	+ 6,0 — 0,5 a 90	0,2
5529	18	6	+ 9,5 — 2,0 a 150	0,2	+ 6,0 — 5,75 a 55	0,3
6092	15	7	+ 9,75 — 1,75 a 85	0,6	— 5,5 — 1,0 a 85	0,15
6192	12	8	+ 10,5 — 1,5 a 160	0,3	+ 5,0 — 0,75 a 120	0,3
6303	17	12	+ 8,75 — 2,0 a 12	0,8	Plan	0,3
6021	21	10	6,0 — 1,0 a 130	0,8	+ 2,25 — 1,0 a 130	0,6

EXPERIENCIAS EN QUERATOMILEUSIS

KERATOPHAKIE BEI APHAKIEN

Nummer	Alter	Monate	Pre - operative		Post - operative	
			Refraktion	Visus	Refraktion	Visus
5270	7	14	+ 17,75 — 2,5 a 5	Keine Angaben	+ 3,5 — 5,0 a 10	Keine Angaben
5310	9	12	+ 13,5 — 4,0 a 37	0,5	+ 8,75	0,4
5503	50	11	+ 13,25 — 1,5 a 105	1,0	2,0 — 1,25 a 120	1,0
5540	30	10	+ 13,75 — 2,0 a 70	1,0	+ 4,25 — 3,0 a 134	0,6
5638	13	8	+ 12,5 — 1,5 a 40	0,25	.. 8 25 — 1,75 a 20	0,3
5675	9	7	+ 11,0	0,07	Plan	0,15
5957	38	8	17,25 — 3,75 a 165	0,5	5,75 — 3,0 a 15	0,4
6190	8	6	+ 13,25 — 2,0 a 155	0,15	.. 5,0 — 0,75 a 120	0,4
6229	8	7	+ 11,75 — 2,0 a 5	H. B.	Plan	H. B.
6051	24	5	+ 13,75 — 2,75 a 85	1,0	7,5 2,5 a 75	0,5

CARLOS SILVA

CATARACT EXTRAKTION KOMBINIERT MIT KERATOPHAKIE

Nummer	Monate	Alter	Pre - operative			Post - operative		
			Refraktion	Visus	Handbewegungen	Refraktion	Visus	Handbewegungen
5247	12	67	s. c.		Handbewegungen	+ 6,0 — 2,0 a 178		0,8
5341	10	40	1,75 — 2,25 a 150	0,1		+ 5,0		0,4
5411	12	52	s. c.		Handbewegungen	+ 3,5 — 1,5 a 40		0,6
5431	14	60	— 6,0 — 0,5 a 90	0,05		+ 4,5 — 2,0 a 158		0,6
5435	13	62	— 3,25	0,25		2,25 — 1,75 a 150		0,4
5466	9	69	Plan — 1,0 a 150	0,25		+ 4,0		0,5
5470	10	65	+ 0,5 — 1,25 a 150	0,3		+ 4,0 — 1,75 a 100		0,3
6079	8	63	s. c.	0,2		+ 4,5 — 2,0 a 130		0,15
6103	18	68	— 6,0 — 1,0 a 125 (Alte Amotio Retinae)	0,1		+ 5,75 — 1,75 a 30		0,1
6129	8	66	— 3,5 — 1,5 a 125	0,3		+ 0,5 — 2,25		0,3
6142	10	62	— 9,0	0,05		+ 5,0		0,1

EXPERIENCIAS EN QUERATOMILEUSIS

CATARACT EXTRAKTION KOMBINIERT MIT KERATOPHAKIE

Numer	Monate	Alter	Pre - operative		Post - operative	
			Refraktion	Visus	Refraktion	Visus
5471	11	57	s. c.	F. Z.	+ 5,5 — 2,75 a 10	0,3
5568	10	70	— 6,0	0,05	+ 6,0	0,25
5578	10	69	— 4,0	0,07	3,0 — 2,25 a 55	0,5
5622	11	66	— 5,0	0,05	5,75 — 1,25	0,5
5673	10	56	Lichtschein		5,5	0,25
5909	8	60	— 4,5 — 0,5 a 90	0,15	3,25 — 2,5 a 85	0,5
5956	10	67	+ 1,05 — 0,5 a 0	H. B.	5,0 — 0,75 a 15	0,4
6003	8	66	— 1,75 — 1,25 a 100	0,05	5,5 — 1,5 a 170	0,4
6036	6	47	s. c.	H. B.	9,5	0,3
6277	6	61	s. c.	H. B.	2,5 — 1,0 a 40	0,25
6301	6	56	s. c.	H. B.	7,25	0,15

## RELACION ENTRE AGUDEZA VISUAL Y SITUACION DE LA ZONA OPTICA EN LOS OPERADOS DE QUERATOMILEUSIS HIPERMETROPICA ASOCIADA CON INTERVENCION DE CATARATA

JOSE I. BARRAQUER, M. D.

BOGOTA, COLOMBIA

En 69 casos intervenidos en 1979 de queratomileusis, asociada a extracción de catarata, en 58 dispusimos de queratografías postoperatorias para apreciar la relación que existe entre la situación de la zona óptica postoperatoria con el eje visual, la cual puede hallarse centrada con el eje óptico del ojo, con el limbo corneo esclera, o descentrada en alguna dirección.

La Tabla I, recoge los 58 casos, ordenados de mayor a menor agudeza visual. De su clasificación resultan las tablas que siguen.

En la Tabla II, están clasificados 45 casos, en los que la zona óptica estaba centrada con el eje visual o con el limbo esclero corneal. Todos ellos con visión de 0.50 (20/40) o superior. En esta tabla podemos apreciar 27 casos en los que la zona óptica estuvo centrada con el limbo y 18 con el eje visual. El 87% de los primeros obtuvieron una visión superior a 0.50 (20/40), mientras que el 100% de los segundos obtuvieron esta visión, o mejor.

Cuando la zona óptica está centrada con la córnea, el 44.44% de los casos obtuvieron visión de 0.80 (20/25) o superior (Tabla III); el 49.99% cuando se halla centrada con el eje óptico. El 55.52% obtuvieron visión entre 0.50 y 0.67 en los casos con zona óptica centrada con el limbo esclero corneal y el 50.09% en los casos en que la zona óptica fue centrada con el eje visual.

En la Tabla IV, se hallan registrados 13 casos, en los cuales la visión era inferior a 0.50 (20/40), o que tenían la zona óptica descentrada. En ella

puede apreciarse que el descentramiento inferior es el que determina una mayor reducción de la agudeza visual. Dentro de este grupo, uno de los descentrajes es relativo, ya que el descentraje inferior fue determinado por ascensión de la pupila, por pérdida preoperatoria del vítreo (corresponde al caso con visión de 0.40).

Teniendo en cuenta que 5 casos con zona óptica descentrada adquirieron visión de 0.50 (20/40) o mejor, y que el resto tiene menor visión, el porcentaje total de casos con visión de 0.50 (20/40) o mejor es del 86.20%.

De estos datos se desprende que hay poca diferencia en agudeza visual si la zona óptica se halla centrada con el limbo corneo escleral o con el eje óptico. En cambio los descentrajes superior e inferior redundan en una notable disminución de la agudeza visual postoperatoria.

T A B L A I

RELACION ENTRE A. V. Y CENTRAJE Zo

Nº	Ojo	Visión	Zo centrada con:	Nº	Ojo	Visión	Zo centrada con:
5	I	1.00	Eje óptico	17	I	0.75	Eje óptico
22	D	1.00	EO	24	D	0.70	Córnea
25	D	1.00	Córnea	6	D	0.67	Descentrada temporal
26	I	1.00	Córnea	6	I	0.67	Descentrada temporal
32	D	1.00	Córnea	15	D	0.67	EO
37	I	1.00	Córnea	18	D	0.67	Córnea
40	D	1.00	Córnea	23	I	0.67	Córnea
49	D	1.00	Córnea	27	I	0.67	EO
2	I	0.80	EO	44	D	0.67	Córnea
5	D	0.80	EO	47	D	0.67	Córnea
13	D	0.80	Córnea	51	D	0.67	Córnea
21	I	0.80	EO	52	I	0.62	Entre córnea y EO
22	I	0.80	EO	10	D	0.60	EO
23	D	0.80	Córnea	20	D	0.60	EO
25	I	0.80	Córnea	20	I	0.60	EO
28	D	0.80	EO	43	I	0.60	Córnea
28	I	0.80	EO	7	D	0.50	Córnea
30	D	0.80	Córnea	7	I	0.50	Córnea
33	I	0.80	Córnea	21	D	0.50	Córnea
45	I	0.80	Córnea	29	D	0.50	Córnea
48	D	0.80	Córnea	33	D	0.50	Córnea
34	D	0.50	EO	19	D	0.40	Córnea
34	I	0.50	Córnea	19	I	0.40	Descentrada superior por vítreo
39	I	0.50	Descentrada superior	36	I	0.40	Córnea
41	D	0.50	Descentrada superior	42	D	0.40	Córnea
46	I	0.50	EO	14	I	0.33	Descentrada temporal
49	I	0.50	Descentrada inferior	48	I	0.33	Descentrada inferior
50	I	0.50	Córnea	38	D	0.30	Córnea
53	I	0.50	Córnea	35	D	0.20	Descentrada inferior



RELACION ENTRE AGUDEZA VISUAL DE LA ZONA OPTICA

Se aconseja colocar el anillo neumático de forma que quede centrado con el eje óptico, pero no modificarlo, si al dar paso al vacío queda centrado con el limbo corneal escleral. En cambio, deberá procederse a las maniobras correspondientes, si el descentraje es superior o inferior; el descentraje ligeramente temporal parece no tener demasiado efecto en la disminución de la agudeza visual.

T A B L A II  
45 CASOS CON VISION DE 0.50 (20/40) O MEJOR

Agudeza	Zo centrada con limbo corneal (27 casos)		Zo centrada con eje óptico (18 casos)	
	Casos	%	Casos	%
1.00 (20/20)	6	22.22	2	11.11
0.80 (20/25)	6	22.22	7	38.88
0.67 (20/30)	6	22.22	3	16.76
0.60 (20/35)	1	3.70	4	22.22
0.50 (20/40)	8	29.63	2	11.11

T A B L A III  
PROMEDIOS DE LA TABLA II

Agudeza	Zo centrada con córnea	Zo centrada con eje óptico
∠ 0.80 (20/25)	44.44%	49.99%
∠ 0.50 (20/40) y		
∠ 0.80 (20/25)	55.52%	50.09%
∠ 0.50 (20/40)	87.09%	100%

T A B L A IV  
13 CASOS CON VISION INFERIOR A 0.50 (20/40) O CON Zo DESCENTRADA

Zona óptica	Visión	Casos
Centrada con córnea	0.40 (20/60)	2
	0.30 (20/70)	1
Centrada con eje óptico	Inferior a	
	0.50 (20/40)	0
Descentrada temporal	0.67 (20/30)	2
	0.33 (20/80)	1
Descentrada superior	0.50 (20/40)	2
	0.50 (20/40)	1
Descentrada inferior	0.40 (20/60)	1
	0.33 (20/80)	1
	0.20 (20/100)	1

## RADIAL KERATOTOMY

RICHARD A. VILLASEÑOR, M. D.  
CALIFORNIA, USA

I was scheduled to speak to you today on the Artificial Anterior Chamber that is currently being used for Keratophakia. And with your permission, I wish to talk instead on the topic of Radial Keratotomy. Radial Keratotomy has been causing a great deal of interest in the last few months in the United States, and has prompted our research groups at U.S.C. and U.C.L.A. to begin animal and human investigation. I will discuss some of our preliminary work, share with you some of our enthusiasm, and hopefully, make you aware of some of the complications that we might see in the future.

### *SLIDE OF HISTORY OF MYOPIC SURGERY*

Doctors have been interested in correcting myopia for many years. Probably the best documented paper was by Fukala in 1889 in which a series of high myopes were operated on for removal of the clear crystalline lens. The complication rate was extremely high with a large number of retinal detachments, and subsequent blind eyes. Strampelli in 1954 attempted the insertion of an acrylic lens into the anterior chamber. This resulted in late reactions and in damage of the transparent lens of the eye. Drs. Frey, Yamamori and Barraquer-Moner attempted to reduce the axial length of the eye by scleral resection, but this surgery was difficult, and did not give permanent results. Sato in 1953 reported on corneal incisions made with a special knife designed by him. The knife entered the anterior chamber and radial incisions were made similar to the incisions suggested currently. Some incisions were also made on the epithelium side to correct any residual astigmatism, or to supplement the correction of myopia. En-

RICHARD A. VILLASEÑOR

tering the anterior chamber produced serious complications in some cases, however, many of his patients obtained good results.

Barraquer in 1964 reported on his results of keratomileusis for the correction of myopia, and he is continuing to do this surgery with good results in cases of 8 diopters or less. Greater than 8 diopters frequently produced some loss of correction. I am presently doing myopic keratomileusis on monkeys, and will report my results at the Academy of Ophthalmology this year. Fyodorov reported his results of the radial keratotomies in Moscow in 1977, and in the december issue of the ANNALS OF OPHTHALMOLOGY presents additional data. He indicates a visual result of 83.7% of the patients with 20/20 to 20/30 vision. Five per cent were 20/50 to 20/60, and 2% were 20/200 without glasses. In some patients there is a 25 reduction of the myopic correction in the first few weeks.

Stabilization of the myopia occurs within three months, and he has noted no deterioration after three months. He reports a complication rate of 7%, and these were limited to early cases in which corneal perforation occurred with no longterm, adverse effect. His results have not been verified by other ophthalmologists, as yet. Dr. Bores, from Detroit, Michigan, became the blade breaker. An alternative is to place the razor blade fragment into the grooves that are placed on the edge of the stainless steel block, and similarly to grasp it with a razor blade breaker. The advantage to this is that the tip of the blade touches the stainless steel, and can dull the tip. Teflon coating may eliminate this. These blades have been specially made for me by Medical Work Shops, and have a present depth and are very sharp. The standard super blade comes in either a 15, 30 or 45 degree angle, and the 15 degree blade is sharper for this procedure. In spite of the sharpness of the super blades, we find that the blade is significantly dull after the initial 8 cuts, and even though the remaining 8 cuts can be made with the same blade, it is easier to use a second matching blade. Fixation at the present time is done with Castroviejo forceps, although Dr. Galan's suction ophthalmodynamometer maintains higher pressure in the eye with good fixation, and may be a better device. Antibiotic and pupillary dilatation is carried out followed by a patch. The majority of the epithelium healing is noted within the first 24 hours with complete healing within the first three days. Immediately following the last incision, one notices a change in the keratometer readings by as much as 6 diopters. I wish to repeat that this is immediately following the last incision. Some of this is lost in the first few days, and with the initial stabilization in one month. This monkey shows what the eye looks like

## RADIAL KERATOTOMY

two months postoperative. We have achieved a 4 diopter change in this particular animal with a minimum amount of astigmatism. The variables of the surgery include the size of the central optic axis that is spared, the depth of the incisions, and the length of the incisions. These variables are being studied presently by our group.

### --SLIDE-- *ADVANTAGES*

1) The optic axis is spared in Radial Keratotomies as opposed to the Barraquer technique where a lamellar section is removed, frozen, and cut. There is no interface scarring, and no foreign bodies. 2) The equipment is inexpensive. The superblades or whatever blade that ultimately becomes the best blade will be quite inexpensive. The ancillary equipment, such as the pachymeter or endothelial camera and A-scan for axial length are expensive instruments, but can be done in a central laboratory or a University prior to the surgery. 3) It is technically easy; the surgery takes no longer than 10 minutes, and a competent surgeon familiar with microscopic techniques can learn the technique on a one-day symposium. 4) The surgery may be repeated if the desired effect is lost. 5) The visual acuity is relatively rapid. Many cases have noted improvement in their vision within the first ten days.

### DISADVANTAGES

1) The principle objection that I have to the surgery being done in humans at the present time is that there is no long term follow-up. We must realize that 1500 cases have been done in the world, and these include the majority of the cases done by Fyodorov. What the complications will be longterm is impossible to say, since the surgery must be classified as experimental at this time. 2) The surgery is definitely exploitable. What I mean by this is that patients are very eager to undergo the surgery if it is meant to sound like it is an alternative to glasses or contact lenses. I think it is the responsibility of physicians to discourage any patient that is wearing glasses or contact lenses successfully from undergoing this surgery. This criterion may change after several thousand cases have been done, and sufficient follow-up has been obtained. There are certain people, such as law enforcement officers, athletes and others with vocational reasons that would be good candidates for this surgery. Surgery for its cosmetic effect alone should not be done initially.

*THE COMPLICATIONS:*

This is a photograph of one of the patients that we have seen at U.S.C. that was done by Bores and his group. The one eye is approximately one month postop, and the second slide shows higher magnification, and with subsequent integrity of the cell wall. What the longterm effects was only 7 days postop. One can see significant swelling of the stroma and the patient's visual acuity was reduced to 20/200. The left eye that was one month postop had lost much of the effect, but the patient was very happy with 20/50 uncorrected vision. He did, however, complain of glare, but stated that it was a small price to pay for not wearing glasses. The loss of the effect has been mentioned with approximately 25% of the effect lost within the first month, and stabilization with three months.

This series of photographs are of the endothelium of an owl monkey. The first is the preop photo showing a normal, regular pattern. The second is two weeks postop, and the last is one month postoperative. One can see the swelling of the endothelial cells, and the loss of the regular pattern in the first two weeks. By the fourth week, the cells appear to be of normal size, and the pattern has returned to an almost normal state. We have later photographs where the cornea appears entirely normal. It does not appear that these cells are lost with subsequent sliding of cells from the periphery to fill the defect, but rather there is edema will be on the endothelium is one of the major questions.

This next SLIDE is of the incision through the trabeculum. As we continue our incision past the limbus, the deeper cuts will undoubtedly traumatize some of the trabecular tissue. The pressure is initially very soft at the time of the surgery, but returns to normal within 24 hours, and has remained normal for up to two months without a pressure rise. The question of longterm glaucoma is a serious question.

NEXT-Anterior chamber penetration and endophthalmitis is probably our most dreaded complication. Fyodorov reported anterior chamber penetrations and we have had similar experiences. Anterior synechiae did not form, and endophthalmitis did not occur, however, the possibility exists. Vascularization is a theoretical consideration that has not been observed. Induced astigmatism is a reality and incisions free-hand certainly can produce irregular astigmatism. I would like to show you this slide again from one of the patients we saw, and note how the incisions are not made regularly.

## RADIAL KERATOTOMY

Physicians in the United States are beginning this surgery with what I believe to be a lack of background as to the animal investigation, and as to the knowledge of the technique. In spite of this, I am sure that the next few months will see a large number of ophthalmologists attempting this technique. I suggest that the study be based at the University, or Universities closest to your practice. The surgery need not be done directly in the University, but the physician should be trained by the Universities and given a national standard protocol to follow. If each case has a protocol followed much like the present intraocular lens protocol, then scientific information can be obtained rapidly. If, on the other hand, the physicians do the surgery without a protocol, then it will take us years to uncover the actual results of this surgery. A moratorium should be considered after a sufficient number of cases have been done. This probably is impractical, since there will be ophthalmologists doing this outside of the auspices of the Universities, and if the surgery appears to be safe and effective, we will not want to refrain from doing the surgery for a period of time while others in our community continue doing the surgery. Finally, a central area of data banking should be implemented.

In conclusion, we are entering a decade of refractive surgery of the eye. Dr. Barraquer has seen the tremendous interest in the United States growing in his technique, and one course has already been given in the United States. Fyodorov's technique makes the surgery inviting to the general ophthalmologist, and hopefully, will offer a viable alternative to those specific individuals in whom this surgery is indicated. In addition, the refractive keratoplasty technique of Dr. Barraquer, and the radial keratotomies of Fyodorov have opened the door to research that in the future may eliminate the need for glasses for many nearsighted people.

## REFRACTIVE KERATOPLASTY CRYOBIOLOGIC CONSIDERATIONS

CASIMIR A. SWINGER, M. D.

NEW YORK, USA

Lamellar refractive keratoplasty, conceived and developed by Dr Jose I. Barraquer, is a most innovative contribution to ophthalmic surgery. Its possible clinical ramifications are vast, and investigation in this area is growing rapidly around the world.

Lamellar refractive keratoplasty includes several surgical procedures that alter the refractive state of the eye by changing the anterior corneal radius of curvature. This is accomplished by the specific lathing of corneal tissue that has been hardened by freezing.

Reported clinical results of patients undergoing lamellar refractive keratoplasty have been most encouraging, and significant complications have been minimal<sup>1, 3</sup>. Nevertheless, research into the effects of these procedures upon the eye at the histologic and ultrastructural level is only beginning, and many questions are unanswered.

The author has been involved in refractive keratoplasty for three years and has performed keratophakia and both myopic and hypermetropic keratomileusis. A major aspect of these procedures that immediately interested him was visual rehabilitation. Final visual rehabilitation is often delayed for many months, especially in keratophakia, and the delay may be related to adverse effects upon the corneal tissue produced by the freezing process. The author is actively investigating the effects of cryo-preservation upon the ocular tissue. This paper will present an overview of cryopreservation as related to lamellar refractive keratoplasty.

Cryopreservation began with Luyet and Hodapp, who in 1938 showed that sucrose protected the viability of frog spermatozoa frozen to low temperatures<sup>4</sup>. Polge et. al., in 1949, protected spermatozoa of various species from the damaging effects of freezing by using glycerol<sup>5</sup>, and Lovelock proposed a mechanism for such protection in 1953<sup>6</sup>. In 1954, Eastcott attempted corneal cryopreservation and performed the first successful penetrating keratoplasty using donor material that had been protected with glycerol and frozen to  $-79^{\circ}\text{C}$ <sup>7</sup>.

Based upon theoretical considerations, Lovelock introduced dimethyl sulfoxide (DMSO) to cryobiology and showed its protective effects upon frozen spermatozoa<sup>8</sup>. Later, Smith found DMSO to be superior to glycerol for protecting frozen corneal endothelium, and he successfully performed the first penetrating keratoplasty from a donor eye frozen in DMSO at  $-79^{\circ}\text{C}$ <sup>9</sup>. Mueller then utilized donor eyes frozen in both glycerol and DMSO for penetrating keratoplasty with good results<sup>10</sup>. Capella et. al., in 1965, derived what has been the standard protocol for corneal cryopreservation using sucrose, DMSO, and human serum<sup>11</sup>. In this technique, the cornea is cooled very slowly to the eutectic point at which time the cooling rate is increased. Ashwood-Smith, a basic scientist cryobiologist, has severely criticized this technique by stating that the osmotic stress imposed upon the cornea is unnecessarily high<sup>12</sup>. More recently, Sperling appears to have improved upon the Capella standard method<sup>13</sup>.

There have been numerous articles on the biochemical and biophysical consequences of subjecting animal cells to freezing and thawing. The external and internal cell fluids contain a variety of molecules whose solubilities and eutectic points vary. During cooling, the pH is altered significantly and various salts are concentrated as extracellular ice forms. Thus, the cell is exposed to an increasing salt concentration on the outside, and water leaves the cell to compensate for this.

At least four discrete events occur during freezing: namely, 1) removal of water as ice; 2) concentration of high and low molecular weight solutes; 3) decrease in cell volume; 4) precipitation of solutes. Many theories for freezing damage indicate that osmotic shock, probably during thawing, may be a major cause of cellular death. The osmotic shock results from membranes whose lipoproteins have been damaged by high concentrations of salts.

For most cells, there are optimal rates of cooling and thawing. These rates vary greatly, and the optimal rates also vary for specific cell types.



## REFRACTIVE KERATOPLASTY USING PRE-LATED

and sometimes for the same cell type in different species. Optimal rates also vary with the type of cryoprotective additive, the suspending medium, the freezing vial, and the freezing volume.

The means by which cryoprotective agents exert their beneficial effects upon frozen cells are unknown. Substances such as glycerol and DMSO enter cells rather rapidly, while such agents as polyvinylpyrrolidone, dextran, and hydroxyethyl starch do not. Cryoprotectants may stabilize membranes, increase protein buffering capacity, or dehydrate the cell and decrease intracellular ice formation.

Because of the critical importance of the endothelium in corneal grafting, corneal cryopreservation studies in the past have centered on this structure. The results of penetrating keratoplasty with corneal tissue preserved by the Capella method indicate that its success rate is comparable to that of fresh tissue<sup>14</sup>. The *in vivo* survival of cryopreserved endothelial cells has also been documented by histology<sup>15</sup>, specular microscopy<sup>16</sup> and scanning electron microscopy<sup>17</sup>. Corneal cells may thus be cryopreserved with maintenance of *in vivo* viability.

It has been known for many years that non-viable stroma is adequate for lamellar keratoplasty, and one study of 1,457 cases of non-viable stromal lamellar grafts stated that the final results were comparable to those with fresh tissue<sup>18</sup>.

Specific study of corneal stromal cryopreservation was first carried out by Dr. Jose Barraquer, during his development of refractive keratoplasty<sup>19</sup>. Barraquer stated that stromal cells disappeared within eight days when treated with preserving solutions alone, and that attempts to save the keratocytes were unfruitful. Dr. Barraquer chose his present cryopreserving solution on the basis of preservation of the collagen matrix. He stated that the volumetric properties of his solution were similar to those of corneal tissue and decreased tissue alteration. Though non-viable tissue results, the stroma is gradually repopulated by viable lost keratocytes. Considering that the term "cryopreservation" implies maintenance of cellular viability, it is perhaps best not to apply this term in refractive keratoplasty unless definitive evidence of cellular viability is demonstrated.

In addition to the work of Barraquer, there have been other studies on stromal cell survival following freezing, but much of the data appears to be in conflict. For many years it has been believed that rapid *in situ* freezing of the cornea, without cryoprotection, results in complete loss of

keratocytes<sup>20</sup>. More recently, however, it was found that such treatment produced non-viable keratocytes only when the epithelium was removed by the freezing process<sup>21</sup>.

Most studies on corneal stromal cell cryopreservation have used the Capella technique. In vitro studies with this technique have demonstrated keratocyte survival both ultrastructurally and metabolically in human eye bank corneas<sup>22</sup> and fresh rabbit corneas<sup>23</sup>. In vivo studies, however, have been less successful. In 1969, Polack and McEntyre studied cryopreserved penetrating grafts in rabbits and concluded on the basis of histologic and autoradiographic studies that keratocyte survival was minimal<sup>24</sup>. In 1970, Gallu et. al. studied cryopreserved intramellar stromal grafts in rabbits<sup>25</sup>. They found that keratocytes did not maintain viability unless the cryopreservation was carried out after first removing the epithelium. A more recent study by Clifton and Hanna in 1974 demonstrated that keratocytes failed to survive in cryopreserved penetrating grafts in monkeys<sup>26</sup>. At the present time, therefore, there is no controlled study documenting that a method has been found to cryopreserve corneal stroma with maintenance of keratocyte viability in vivo.

It is the opinion of this investigator that the freezing protocol as presently practiced should undergo intensive investigation. Despite the fact that long term clinical results appear satisfactory, little has been published concerning the effects of these procedures upon the cornea at the histologic or ultrastructural level. As stated previously, the keratocytes are presumed to die and the frozen tissue is later repopulated from the surrounding viable tissue. The whole process, however, may have deleterious effects upon the tissue. Necrosis of large numbers of cells may release toxic products detrimental to the endothelium.

Only recently have the effects of various dyes and cryoprotectants upon the surrounding normal keratocytes or the endothelium been studied in detail. The pH of these solutions can be very acidic and recent studies have demonstrated the harmful effects upon the endothelium of solutions with highly acidic or basic pH<sup>27</sup>. For this reason we have been experimenting with modified solutions and feel that a buffered solution is preferable.

In addition to direct toxic effects, massive cellular necrosis is likely to promote leukocytic infiltration during the initial stages, and this process is felt by some to play a role in inducing corneal vascularization<sup>28</sup>.

## REFRACTIVE KERATOPLASTY USING PRE-LATED

There may be definite advantages in developing a new cryopreservation protocol in addition to minimizing adverse effects. If keratocyte viability could be maintained *in vivo*, one would have a much more physiologic result. Wound healing should be improved significantly as it is well known that mucopolysaccharide production and collagen formation is delayed during the stage of cellular migration and repopulation into previously acellular stroma<sup>24</sup>. This may improve visual rehabilitation considerably. It is my clinical impression that visual acuity returns more quickly when viable rather than non-viable tissue (e.g. glycerin stored) is used in lamellar keratoplasty. Increased viability of the epithelium may also decrease the incidence of epithelial abrasion or erosion following keratomileusis.

Maintaining cellular viability may thus offer distinct advantages over non-viable tissue. However, one must consider the question of immune phenomena. Increasing cellular viability may also increase antigenicity in keratophakia. Documented rejection of a keratophakia lenticle has not been reported, although some cases of slow visual rehabilitation could conceivably represent a sub-clinical manifestation of rejection. There have been a number of studies documenting lack of difference in antigenicity between fresh and cryopreserved grafts<sup>29, 30</sup>. Most of these utilized xenografts. It is known that both cellular and non-cellular antigens exist in corneal tissue. The former seem to be of primary importance in homograft situations where as the latter also play a role in xenografts. These studies are not, therefore, directly applicable in our situation and keratophakia with a viable lenticle may indeed promote an immune reaction. Nevertheless, the lenticle is sequestered within the cornea and is considerably smaller in size than tissue routinely used for routine lamellar keratoplasty, a procedure known to have a very low rate of rejection. Of course, viable tissue in keratomileusis would presumably not have this drawback unless tissue antigenicity was altered by the procedure.

There may be other disadvantages to modifying the protocol. It has been shown by Edelhauser et. al., that the kinetics of DMSO uptake and release from corneal tissue proceeds at a relatively slow rate<sup>31</sup>. True cryopreservation may well demand a much longer incubation period than the one minute now used. This could make keratomileusis lengthy or even impractical to perform. Prolonged incubation would not be such a problem with keratophakia where patient surgery need not begin until the lenticle is carved or with lenticles being prepared at a centralized bank. Other potential disadvantages could be cost and inefficiency.

## CASIMIR A. SWINGER

These are some of the areas we have been working in and we hope to provide you with some definitive answers in the very near future. We are just beginning an adventure into one of the most exciting areas in ophthalmology, and it is a great tribute to the genius of Dr. Jose I. Barraquer that one man alone could develop the abstract concept of refractive keratoplasty into the reality as we know it today.

## REFERENCES

1. BARRAQUER, J. I.: **Keratophakia**. Jap. J. Ophthalmol., 18: 199, 1974.
2. TROUTMAN, R. C., SWINGER, C. A., KELLY, R. J.: **Keratophakia: A Preliminary Evaluation**. Ophthalmology, 86: 523, 1979.
3. BARRAQUER, J. I.: **Hypermetropic Keratomileusis**. New Orleans Academy of Ophthalmology. Symposium on the Cornea, 1979, (in press).
4. LUYET, B. J., HODAPP, E. L.: **Revival of Frog Spermatozoa Vitrified in Liquid Air**. Proc Soc. Exp. Biol., 39: 433, 1938.
5. POLGE, C., SMITH, A. U., PARKES, A. S.: **Revival of Spermatozoa After Vitrification and Dehydration at Low Temperatures**. Nature (Lond.), 164: 666, 1949.
6. LOVELOCK, J. E.: **Her Mechanism of the Protective Action of Glycerol Against Haemolysis by Freezing and Thawing**. Biochimica Biophysica ACTA, 11: 28, 1953.
7. EASTCOTT, H. H. G., CROSS, A. G., LEIGH, A. G., NORTH, D. P.: **Preservation of Corneal Grafts by Freezing**. Lancet, 1: 237, 1954.
8. LOVELOCK, J. E., BISHOP, M. W. H.: **Prevention of Freezing Damage to Living Cells by Dimethyl Sulphoxide**. Nature (Lond.), 183: 1394, 1959.
9. SMITH, A. U., ASHWOOD-SMITH, M. S., YOUNG, M. R.: **Some in Vitro Studies on Rabbit Corneal Tissue**. Exp. Eye Res., 2: 71, 1963.
10. MUELLER, F. O.: **Techniques for Full Thickness Keratoplasty in Rabbits Using Fresh and Frozen Tissue**. Brit. J. Ophthalmol., 48: 377, 1964.
11. CAPELLA, J. A., KAUFMAN, H. E., ROBBIN, J. E.: **Preservation of Viable Corneal Tissue**. Cryobiology, 2: 116, 1965.
12. ASHWOOD-SMITH, M. J.: **Problems of Cell Survival After Freezing and Thawing with Special Reference to the Cornea**. In **Corneal Graft Failure**. CIBA Foundation Symposium, Amsterdam, Associated Scientific Publishers, 57-77, 1973.
13. SPERLING, S.: **Corneal Cryopreservation Evaluated by Trypan Blue Staining**. Ophthalmol. Res., 6: 23, 1974.
14. VAN HORN, D. L., SCHULTZ, R. O.: **Corneal Preservation: Recent Advances**. Surv. Ophthalmol., 27: 301, 1977.

REFRACTIVE KERATOPLASTY CRYOBIOLOGIC CONSIDERATIONS

15. BOURNE, W. M.: Penetrating Keratoplasty with Fresh and Cryopreserved Corneas. Donor Endothelial Cell Survival in Primates. *Arch. Ophthalmol.* 96: 1073, 1978.
16. BOURNE, W. M., KAUFMAN, H. E.: Cryopreserved Endothelial Cell Survival in Vivo. *Am. J. Ophthalmol.*, 81: 685, 1976.
17. VAN HORN, D. L., SCHULTZ, R. O.: Endothelial Survival in Cryopreserved Human Corneas: A Scanning Electron Microscopic Study. *Inv. Ophthalmol.*, 13: 7, 1974.
18. McTIGUE, J. W., KING, J. H.: Glycerin Preservation for Lamellar Keratoplasty. In Capella J. A., Edelhauser, H. F., and Van Hord, D. L., (eds.): *Corneal Preservation*, Springfield, Ill., Charles C. Thomas, 159-165, 1973.
19. BARRAQUER, J. I.: Keratomileusis. *Int. Surgery*, 48: 103, 1967.
20. MAUMENEE, A. E., KORNBLUETH, W.: Regeneration of the Corneal Stromal Cells. I. Technique for Destruction of Corneal Corpuscles by Application of Solidified (Frozen) Carbon Dioxide. *Am. J. Ophthalmol.*, 31: 699, 1948.
21. HANNA, C., SHERMAN, J. K.: Survival of Rabbit Corneal Cells After the Formation and Dissolution of Intracellular Ice. *Cryobiology*, 8: 46, 1971.
22. VAN, HORN, D. L., HANNA, C., SCHULTZ, R. O.: Corneal Cryopreservation. II. Ultrastructural and Viability Changes. *Arch. Ophthalmol.*, 84: 655, 1970.
23. VAN, HORN, D. L., EDELHAUSER, H. F., DEBRUIN, J.: Functional and Ultrastructural Changes in Cryopreserved Corneas. *Arch. Ophthalmol.*, 90: 312, 1973.
24. POLACK, F. M., McENTYRE, J. M.: Incorporation of Sodium Sulfate S<sup>35</sup> by Cryopreserved Corneal Grafts in Vivo. *Arch. Ophthalmol.*, 81: 577, 1969.
25. GALLUN, A. B., EDELHAUSER, H. F., SCHULTZ, R. O.: Experimental Surgical Evaluation of Frozen Corneal Tissue. *Ann. Ophthalmol.*, 3: 748, 1971.
26. CLIFTON, E. C., HANNA, C.: Corneal Cryopreservation and the Fate of Corneal Cells in Penetrating Keratoplasty. *Am. J. Ophthalmol.*, 78: 239, 1974.
27. GOENNERING, R., EDELHAUSER, H. F., VAN HORN, D. L., DURANT, W.: The pH Tolerance of Rabbit and Human Corneal Endothelium. *Inv. Ophthalmol.*, 18: 373, 1979.
28. FROMER, C. H., KLINTWORTH, G. K.: An Evaluation of the Role of Leukocytes in the Pathogenesis of Experimentally Induced Corneal Vascularization. *Am. J. Path.*, 79: 537, 1975.
29. BOURNE, W. M.: Antigenicity of Cryopreserved Corneas. *Arch. Ophthalmol.*, 93: 215, 1975.
30. TOWNSEND, W., POLACK, F. M., SLAPPEY, T. E.: Antigenicity of Fresh and Cryopreserved Xenografts. In Capella, J. A., EDELHAUSER, H. F., and Van Horn, D. L. (eds.): *Corneal Preservation*, Springfield, Ill. Charles C. Thomas, 294-299, 1973.
31. EDELHAUSER, H. F., GALLUN, A. B., VAN HORN, D. L., SCHULTZ, R. O.: Uptake and Removal of Dimethyl Sulfoxide in Rabbit and Human Corneas During Cryopreservation. *Cryobiology*, 8: 104, 1970.