



## ARTÍCULO DE REVISIÓN

### Uso de la microscopía confocal in vivo en el diagnóstico de distrofias corneales

**Recibido:** 22 de septiembre de 2016  
**Aprobado:** 14 de diciembre de 2016

### Use of in vivo confocal microscopy for the diagnosis of corneal dystrophies

### RESUMEN

**Osmayadan Cabrera Ventura,<sup>1</sup>Rodolfo Martínez Rodríguez,<sup>2</sup>Ángel Correa Fernández,<sup>3</sup>Alexei Díaz Perez<sup>4</sup>**

La córnea es el tejido del ojo que brinda la mayor parte del poder refractivo. Cualquier enfermedad que altere sus características morfológicas afecta la visión. Por ello el temprano y acertado diagnóstico de las distrofias corneales garantiza que los pacientes sean atendidos a tiempo mejorando su salud y calidad de vida. La microscopía confocal se ha convertido en la tecnología por excelencia para el estudio detallado de la córnea de manera no invasiva.

<sup>1</sup>Ingeniero en Informática. Profesor Asistente. Centro Provincial de Electromedicina, Pinar del Río. Cuba. [osmay@infomed.sld.cu](mailto:osmay@infomed.sld.cu)

**DeSC:** MICROSCOPIA CONFOCAL, CÓRNEA, distrofias

<sup>2</sup>Especialista en Oftalmología, Especialista en Medicina General Integral, Master en Longevidad Satisfactoria. Hospital General Docente "Abel Santamaría Cuadrado". Pinar del Río. Cuba. [rodolfo08@princesa.pri.sld.cu](mailto:rodolfo08@princesa.pri.sld.cu)

### ABSTRACT

<sup>3</sup>Ingeniero en Telecomunicaciones y Electrónica, Master en Sistemas de Telecomunicaciones, Universidad "Hermanos Saíz Montes de Oca", Departamento de Telecomunicaciones. Pinar del Río. Cuba. [angel@upr.edu.cu](mailto:angel@upr.edu.cu)

The cornea is the tissue of the eye that provides most of the refractive power. Any disease that alters its morphological characteristics affects vision. This is why the early and successful diagnosis of corneal dystrophies guarantees that patients are treated on time to improve their health and quality of life. Confocal microscopy has become the technology per

<sup>4</sup>Licenciado en Física Nuclear. Universidad "Hermanos Saíz Montes de Oca", Departamento de Física. Pinar del Río. Cuba. [alexo@upr.edu.cu](mailto:alexo@upr.edu.cu)

excellence for the detailed study of the cornea in a non-invasive way.

**DeCS:** Confocal microscopy, cornea, dystrophies

## INTRODUCCIÓN

Gracias a los adelantos científico-tecnológicos se han creado nuevos instrumentos para el estudio de la córnea como el topógrafo corneal computarizado, el queratómetro, la lámpara de hendidura, el paquímetro, entre otros. Con ellos es posible conocer la curvatura corneal o visualizar de manera macroscópica las partes examinadas. Sin embargo, para conocer la estructura microscópica de los tejidos de la superficie del ojo solo se podía hacer tomando una muestra para estudiarla fuera del organismo. Esto tiene el inconveniente que la información obtenida no es completamente fiable debido a la descomposición gradual del tejido además de ser un procedimiento invasivo. Esta realidad cambió con el desarrollo de los microscopios confocales, disponibles para uso clínico desde el año 1995. Estos permiten obtener imágenes seriadas de manera no invasiva en organismos vivos, ubicadas a diferentes profundidades del espesor de una pieza de tejido, sin la necesidad de realizar procedimientos de seccionado y procesamiento de la muestra. Estas imágenes se almacenan en formato digital posibilitando realizar un procesamiento posterior que arroje información relevante del tejido estudiado.<sup>1</sup>

La mayoría de los aportes más significativos sobre el uso la microscopía confocal en seres humanos (específicamente el estudio de la córnea) se realizaron en el último decenio del siglo XX y el primero del siglo XXI. De ahí que sea el período con mayor cantidad de publicaciones científicas al respecto.

El microscopio confocal emplea una técnica óptica de imagen utilizando una apertura (pinhole) espacial para eliminar la luz desenfocada o destellos de la lente en

muestras que son más gruesas que el plano focal.<sup>2</sup>

El pinhole se localiza delante del fotomultiplicador para evitar el paso de luz de las regiones de la muestra que no están en foco. La luz que proviene de regiones localizadas por encima o por debajo del plano focal no converge en el pinhole y no es detectada por el fotomultiplicador. Esta técnica ha ido adquiriendo cada vez mayor popularidad entre las comunidades científica e industrial. Se aplica típicamente en las ciencias biológicas y en la inspección de semiconductores.

El concepto de imagen confocal fue patentado por Marvin Minsky en 1957.<sup>3</sup> En un microscopio de fluorescencia convencional, la muestra entera está sobresaturada de luz a partir de la fuente de iluminación. Debido a la conservación de la intensidad de la luz en su recorrido, todas las partes de la muestra a lo largo de su ruta óptica serán excitadas y la fluorescencia detectada por un fotodetector o una cámara. Por el contrario, un microscopio confocal utiliza iluminación puntual y un pinhole en un plano óptico conjugado en frente del detector para eliminar la información que está fuera del plano focal<sup>4</sup>. Sólo la luz que está dentro de este plano puede ser detectada, de modo que la calidad de imagen es mucho mejor que las de campo amplio.<sup>5</sup>

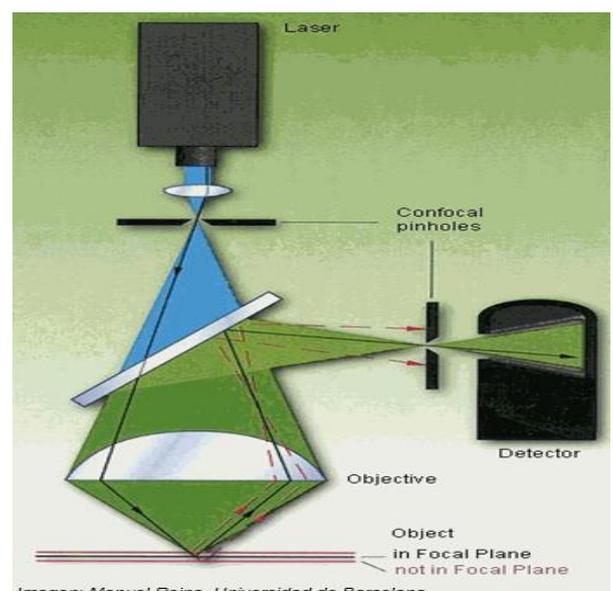


Figura Principio de funcionamiento físico de un microscopio confocal

Un microscopio confocal es básicamente un microscopio óptico que incluye una fuente de luz láser y un sistema electrónico que ayuda a la captación de imágenes. Gracias a ello se consigue, por un lado, un aumento en la resolución y por otro, la obtención de imágenes de secciones ópticas extremadamente finas, eliminando así la interferencia que produce la luz que llega de los diferentes campos ópticos de todo el grosor de la muestra de estudio, consiguiendo así que el enfoque se realice sobre un único plano (confocal). Las imágenes obtenidas son imágenes digitales.<sup>6</sup>

El tipo de muestra que se puede analizar con un microscopio confocal es muy variado. Los más usuales son cortes de tejidos animales y vegetales, células en cultivo y superficie de metales. En cambio, en el campo de la oftalmología la exploración se realiza directamente sobre el ojo del paciente,<sup>7</sup> existiendo un contacto mínimo con la córnea.

### **Componentes de un microscopio confocal**

Los principales componentes de un microscopio confocal son:<sup>8</sup>

1) Láser, como fuente luminosa temporal, que focaliza el haz de luz en un solo punto de la muestra, de modo que barre la muestra plano a plano, creando multitud de imágenes bidimensionales que un ordenador interpreta, generando finalmente una imagen tridimensional del objeto a estudio.

2) Diafragmas que limitan la accesibilidad del haz. Se encuentran situados antes y después de la lente, permitiendo enfocar la iluminación en un único punto.

• Un diafragma de iluminación localizado tras la fuente luminosa denominado "pinhole de excitación", cuya utilidad es eliminar la luz proveniente de planos superiores e inferiores al plano focal,

aumentando con ello la claridad y resolución de la imagen.

• Un diafragma de detección, de tamaño variable situado entre la lente y el fotodetector, denominado "pinhole de emisión".

3) Software que permite mejorar la calidad de la imagen por disminución de la sensibilidad de los foto detectores a intensidades bajas de fluorescencia, con lo que se reduce el ruido de fondo.

Algunos factores, como la apertura variable del pinhole, la precisión, número y velocidad del barrido pueden influir en la obtención de una buena imagen.<sup>9</sup>

### **Tipos de microscopios confocales**

Actualmente existen dos tipos de microscopios confocales disponibles en el mercado con un único punto de iluminación que requieren un sistema de barrido del ojo:<sup>10,11</sup>

• Slit Scanning Confocal Microscope (SSCM). Se emplea un haz de láser fijo y la preparación se rastrea mediante la utilización de una platina motorizada en el microscopio.

• Laser Scanning Confocal Microscope (LSCM). En este caso el barrido se realiza moviendo el haz de láser, gracias a unos espejos galvanométricos que permiten modificar el punto de incidencia del haz de láser en el ojo.

Los SSCM disponibles comercialmente son:

- ConfoScan 4 (Nidek Technologies, Gamagori, Japón).
- ConfoScan P4 (Tomey Corporation, Cambridge, MA, USA).
- Microphthal (Helmut Hund, Wetzlar, Alemania).

Solo hay un LSCM, el Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Corneal Module (RCM) (Heidelberg Engineering, GmbH, Alemania).

Además, existen otros sistemas de multi-haz, que incluyen: Disc Scanning Confocal Microscope (DSCM) y el Tandem Scanning Confocal Microscope (TSCM). En estos casos el pinhole de detección es sustituido por un disco giratorio con cientos de aperturas agrupadas en pares (disco de nipkow), lo que permite barrer la muestra con múltiples puntos de luz simultáneamente.

La precisión en la medida del espesor de la córnea está limitada por su movimiento durante la exploración. El contacto entre la córnea y las lentes del objetivo del Tandem Scanning estabiliza la córnea para que las diferencias en medidas consecutivas sean inferiores a 25  $\mu\text{m}$ , aunque se han observado variaciones mayores<sup>12,13</sup>. Otros microscopios, como el ConfoScan (z-CS4), han introducido sistemas para reducir el movimiento entre la córnea y el objetivo.

### Córnea

La córnea es el tejido del ojo que permite el paso de la luz desde el exterior al interior del ojo. Protege el iris y el cristalino y carece de vascularización, ya que su irrigación se deriva principalmente de los vasos conjuntivales, epiesclerales y esclerales que se arborizan alrededor del limbo esclerocorneal.<sup>14</sup> Tiene un poder refractivo de aproximadamente 43 dioptrías, representando las dos terceras partes de la potencia total del ojo<sup>15</sup>. Está compuesta por 6 capas, desde el epitelio que es la más externa y está en contacto con el aire hasta el endotelio que es la capa más interna.<sup>16</sup> En la siguiente figura se muestran las capas de la córnea.

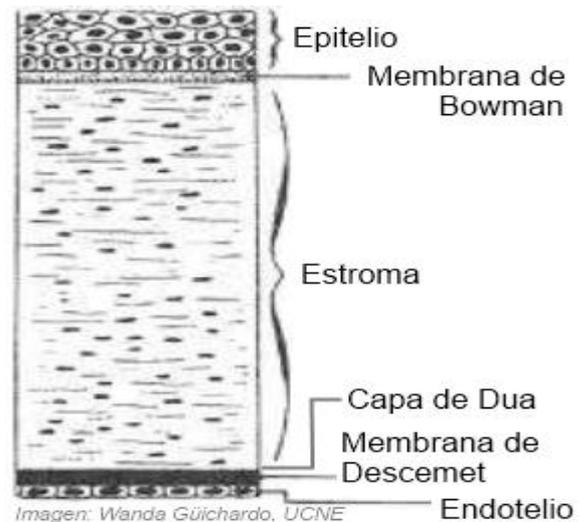


Figura Capas de la córnea humana

1. Epitelio. Representa un 10% de la estructura total de la córnea y se considera una continuación del epitelio de la conjuntiva. Es el epitelio escamoso estratificado más organizado.
2. Membrana de Bowman (también llamada membrana basal anterior, aunque en realidad no es una membrana como tal, sino una capa condensada de colágeno). Es una capa resistente que protege el estroma corneal. Está conformada principalmente por fibras de colágeno de tipo I organizadas de forma irregular.
3. Estroma. El estroma es el estrato más fuerte de la córnea y representa el 90% de su volumen. Está constituido por un 80% de agua y 20% de sólidos. Contiene fibras de colágeno que guardan la misma distancia entre sí y es lo que le da la transparencia a la córnea. También contiene queratocitos que sirven para regenerar las fibras de colágeno y proteoglucanos que mantienen distribuidas las fibras de colágeno.
4. Capa de Dua. corresponde a una capa consistente y bien definida que separa la última fila de queratocitos en la córnea.<sup>17</sup>
5. Membrana de Descemet (membrana basal posterior): es una capa que carece de células y sirve como una membrana basal modificada del endotelio corneal. Está formado principalmente por fibras de colágeno IV y tiene un espesor de 5 a 20  $\mu\text{m}$ , dependiendo de la edad. Esta

capa va ganando aproximadamente una micra de espesor cada 10 años.

6. Endotelio: es un epitelio simple de células cúbicas ricas en mitocondrias de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  de espesor. Estas células son responsables del transporte de fluidos y solutos entre los compartimentos acuoso y estromal.

La función de la córnea puede ser dividida en dos tipos:<sup>18</sup>

- Actúa como escudo protector del ojo, protegiéndolo del polvo, de los gérmenes y de otros factores de riesgo. La córnea comparte esta función protectora con el párpado, la órbita ocular, las lágrimas y la esclerótica (la parte blanca del ojo).
- Controla el enfoque y la entrada de luz al ojo. De hecho, es la primera de las lentes que forman el sistema óptico y es la responsable de las dos terceras partes de la potencia refractiva (de enfoque) del ojo. La córnea realiza esta función de forma estática, reforzando la actividad del cristalino que enfoca de manera dinámica adaptándose para la visión cercana y la visión lejana.

Las diversas enfermedades de la córnea pueden alterar sus características y provocar una visión defectuosa. Entre ellas se encuentran<sup>18</sup>:

- Problemas de la superficie corneal: alergias, úlceras, erosiones corneales, queratitis, etcétera.
- Alteraciones de la estructura corneal, como el queratocono.
- Patologías infecciosas.
- Distrofias corneales.
- Opacidad corneal.

Además, en ocasiones, los defectos refractivos (miopía, hipermetropía y astigmatismo) también tienen su origen en la córnea.

La córnea es altamente inervada y la mayor parte proviene de la rama oftálmica del trigémino. Los nervios corneales forman los plexos nerviosos corneales que son:<sup>14</sup>

- Plexo nervioso estromal: más profundo, nervios desmielinizados lo que los hace invisibles y no interfieren en la

transmisión de la luz a través de la córnea. Al ser desmielinizados los impulsos viajan más despacio.

- Plexo nervioso epitelial: Está situado por debajo del epitelio, tiene una gran densidad que es 3-4 veces superior a los demás tejidos del cuerpo. La mayor densidad está en el centro, se van haciendo más densos de afuera al centro por lo tanto es la parte más sensible.
- 

### **La microscopia confocal para el estudio de la córnea**

Aunque existe un abanico de posibilidades tecnológicas para el estudio de la córnea el uso de la microscopía confocal ofrece ventajas sobre las demás opciones. La misma es un método de exploración no invasivo, que requiere un mínimo contacto entre la córnea y las lentes del objetivo<sup>19</sup>. Es posible obtener imágenes de todas las capas corneales, incluso en aquellas corneas con disminución de la transparencia. Se puede observar y analizar el espesor de la córnea para valorar los cambios dinámicos y estructurales, de importancia en el diagnóstico, la evaluación de diferentes patologías. Es posible determinar el estado funcional del endotelio y así valorar el riesgo de descompensación con anterioridad a la realización de una intervención de cataratas, establecer la situación del injerto corneal o guiar el tratamiento de un caso de edema herpético disciforme. También se puede medir la densidad endotelial, diagnosticar infecciones corneales, entre otras aplicaciones.<sup>20</sup>

### **Tecnologías alternativas para el estudio de la córnea.**

Para la evaluación corneal existen numerosos instrumentos que difieren entre sí en la técnica que emplean<sup>21</sup>:

- Paquimetría (ópticos o por ultrasonidos). Determina el espesor corneal, el cual es un indicador de la fisiología endotelial. La paquimetría por ultrasonidos es el método de elección en la actualidad para medir el grosor de la córnea.<sup>22</sup>
- Biomicroscopía con lámpara de hendidura. Evalúa de un modo

semicuantitativo el espesor corneal, la profundidad de la cámara anterior, detalles de alteraciones en las diversas capas de la córnea, estado de la película lagrimal, etc.

- Microscopía especular. Permite la visualización del mosaico endotelial corneal, así como el recuento endotelial por área de superficie y determinar si existe algún cambio en la forma o tamaño de las células endoteliales.

Para el estudio de la córnea también pueden emplearse:

- Instrumentos de simple magnificación, como lupas o lentes condensantes (como en el oftalmoscopio indirecto) y linternas de mano.
- Queratometría. Determina la curvatura corneal promedio de una zona a 3 mm de la córnea central. Generalmente se obtienen dos cantidades, que son las correspondientes al meridiano horizontal y vertical de la córnea evaluada. Los resultados se expresan en milímetros de radio de curvatura o en dioptrías.
- Topografía corneal computarizada. Evalúa la superficie corneal completa de manera computarizada, obteniéndose mapas a color de las diferentes zonas de la córnea con su respectiva curvatura. Es útil para descartar enfermedades que alteran la forma corneal (queratocono, degeneración marginal de Terrien, etc.), en la determinación de los diversos tipos de astigmatismo, en el estudio pre y post-quirúrgico de la cirugía de miopía y/o astigmatismo y en la evolución post-quirúrgica de pacientes sometidos a cirugía de cataratas y trasplante de córnea.

### **Distrofias corneales diagnosticadas con microscopía confocal**

Las distrofias corneales han sido clasificadas por el Comité Internacional para la Clasificación de las Distrofias Corneales (IC3D) a raíz del World Congress en abril de 2005. Este panel internacional integrado por expertos mundiales surgió por la necesidad de una nomenclatura adecuada, clasificando estas distrofias de acuerdo a la capa de la córnea donde se observaban.<sup>23</sup>

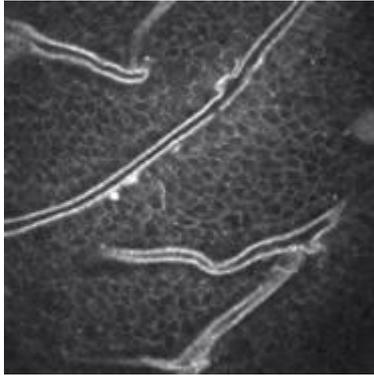
El uso clínico de la microscopía confocal es relativamente reciente y está aún por generalizarse, aunque se ha utilizado con frecuencia a la hora de tomar decisiones sobre la cirugía de cataratas, en pacientes con distrofias corneales o para analizar la viabilidad de las córneas donantes para la queratoplastia. En resumen, su uso potencial podría extenderse a la evaluación general de la córnea.<sup>24</sup>

El término "distrofia corneal" ha sido utilizado por lo general para referirse a un grupo de enfermedades hereditarias que suelen ser bilaterales, simétricas, que progresan lentamente y sin relación con factores ambientales o sistémicos.<sup>25,26</sup> Tanto la definición como la clasificación de las distrofias corneales se han establecido debido a hallazgos clínicos y patrones de herencia que a veces son difíciles de confirmar. Hoy en día, tenemos una multitud de herramientas a nuestra disposición para investigar la etiología de la enfermedad. Los estudios histopatológicos han mejorado, y el análisis genético actual nos permite mapear el locus cromosómico, e incluso identificar el gen específico y mutación asociados a cada trastorno.<sup>14</sup>

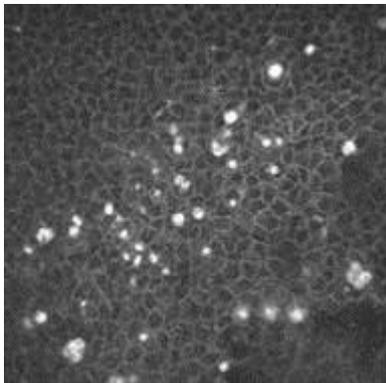
A continuación, se relacionan un conjunto de distrofias corneales que se han detectado utilizando la microscopía confocal.<sup>23</sup> De cada una se describe como se observan en imágenes obtenidas con esta tecnología.

Distrofias de la capa del epitelio y subepiteliales

- Distrofia de la membrana basal (EBMD): Membrana basal intraepitelial que aparece separada de las células epiteliales basales normales. Configuración en forma de gotas en el epitelio. Estructura anular en el epitelio basal. Se puede observar la reduplicación de la membrana basal.



- Distrofia Corneal de Meesmann (MECD): Áreas hiporreflectivas en el epitelio basal de 40 a 150 micras de diámetro con puntos potencialmente reflectantes.



- Distrofia Epitelial Corneal de Lisch (LECD): Muchas lesiones solitarias oscuras y bien delimitadas de 50-100 micras, redondeadas u ovaladas. Algunas lesiones muestran puntos centrales reflectantes que probablemente sean núcleos celulares.

#### Distrofias de la capa de Bowman

- Distrofia Corneal de Reis-Bücklers (RBCD): Depósitos bien diferenciados en la membrana de Bowman y en el epitelio. Los depósitos de la capa basal epitelial muestran una reflectividad extremadamente alta por el material granular pequeño, sin sombras. La capa de Bowman se ve sustituida por un material irregular muy reflectante, aún más que en TBCD. Pueden aparecer depósitos difusos finos en el estroma anterior.
- Distrofia Corneal de Thiel-Behnke (TBCD): Depósitos bien diferenciados en el epitelio y en la membrana de

Bowman. Los depósitos de la capa basal epitelial muestran una reflectividad homogénea con bordes redondeados y sombras oscuras. La capa de Bowman se sustituye por un material irregular reflectivo, pero menos que en RBCD.

#### Distrofias en el estroma

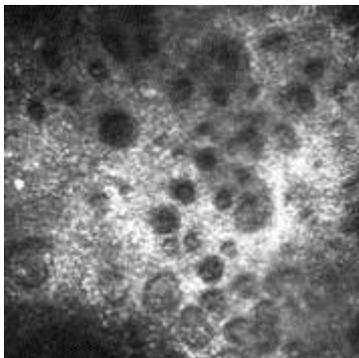
- Distrofia Corneal Lattice Clásica (LCD1) y Variantes: Estructuras estromales lineales y ramificadas con cambios de reflectividad y márgenes mal delimitados. Se deben diferenciar estas líneas de otras imágenes similares como los hongos. Material hiperreflectantes anormal con reflectividad homogénea, bordes redondeados y sombras oscuras en el epitelio basal.
- Distrofia Corneal Lattice, Tipo Gelsolin (LCD2): Aparecen depósitos prominentes, probablemente de amiloide contiguas a las células basales epiteliales y los nervios del estroma. En las córneas muy afectadas los nervios subbasales y estromales están reducidos o ausentes. El estroma anterior muestra fibrosis y anomalías en la matriz extracelular. Son visibles filamentos gruesos anteriores y en el espesor del estroma y estructuras onduladas finas que se corresponden con las líneas de Lattice.
- Distrofia corneal granular, Tipo 1(Clásica) (GCD1): Opacidades hiperreflectivas.
- Distrofia Corneal Granular, Tipo 2(Granular-Lattice) (GCD2). Los hallazgos son una combinación de los de GCD1 y LCD: Depósitos reflectantes redondeados, en forma de migas de pan con bordes bien definidos o depósitos hiperreflectantes de forma trapezoidal irregular en el estroma anterior, y ramificados de reflectividad variable (similares a LCD).
- Distrofia Corneal Macular (MCD). Áreas hiperreflectantes anormales en el estroma. Se pueden observar algunas estrías oscuras.
- Distrofia corneal de Schnyder (SCD). Depósitos intra y extracelulares hiperreflectantes que pueden llevar a la

rotura del plexo nervioso subepitelial del epitelio basal. En el estroma anterior se muestran depósitos en forma de aguja de material hiperreflectante homogéneo.

- Distrofia Corneal Estromal Congénita (CSCD). Las células epiteliales tienen aspecto normal. La alta reflectividad del estroma anterior dificulta el estudio.
- Distrofia Corneal Moteada (FCD). En forma de acúmulos de material patológico en las células estromales e inclusiones en los nervios basales
- Distrofia Corneal Posterior Amorfa (PACD). Aparecen micropliegues y una capa hiperreflectante en el estroma posterior.
- Distrofia Central Nubosa de Francois (CCDF). Múltiples estrías oscuras en la matriz extracelular con aumento de la densidad en el estroma posterior, adyacente al endotelio.
- Distrofia Corneal Pre-Descemet (PDCD). Puntos hiperreflectantes por delante de la membrana de Descemet.

#### Distrofias de La Membrana de Descemet y Endotelio

- Distrofia Corneal Endotelial de Fuchs (FECD). Polimegetismo y pleomorfismo endotelial. Las guttae en las formas de distrofia corneal endotelial de Fuchs de inicio precoz son más pequeñas que en las formas de inicio en el adulto.



- Distrofia Corneal Posterior Polimorfa (PPCD). Lesiones vesiculosas: áreas oscuras, redondeadas con algún detalle celular en el centro y aspecto de Donut.

Nidos de células en multicapas. Lesión "en vías de ferrocarril": área oscura con aspecto de banda y bordes irregulares delimitando células más pequeñas y claras de aspecto epitelioide. Polimegetismo endotelial.

---

## CONCLUSIONES

La microscopía confocal es una tecnología novedosa que permite estudiar la córnea humana a nivel celular y de manera no invasiva y las imágenes obtenidas con un microscopio confocal son bastante nítidas debido a que solo se captura la luz del plano de la muestra que está enfocado (de ahí el término confocal).

Es posible diagnosticar las distrofias corneales analizando las imágenes de la capa donde se pueden manifestar.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González-Sotero J. Características morfológicas in vivo del queratocono: su evolución y asociación con la gravedad clínica. Cuba: 2014. Tesis de doctorado. Disponible en: <http://tesis.repo.sld.cu/869/>
2. Nistal, A.M. Microscopía Láser Confocal. Universidad de Oviedo. [citado 2016 Nov 30]. Disponible en: <http://www.vet.unicen.edu.ar/ActividadesCurriculares/Microbiologia/images/Documentos/Microscopia%20de%20laser%20confocal%20PDF.pdf>
3. Espacenet.com. Patent search. Patente Nº 3013467. [Internet]. [citado 2016 Ago 16]; Disponible en: [https://worldwide.espacenet.com/searchResults?ST=singleline&locale=en\\_EP&submitted=true&DB=&query=US3013467&Submit=Search](https://worldwide.espacenet.com/searchResults?ST=singleline&locale=en_EP&submitted=true&DB=&query=US3013467&Submit=Search)

4. Cañadas\_Suárez P. Estudio con microscopía confocal del efecto sobre la densidad queratocitaria de la realización de "lasik" (laser in situ keratomileusis) con microqueratomo mecánico y con láser de femtosegundo. Madrid: 2014. Tesis de doctorado.
5. Sheppard C, Rehman S. Confocal microscopy. En Biomedical Optical Imaging Technologies. Springer Berlin Heidelberg, 2013. p. 213-231.
6. Campisi P, Egiazarian K. Blind image deconvolution: theory and applications. CRC press, 2016.
7. Rojas Alvarez Eduardo, González Sotero Janet. Láser eximer y microscopia confocal: plataformas tecnológicas de la visión del futuro. MEDISAN [Internet]. 2013 Feb [citado 2016 Nov 30]; 17(2): 344-3563. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30192013000200015&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192013000200015&lng=es)
8. Herrera-Perrera M, Daza-Figueroa J, Moreno-Years A. Análisis óptico y digital de la interfase objetivo-portamuestra utilizando imágenes obtenidas con microscopio confocal. Ingeniería Electrónica, Automática y Comunicaciones, 2013, vol. 34, no 3, p. 1-12.
9. Tomer R, et al. Advanced CLARITY for rapid and high-resolution imaging of intact tissues. Nature protocols, 2014, vol. 9, no 7, p. 1682-1697.
10. Papanas N, Ziegler D. Corneal confocal microscopy: a new technique for early detection of diabetic neuropathy. Current diabetes reports, 2013, vol. 13, no 4, p. 488-499.
11. You JY; Bothelo PJ. Corneal In Vivo Confocal Microscopy: Clinical Applications. Rhode Island Medical Journal, 2016, vol. 99, no 6.
12. Jabbour JM, et al. Confocal endomicroscopy: instrumentation and medical applications. Annals of biomedical engineering, 2012, vol. 40, no 2, p. 378-397.
13. Lavado Landeo L. Córnea. En: Salaverry García O, editor. Cirugía IV: Oftalmología. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. p. 53-71.
14. Boyd S. Distrofias y degeneraciones corneales. Panamá: Jaypee - Highlights Medical Publishers, Inc; 2012. Disponible en: <http://www.elibraryweb.net/eBooks/Distrofias%20y%20Degeneraciones%20Corneales.pdf>
15. Villa C, Santodomingo J. La córnea. Estructura, función y anatomía microscópica. Gaceta óptica. España, ISSN 0210-5284, Nº. 454, 2010, págs. 14-18. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3368053>.
16. Traipe, L. Fisiología ocular. Fundación Oftalmológica Los Andes, Chile. [citado 2016 Nov 30] Disponible en: <http://www.oftalandes.cl/clases/FisiologiaOcular - Dr. Traipe.pdf>
17. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human Corneal Anatomy Redefined: A Novel Pre-Descemet's Layer (Dua's Layer). Ophthalmology. 2013. Disponible en: [http://www.aajournal.org/article/S0161-6420\(13\)00020-1/abstract](http://www.aajournal.org/article/S0161-6420(13)00020-1/abstract)
18. Clinicabaviera.com [Internet]. España. Citado el 11 de julio de 2016. Disponible en: <http://www.clinicabaviera.com/cornea-queratocono>
19. Kymionis GD, Kankariya VP, Plaka AD, Reinstein DZ. Femtosecond laser technology in corneal refractive surgery: a review. J Refract Surg 2012 Dec;28(12):912-920.
20. Rojas Álvarez Eduardo. Microscopia confocal en cirugía refractiva corneal: ¿útil o imprescindible?. Rev Cubana Oftalmol [Internet]. 2013 Ago [citado 2016 Nov 30]; 26(2): 323-329. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21762013000200014&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21762013000200014&lng=es)

21. Al-Farhan, Al-Otaibi WM. Comparison of central corneal thickness measurements using ultrasound pachymetry, ultrasound biomicroscopy, and the Artemis-2 VHF scanner in normal eyes. Clin Ophthalmol, 2012, vol. 6, p. 1037-1043.

22. Tai LY, et al. Central corneal thickness measurements with different imaging devices and ultrasound pachymetry. Cornea, 2013, vol. 32, no 6, p. 766-771.

23. Weiss JS, Ulrik-Møller H, Aldave AJ, Seitz B, Bredrup C, Kivelä T et al. IC3D Classification of Corneal Dystrophies. Edition 2. Cornea. 2015;34(2):117-59.

24. Gómez Castillo Zulema, Fernández García Keyly, Pérez Tejeda Alain, Márquez Villalón Susana, Jareño Ochoa Madelyn, Cuevas Ruiz Judith. Microscopia confocal en córneas de cien ojos sanos. Rev Cubana Oftalmol [Internet]. 2012 Jun [citado 2016 Nov 30] ; 25( 1 ): 32-38. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arctext&pid=S0864-21762012000100005&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arctext&pid=S0864-21762012000100005&lng=es)

25. Vincent AL. Corneal dystrophies and genetics in the International Committee for Classification of Corneal Dystrophies era: a review. Clinical & experimental ophthalmology, 2014, vol. 42, no 1, p. 4-12.

26. Germundsson J. Surgical outcomes of phototherapeutic keratectomy on Epithelial basement membrane dystrophy, and the characterisation of Bowman's Layer. Linköping, Suecia: LiU-Tryck; 2014.



**Osmaiyadan Cabrera Ventura:**  
Ingeniero en Informática. Profesor Asistente. Centro Provincial de Electromedicina, Pinar del Río. Cuba. ***Si usted desea contactar con el autor de la investigación hágalo [aquí](#)***