

Microscopia confocal en córneas de cien ojos sanos

Confocal microscopy results of one hundred healthy eye corneas

Dra. Zulema Gómez Castillo, Dra. Keyly Fernández García, Dr. Alain Pérez Tejada, Dra. Susana Márquez Villalón, Dra. Madelyn Jareño Ochoa, Dra. Judith Cuevas Ruiz

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

RESUMEN

Objetivo: Analizar las estructuras celulares por microscopia confocal, Confoscan 4, en córneas sanas en nuestro medio.

Métodos: Se realizó un estudio prospectivo longitudinal a 100 ojos sanos de médicos que trabajan en nuestra institución, y pacientes que asistieron al servicio de córnea. Esta investigación fue desde mayo de 2007 a mayo 2008, en el Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer", La Habana. En los médicos se examinaron ambos ojos y en los pacientes el ojo no afectado. Se recopilaron un total de 50 casos sin afección corneal.

Resultados: De los 100 ojos estudiados, 64 tenían paquimetrías por encima del valor medio. Estuvieron presentes los tres tipos de células epiteliales en casi la totalidad de los pacientes; así como los queratocitos en las diferentes profundidades del estroma corneal. La mayoría de los ojos tenían un conteo celular endotelial por encima de 2 500, cifra comprendida dentro de los valores normales. Se encontraron fibras nerviosas en cada una de sus capas.

Conclusiones: La microscopia confocal se presenta como una nueva herramienta que permite observar en vivo la histología corneal y complementar las observaciones de la biomicroscopia convencional. Esto constituye un reto para el mejor entendimiento de la histopatología corneal. De esta manera podemos actuar de forma profiláctica y terapéutica, en el seguimiento y evolución de patologías corneales.

Palabras clave: Microscopia confocal, ojo sano, examen ocular, oftalmología, medios diagnósticos.

ABSTRACT

Objective: This paper is aimed at analyzing the corneal cellular structures through Confoscan S4-aided confocal microscopy in apparently healthy corneas.

Methods: A prospective longitudinal study of 100 healthy eyes from practicing doctors, and from patients who had attended the corneal service at "Ramón Pando

Ferrer" Cuban Institute of Ophthalmology in Havana since May 2007 was conducted. Both eyes of participating doctors were examined whereas the non-affected eye was examined in the patients. A total of 50 cases with no corneal disease notified from May 2007 to May 2008 were considered.

Results: The 100 studied eyes came from apparently healthy patients, and the pachymetry values of 64 of them were above the average. Since they were healthy corneas, the 3 types of epithelial cells as well as the keratocytes were present in almost all the patients and at different depths of the corneal stroma, respectively. Most of the studied eyes had endothelial cell counts above 2 500, a figure within the normal range, and there were nerve fibers in each of their layers.

Conclusion: Confocal microscope is a new tool that allows in vivo observation of corneal histology and thus supplements conventional biomicroscopy observations. It contributes to better understanding of corneal pathology, with a view to prophylactically and therapeutically acting upon corneal pathologies during their follow-up and evolution.

Key words: Confocal microscopy, healthy eye, eye exam, ophthalmology, diagnostics.

INTRODUCCIÓN

Las características microscópicas de las estructuras celulares de la córnea en vivo, con alta resolución y nitidez, se pueden observar utilizando la microscopía óptica confocal. Esta técnica es de uso reciente y mucho más ventajosa que la microscopía óptica convencional porque no solo ofrece la capacidad de obtener cortes ópticos seriados de forma no invasiva en organismos vivos; sino que permite obtener imágenes de diferentes profundidades dentro del espesor de una pieza de tejido. Es por esto que la microscopía confocal es única como técnica para la valoración de tejidos intactos en organismos vivos.¹⁻⁴

La microscopía confocal permite estudiar el epitelio corneal, el estroma y sus procesos cicatriciales, el endotelio y la inervación. Mediante el análisis de enfoque completo de la córnea, se determina con gran precisión el espesor de la córnea y sus diferentes subcapas. También se observan cada uno de los cambios histológicos que se producen, en la misma, de forma favorable o no.^{4,5}

Esta investigación tuvo la finalidad de analizar las estructuras celulares corneales mediante microscopía confocal (Confoscan 4), en córneas sanas en nuestro medio.

MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo longitudinal en 100 ojos sanos, de pacientes que asistieron a la consulta de córnea, y en médicos que trabajan en el Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer", de mayo de 2007 a mayo de 2008. A todos los pacientes se les realizó microscopía confocal con el Confoscan 4. Se realizó escaneo de todo el espesor de la córnea a intervalos de dos micras.

Los criterios de inclusión fueron: antecedentes de salud ocular en el ojo estudiado y pacientes que dieron su consentimiento a participar en el estudio. Los criterios de exclusión fueron: pacientes que al examinarlos con biomicroscopia presentaron alguna alteración ocular. A todos los pacientes se les pidió que firmaran un modelo de consentimiento informado sobre las características del estudio como constancia.

Se estudiaron las variables: espesor corneal, características del epitelio corneal, estroma, endotelio corneal y visualización de los plexos nerviosos corneales. La recolección de los datos se realizó a través de la base de datos del Confoscan 4. A las variables se les calculó medidas de resumen y los resultados fueron expuestos en tablas.

RESULTADOS

El conocimiento del grosor corneal de los pacientes es importante. El examen con el microscopio confocal es un medio confiable para la evaluación de este. De los 100 ojos estudiados, 64 ojos tenían paquimetrías entre 500 y 530 micras, 15 paquimetrías más de 530 micras y solo 21 ojos tenían paquimetrías por debajo de 500 micras (tabla 1).

Tabla 1. Distribución de ojos según comportamiento del espesor corneal

Espesor corneal	No. (ojos)
< 500 micras	21
500 – 530 micras	64
> 530 micras	15
Total	100

La tabla 2 refleja la presencia de los tres tipos celulares en la primera capa de la córnea, el epitelio corneal, en 97 ojos. Solo en 3 ojos no se pudieron diferenciar, sin que constituya rasgo de patología alguna. Además, no eran visibles ni la membrana de Bowman, ni la membrana basal del epitelio en 99 ojos, por tratarse de corneas normales.

Tabla 2. Distribución de ojos según características del epitelio corneal

Epitelio	Si	No	Total
Presencia de los tres tipos de células epiteliales	97	3	100
Visualización de la membrana basal	1	99	100
Visualización de la membrana Bowman	1	99	100

La estructura del estroma y la morfología de los queratocitos, en estos pacientes con antecedentes de salud ocular, correspondió casi en la totalidad de los casos con los del estroma normal. Estos se reflejan en la tabla 3.

Tabla 3. Distribución de ojos según características y morfología normal de los queratocitos del estroma corneal

Estroma	Cantidad de ojos con morfología normal y presencia de los queratocitos	
	SÍ	NO
Anterior	99	1
Medio	100	-
Posterior	100	-

Más de 95 ojos tenían un conteo celular endotelial por encima de 2 500, cifra comprendida dentro de los valores normales. Esta cifra se corresponde con los hallazgos encontrados en la literatura y con los antecedentes de los pacientes (tabla 4).

Tabla 4. Distribución de ojos según conteo celular endotelial

Número de células endoteliales	Número de ojos
1 000 - 1 500	-
1 501 - 2 000	-
2 001 - 2 500	5
Más de 2 500	95
Total	100

La tabla 5 nos muestra la distribución de ojos según morfología y características del endotelio corneal. Se refleja que la totalidad de los pacientes del estudio presentan la monocapa de células hexagonales. Solo un pequeño número presentó ligeros rasgos de pleomorfismo, polimegatismo y algunos espacios acelulares, sin constituir algo representativo, ni rasgo de afección ocular alguna. En ninguno de los casos se visualizó la membrana de descemet, lo que nos indica que nos encontramos ante la presencia de estructuras celulares normales en pacientes con antecedentes de salud, y sin patología ocular.

Tabla 5. Distribución de ojos según características y morfología normal del endotelio corneal

Características y morfología normal del endotelio corneal	Si	No
Presencia de monocapa de células hexagonales	100	-
Presencia de pleomorfismo	8	92
Presencia de polimegatismo	3	97
Presencia de espacios acelulares	-	-
Visualización de la Membrana de Descemet	-	100

De igual manera se comporta la visualización de los plexos nerviosos y su localización en cada una de las capas de la córnea. Casi la totalidad de los pacientes los tenían visibles, desde la capa epitelial hasta el estroma medio, característica estas que se corresponden con la estructura celular corneal normal (tabla 6).

Tabla 6. Distribución de ojos según la presencia o no de fibras nerviosas y su localización

Fibras nerviosas	Si	No
Sub- basal	99	1
Sub- epitelial	100	-
Estroma anterior	100	-
Estroma medio	100	-
Estroma profundo	-	100

DISCUSIÓN

Los avances recientes de la ciencia nos permiten comprender la importancia de la microscopia confocal. Esta técnica constituye una nueva y poderosa herramienta para examinar las estructuras celulares y sus funciones. Permite la observación tejidos intactos sin necesidad de hacer cortes histológicos, con un aumento notable en la resolución, hacer reconstrucciones tridimensionales más precisas de mejor calidad y en menor tiempo que por otros métodos.³⁻⁷

Todos los examinados en nuestro estudio se comportaron como pacientes con córneas dentro de parámetros normales, al tener en cuenta el análisis estructural realizado por microscopia confocal con el Confoscan 4. Se corresponde de manera general con lo reportado en la literatura revisada. Al realizar un estudio detallado de cada una de las estructuras corneales, desde el epitelio hasta el endotelio corneal, nos permite actualmente conocer detalles relacionados a la conexión estructura-función en los seres vivos, que anteriormente constituían una incógnita para nosotros.⁴⁻⁷

En los estudios encontrados los autores coinciden en que con el microscopio confocal es posible distinguir tres tipos celulares diferentes: las células superficiales, las basales y las intermedias. Las células superficiales aparecen con bordes poligonales, bien definidos y con núcleos evidentes. Estos núcleos son brillantes, con un halo hiporreflectivo que destaca sobre un citoplasma homogéneo. Las células basales son muy pequeñas, poligonales, sin núcleos hiperrefringente y con citoplasma muy denso. Se encuentran en mayor número y sus bordes están muy marcados. Las células intermedias son también poligonales, sin núcleo y con características de densidad intermedias entre las dos anteriores.¹⁻⁹

La membrana basal epitelial y la membrana de Bowman no pueden ser identificadas en corneas normales. Las fibras nerviosas de los plexos sub-basal y subepitelial son claramente visibles en células normales, estas contrastan sobre un fondo oscuro. La imagen típica del estroma corneal muestra numerosos cuerpos ovales brillantes que representan los núcleos de los queratocitos, repartidos en una matriz extracelular de color grisáceo, casi transparente. En ausencia de patología, el estroma, la matriz extracelular, la sustancia fundamental y las lamelas corneales son imposibles de diferenciar por la transparencia intrínseca de estas estructuras.^{10,11}

Los queratocitos en el estroma anterior (100-150 micras tras la membrana de Bowman) son abundantes y de morfología irregular, aspecto algo alargado y con numerosos procesos. En el estroma medio (150-350 micras centrales) se encuentran queratocitos triangulares con finos procesos, mientras que en el estroma profundo (100 micras anteriores a la membrana de Descemet), estas células son grandes, irregulares y ovales. La diferencia en su reflectividad se piensa que está relacionado con un distinto grado de activación metabólica.¹²

El mayor tamaño celular mayor es en el estroma profundo (14,4 mm³), seguido de los queratocitos del estroma anterior (5,4 mm³). Los queratocitos del estroma medio son los de menor tamaño (5,0 mm³). El número de queratocitos es mayor en el estroma anterior y va disminuyendo lentamente hasta el estroma profundo. Existe un aumento significativo en la zona adyacente a la membrana de Descemet.¹³

En el estroma anterior y medio, es posible visualizar fibras nerviosas procedentes del plexo corneal profundo, de 3 a 5 veces más gruesas que las fibras del plexo subepitelial. Habitualmente aparecen aisladas y se visualiza en ocasiones sus bifurcaciones en forma de Y. Estas fibras miden entre 8 y 20 mm y suelen estar ausentes en el estroma profundo.⁹⁻¹⁴

El endotelio es totalmente identificable, aparece como una monocapa compuesta por células hexagonales o poligonales homogéneamente brillantes y sin núcleos visibles. Los bordes celulares se aprecian bien definidos, finos y sin reflectividad.¹⁴

No es posible identificar la membrana de Descemet en ojos normales aunque se puede ver en determinadas patologías como la distrofia polimorfa posterior o en el glaucoma congénito primario.^{13,14}

Los nervios corneales son fibras nerviosas finas, brillantes, distribuidas de manera paralela u oblicua y con diversas bifurcaciones que se conectan entre sí. El grosor medio de cada fibra sub-basal es entre 2 y 4 mm, y el de las fibras subepiteliales entre 3 y 7 mm.¹⁴

Tras los resultados de nuestro estudio podemos concluir que la microscopía confocal se presenta como una nueva herramienta que permite observar en vivo la histología corneal y complementa las observaciones de la biomicroscopía convencional. Constituye un reto para el mejor entendimiento de la histopatología corneal. De esta manera se puede actuar de forma profiláctica y terapéutica, en el seguimiento y evolución de patologías corneales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Legeais JM, Labetoulle M, Renard G, Gaillot D, Pouliquen Y. Indications for penetrating keratoplasty. A retrospective study of 2,962 cases over 11 years. *J Fr Ophthalmol.* 1993; 16(10):516-22.
2. Fonolla Gil M, Baamonde Arbaiza MB, Villacampa Castro T, González Castaño T, González Castaño C, Sánchez Aparicio JA. Resultados y complicaciones de las queratoplastias penetrantes. *Arch. Soc. Esp. Ophthalmol.* 1999; 74(10):513-58.
3. Petroll MW, Mathew P, Cavanagh D, Qwight D, Jester JV. Clinical confocal microscopy. *Curr Opin Ophthalmol.* 1998; 9(4):59-65.

4. Kaufman SC, Musch DC, Belin MW, Cohen EJ, Meisler DM, Reinhart WJ, et al. Confocal microscopy: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology*. 2004;111:396-406.
5. Charles J, Koester CJ, Auran JD, Rosskothan HD, Flokaris GJ, Tackaberry RB. Clinical microscopy of the cornea utilizing optical sectioning and a high-numerical-aperture objective. *J Opt Soc Am*. 1993;10(7):1670-9.
6. Ivarsen A, Stultiens BA, Moller-Pedersen T. Validation of confocal microscopy through focusing for corneal sublayer pachymetry. *Cornea*. 2002;21(7):700-4.
7. Javaloy J, Vidal MT, Villada JR, Artola A, Alió JL. Comparison of four corneal pachymetry techniques in corneal refractive surgery. *J Refract Surg*. 2004;20(1):29-34.
8. Hahnel C, Somodi S, Weiss DG, Guthoff R. The keratocyte network of human cornea: a three-dimensional study using confocal laser scanning fluorescence microscopy. *Cornea*. 2000;19(2):185-93.
9. Linna T, Tervo T. Real-time confocal microscopic observations on human corneal nerves and wound healing after excimer laser photorefractive keratectomy. *Curr Eye Res*. 1997;16(7):640-9.
10. Garin Ferreira R, Nebro Cobos S, Jimenez Pertiñez F, Escudero Gomez J. Queratoplastia penetrante, nuestra experiencia. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 1996;71(2):107-14.
11. Muraine M, Sanchez C, Watt L, Retout A, Bresseur G. Long term results of penetrating keratoplasty. A 10 year plus retrospective study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2003 Jul;241(7):571-6.
12. Kucukerdonmez C, Akova YA, Dursun D. Refractive outcome of single running suture adjustment in penetrating keratoplasty. *Eur J Ophthalmol*. 2004 Mar Apr;14(2):94-9.
13. Hernandez-Quintela E, Mayer FM, Dighiero P, Briat B, Savoldelli M, Legeais JM, et al. Confocal microscopy of cystic disorders of the corneal epithelium. *Ophthalmology*. 1998;105(4):631-6.
14. Chiou AG, Kaufman SC, Beuerman RW, Ohta T, Soliman H, Kaufman HE. Confocal microscopy in cornea guttata and Fuchs' endothelial dystrophy. *Br J Ophthalmol*. 1999;83(2):185-9.

Recibido: 7 de enero de 2011.

Aprobado: 14 de noviembre de 2011.

Dra. *Zulema Gómez Castillo*. Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". Ave. 76 No. 3104 entre 31 y 41 Marianao, La Habana, Cuba. Correo electrónico: zulema.gomez@infomed.sld.cu
