

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

División de Estudios de Posgrado

Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz

Departamento de Córnea y Cirugía Refractiva

MICROSCOPIA CONFOCAL EN DISTROFIAS CORNEALES (SERIE DE CASOS)

TESIS

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE CIRUJANO OFTALMÓLOGO

PRESENTA:

Dr. Willams Ramiro Centellas Vargas

AGRADECIMIENTO

A Dios y a la Virgen María

Por la vida que me brindan y su protección cuando estoy frente a cada uno de los pacientes.





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis maestros y a mis compañeros.

Por la enseñanza y amistad que me brindaron durante estos años de formación.

DEDICATORIA

A mis padres (Hugo y Rosa).

Por el ejemplo de vida y el apoyo incondicional que siempre me brindan.

A mi esposa Ivette.

Por estar siempre conmigo, luchando juntos por nuestros sueños.

A mis hermanos (Nelson, Miriam e Israel) y sus familias.

Por la fuerza tan grande que me brindan apoyándome a la distancia.

CONTENIDO

I	RESUMEN4
II	INTRODUCCIÓN5
III	OBJETIVO GENERAL10
IV	MATERIAL Y MÉTODOS11
V	RESULTADOS12
VI	DISCUSIÓN23
VII	CONCLUSIÓN26
VIII	BIBLIOGRAFÍA27

I. RESUMEN.

Objetivo. Actualmente la microscopia confocal se utiliza en humanos como herramienta de diagnóstico de infecciones, procesos cicatrízales de cirugía refractiva, distrofias corneales, por lo mismo nuestro objetivo es describir las características histológicas interpretadas por el microscopio confocal en pacientes con distrofias corneales epiteliales, estromales y endoteliales del Departamento de Córnea y Cirugía Refractiva de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz.

Resultados. Se estudiaron 30 pacientes (60 ojos). 28 mujeres que representan un (93%) y 2 hombres que representan el (7%). El rango de edades fue de 20 a 86 años, promedio 60 +/- (19.45) años. La distribución de pacientes es la siguiente: Cuatro con distrofia epitelial (dos con Distrofia de Meesmann y dos con Distrofia de Cogan), seis con distrofias estromales (tres con Distrofia Granular, uno con Distrofia de Francois, dos con Distrofias Predescemet). Veinte con distrofias endoteliales (Diez y nueve con Distrofia Fuchs y uno con Distrofia Polimorfa Posterior), en cada caso describimos características clínicas, histológicas mediante el microscopio confoscal 3, se compararon con otros encontrados en diferentes artículos.

Conclusión. La descripción histológica de distrofias corneales, es una alternativa diagnóstica que apoya el examen clínico realizado en su valoración inicial.

Palabras claves. Microscopio confocal, distrofias corneales.

II. INTRODUCCIÓN.

Las distrofias corneales son alteraciones con patrón hereditario, bilateral, tienden a ser lentamente progresivas y conllevan opacificación de la córnea. Algunas distrofias de etiología desconocida. Pueden manifestarse al nacer, pero a menudo se inician en la segunda década de la vida. Pueden ser clasificadas en diversas formas, de acuerdo a patrones genéticos, severidad, características histopatológicas, características bioquímicas o localización anatómica. El esquema anatómico es uno de los más usados, clasificamos las distrofias de acuerdo a los niveles corneales afectados (1).

Tabla 1. Distrofias epiteliales:

	Distrofia de Cogan	Distrofia de Reis-Bucklers	Distrofia de Meesmann	Distrofia de Fleischer
Frecuencia	Más frecuente	Muy rara	Muy rara	Muy rara
Herencia	No	HAD	HAD	Cromosoma x
Edad	Más de 30	Infancia	Primera	Más de 30
	años		década	años
Lesiones	Mapa, punto,	Opacidades	Finos puntos	Opacidades
	huella dactilar	centrales	reflectantes	disposición de
				verticilio
Progresión	No			
Tratamiento	Debridación	Queratoplastía	No suele	Queratoplastía
	erosiones		precisar	
Recurrencia		Frecuente		
en injerto				

Tabla 2. Distrofias estromales:

	Reticular	Granular	Macular
Herencia	HAD	HAD	HAR
Edad	Variable	Primera década	Variable
Lesiones	Líneas ramificadas	Opacidades del centro a la periferia. No llegan al limbo	Opacidades mal delimitadas. Llegan al limbo
Tratamiento	De erosiones	Queratoplastía	No suele precisar

Tabla 3. Distrofias endoteliales:

	Distrofia polimorfa posterior	Distrofia endotelial de Fuchs
	postorioi	
Herencia	HAD	HAD
Edad	Muy temprana	Más de 50 años
Lesiones	Formaciones en la	Pliegues en la membrana de
membrana de Descemet		Descemet, edema, ampollas
Tratamiento	No suele precisar	Del episodio agudo

HAD Herencia autosómica dominante.

HAR Herencia autosómica recesiva.

Aunque el microscopio confocal fue patentado por Minsky en 1957, no fue hasta la década de los setenta, con la llegada de los ordenadores, el láser y el procesamiento digital de las imágenes, cuando el primer microscopio confocal láser de haz simple fue utilizado para el estudio de muestras biológicas (2), como la inmunofluorescencia y la construcción de imágenes tridimensionales.

La microscopía óptica confocal presenta ventajas con respecto a la microscopía óptica convencional, una de ellas es la ausencia de "imágenes fuera de foco", ofreciendo la capacidad de obtener cortes histológicos seriados de forma no invasiva en especimenes intactos e incluso en organismos vivos.

Es compatible con el procesado mediante ordenador de imágenes de alta resolución digitalizadas, permitiendo la reconstrucción de imágenes tridimensionales o la topografía de superficies (2-4).

En la actualidad existen cuatro tipos de microscopios confocales para uso oftalmológico: el Tandem Scanning (TSCM), el Confoscan, el Koester (5,6) y el Heidelberg (HRT II).

El Confoscan tiene un sistema de trabajo a distancia con una lente cónica de inmersión que permite obtener imágenes de todas las capas celulares de la córnea (7).

Morfología corneal normal con el microscopio confocal

Epitelio.

Las células superficiales aparecen con bordes poligonales, bien definidos y con núcleos evidentes. Los núcleos son brillantes, con halo hiporrefléctico que destaca sobre un citoplasma homogéneo. Las células básales son más pequeñas, poligonales, sin núcleo hiperrefléctico, con citoplasma más 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 (8).

La membrana basal epitelial y la membrana de Bowman no pueden ser identificadas en corneas normales.

Plexo nervioso sub-basal y subepitelial.

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 esta entre 2 y 4 μ m y el de las fibras subepiteliales entre 3 y 7 μ m (9).

Estroma.

Los queratocitos, en el estroma anterior (100-150 micras tras la membrana de Bowman) tienen morfología irregular, de aspecto algo alargado, con numerosos procesos y un diámetro de 5,4 µm³. En el estroma medio (150-350 micras medios), son triangulares con finos procesos y 5,0 µm³ de diámetro, mientras en estroma profundo (100 micras anteriores a la membrana de descemet), estas células son grandes, irregulares y ovales con 14,4 µm³ diámetro. La diferencia en su reflectividad se cree debida al distinto grado de activación metabólica (9).

Existe un mayor número de queratocitos en el estroma anterior que va disminuyendo paulatinamente hasta el estroma profundo, con un aumento significativo en la zona adyacente a la membrana de descemet. En el estroma anterior y medio, es posible visualizar fibras nerviosas las que están ausentes en el estroma profundo (10).

Endotelio.

Aparece como una monocapa de células hexagonales o poligonales homogéneamente brillantes y sin núcleos visibles. Los bordes celulares se aprecian bien definidos, finos y sin reflectividad (11). In vivo, la microscopia confocal ha sido utilizada en animales de experimentación con diferentes

aplicaciones, como la cuantificación de cambios en la morfología epitelial por el uso de lentes de contacto, cicatrización corneal y medida de los efectos de la irritación ocular (12).

Actualmente la microscopia confocal se utiliza en humanos como herramienta de diagnóstico de infecciones (Ej.: la queratitis por Acantamoeba, donde se visualizan quistes (13). En cirugía refractiva corneal se estudia el epitelio corneal, el estroma y sus procesos cicatrízales, así como la cuantificación objetiva del grado de opacidad (haze).

Algunas distrofias corneales también pueden ser identificadas precozmente y puede ayudar al estudio evolutivo de las mismas (14,15).

III. OBJETIVO GENERAL.

Describir características histológicas interpretadas por el microscopio confocal en pacientes con distrofias corneales epiteliales, estromales y endoteliales del Departamento de Córnea de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz de Enero 2006 a Octubre 2007.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS.

El presente estudio fue realizado en el Departamento de Córnea y Cirugía Refractiva de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz.

Criterios de inclusión.

Pacientes con diagnóstico de distrofia corneal del Departamento de Córnea del Hospital Fundación Nuestra Señora de la Luz, con microscopia confocal, de ambos sexos y cualquier edad.

A los pacientes seleccionados se les realizo apertura de expediente clínico registrando datos demográficos, tipos de distrofias corneales, antecedentes personales patológicos, no patológicos, tiempo de evolución y características clínicas de las distrofias.

Prevía aplicación de tetracaina tópica se examinaron los pacientes con el microscopio confocal (*Confoscan 3*), utilizando un objetivo de lente 40x. Se realizó un escaneo de todas las capas de la córnea logrando 350 imágenes a razón de 25 imágenes por segundo, las cuales fueron grabadas y analizadas con el software NAVIS del microscopio Confoscal 3. Obtuvimos datos clínicos y de microscopia confocal de 30 pacientes distribuidos de la siguiente manera: Cuatro pacientes con Distrofias Epiteliales (Dos con Distrofia de Meesmann y dos con Distrofia de Cogan), seis pacientes con Distrofias Estromales (Tres con Distrofia Granular, uno con Distrofia de Francois, dos con Distrofias Predescemet). Veinte pacientes con Distrofias Endoteliales (Diez y nueve con Distrofia Fuchs y uno con Distrofia Polimorfa Posterior).

V. RESULTADOS.

Se estudiaron 30 pacientes (60 ojos). 28 de los cuales fueron mujeres y representan un (93%) y 2 hombres, representan el (7%).

El rango de edades de los pacientes fue de 20 a 86 años, con un promedio 60 años +/- 19.45.

A continuación se realiza una descripción de los casos clínicos más representativos estudiados:

Tabla 4. Datos demográficos de pacientes con distrofia corneal.

Distrofias Epiteliales	Distrofias Estromales	Distrofias Endoteliaes
2 D. Meesmann	3 D. Granular	1 D. Polimorfa posterior
2 D. Lattice	2 D. Predescemet	19 D. Fuchs
	1 Francois	

30 pacientes (60 ojos). 28 mujeres (93%) y 2 hombres (7%). Rango de edades de 20 a 86 años, promedio 60 años +/- 19.45.

Paciente 1.

Paciente femenino de 20 años de edad, acude al servicio de córnea presenta cuadro clínico de una semana de evolución caracterizado por ardor, lagrimeo y fotosensibilidad en ambos ojos. Sin historia familiar y patológica para el cuadro clínico presente.

Agudezas visuales: **OD:** CD 1mt (.) 20/60. **OI:** CD 1mt (.) 20/100.

Error refractivo:

OD: -1.00=-1.00x5°. **AV** 20/50. **OI:** -0.50=-2.25x175°. **AV** 20/25.

Queratometrías:

OD: 43.75x0/45.62x90. **OI:** 42.25x150/43.87x60.

Al examen biomicroscopico se evidenciaron múltiples opacidades subepiteliales de aspecto microquístico en ambos ojos.

Diagnóstico: Distrofia Meesmann.

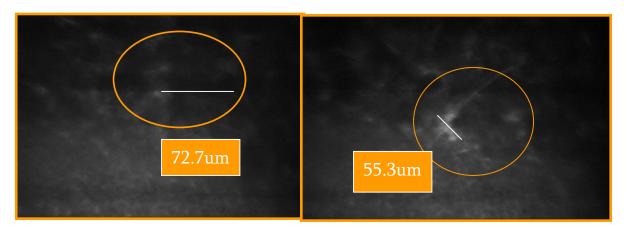


Figura 1.a



Figura 1.c

Figura 1.d

Figura 1.b

Figura 1a. espacios hiporeflécticos de 72.7µm. 1b. Tortuosidad y aumento de grosor de

nervios corneales 55.3µm ancho. 1c. Aumento de longitud células básales del epitelio

28.2 µm. **1.d.** Lesiones microquísticas a la biomicroscopia.

Paciente 2.

Paciente femenino de 41 años de edad, acude al servicio de córnea por presentar

cuadro de 1 año de evolución caracterizado por ardor, ojo rojo. Con historia familiar

de diabetes mellitus.

Agudezas visuales: **OD:** 20/60 (.) 20/30. **OI:** 20/40 (.) 20/20.

Error refractivo:

OD: -1.25x10°. **AV** 20/20. **OI:** -1.50=-1.00x5°. **AV** 20/20.

Queratometrías:

OD: 43.00x12/44.75x102. **OI:** 44.62x2/45.00x92.

Al examen biomicroscopico lesiones blanquecinas de formas festoneadas y

circulares

3

DIAGNOSTICO: Distrofia de Cogan.

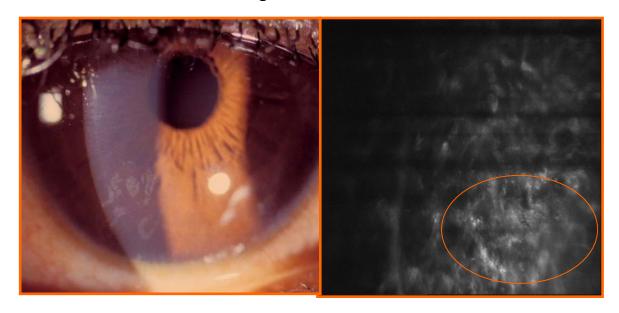


Figura 2a. Figura 2b.

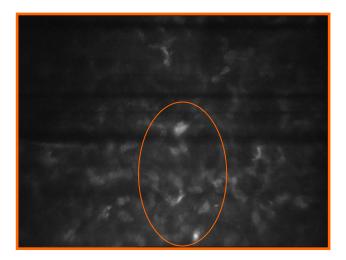


Figura 2c.

Figura 2.a Se evidencian lesiones blanquecinas superficiales con formas festoneadas.2.b y c Áreas hiperreflécticas sin forma definida que no permiten adecuada visualización del estroma.

Paciente 3.

Paciente femenino de 68 años de edad, acude al servicio de córnea por presentar cuadro de 6 meses de evolución caracterizado por visión borrosa, ardor, lagrimeo. Con historia familiar de diabetes mellitus e hipertensión arterial.

Agudezas visuales: **OD** 20/40 (.) NC. **OI** 20/20.

Error refractivo:

OD: -0.50=-0.50x100°. **AV** 20/25. **OI:** + 0.25 esfera. **AV** 20/20.

Queratometrías:

OD: 46.80x20/47.0x10. **OI**: 46.25x0/47.25x90.

Al examen biomicroscopico se evidenciaron lesiones blanquecinas poligonales, separadas por espacio claro en estroma anterior en ambos ojos.

DIAGNOSTICO: Distrofia de François.

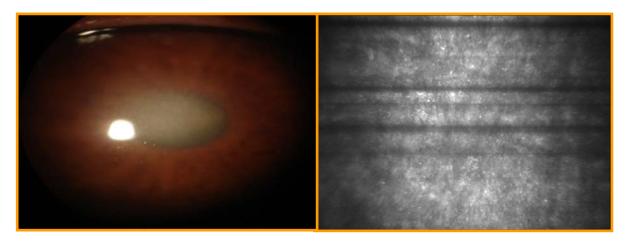


Figura 3.a Figura 3.b

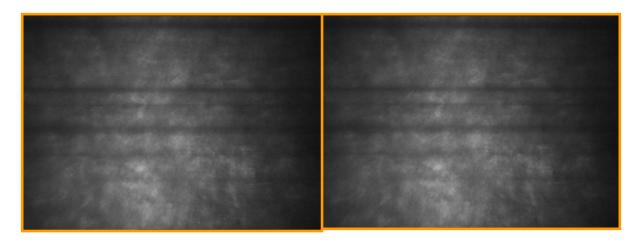


Figura 3.d Figura 3.d

Figura 3.a En foto panorámica se observa en estroma anterior lesiones blanquecinas poligonales, separadas por espacio claro. **3. b, c y d** Hiperreflectividades en estroma anterior que no permiten visualización de estroma medio, posterior y endotelio.

Paciente 4.

Paciente femenino de 22 años de edad, la cual presenta cuadro clínico de 1 año de evolución caracterizado por visión borrosa progresiva.

Sin antecedentes familiares y patológicos de importancia.

Agudezas visuales: **OD** 20/40 (.) NC. **OI** 20/70 (.) 20/30.

Error refractivo:

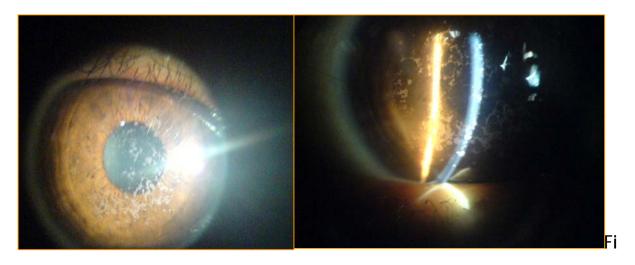
OD: -0.50=-1.75x5°. **AV** 20/30. **OI:** +0.75=-3.50x175°. **AV** 20/30.

Queratometrías: **OD**: 40.74x5/42.74x95. **OI**: 39.88x5/43.62x95.

A la biomicroscopia se evidenciaron en córnea múltiples opacidades blancas estromales difusas, bien definidas, de predominio central. Respeta área periférica en ambos ojos.

FO: Excavaciones 30%, área macular de aspecto normal.

Diagnóstico: Distrofia Granular.



gura 4.a Figura 4.b

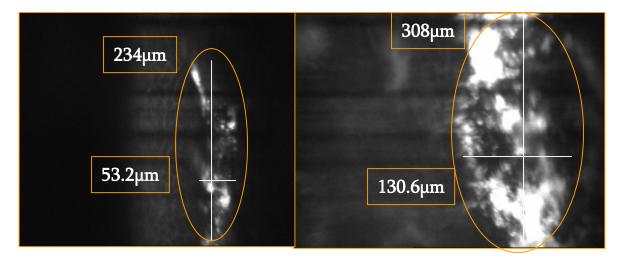


Figura 4.c Figura 4.d Figura 4. a y b Fotos clínicas se evidencian múltiples opacidades blancas estromales difusas, bien definidas, de predominio central.. Figura 4.c y d Lesiones hiperreflécticas que protruyen a través de la capa basal de epitelio corneal, no afectación del endotelio corneal.

Paciente 5.

Paciente femenino de 55 años de edad que presenta cuadro clínico de 3 semanas de evolución caracterizado por ardor y ojo derecho rojo.

AHF: Madre hipertensa y PO catarata.

APP Hace 2 años presento cuadro semejante de ojo rojo. Desde los 15 años refiere visión borrosa.

Agudezas visuales: **OD** 20/200 (.) 20/60. **OI** CD (.) 20/200.

Con error refractivo:

OD: -1.00 esfera. **AV** 20/200. **OI:** -0.50 esfera. **AV** 20/70.

Queratometrías:

OD: 43.00x0/43.75x90. **OI:** 43.00x180/43.75x90.

A la biomicroscopia se evidencia menisco lagrimal disminuido, queratopatía superficial difusa, córnea con múltiples opacidades blancas que abarca toda la córnea en su tercio posterior, con estroma transparente en ambos ojos.

Diagnóstico: Distrofia Predescemet.

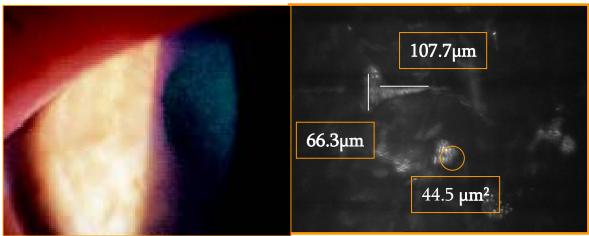


Figura 5.a Figura 5.b



Figura 5.c

Figura 5.a En foto panorámica de paciente con distrofia Predescemet se observan opacidades blanquecinas en tercio posterior de córnea.

Figura 5.b Imágenes hiperreflécticas en estroma profundo, bastonadas, circulares, en media luna. **5.c** Endotelio corneal imágenes de guttatas aisladas.

Paciente 6.

Paciente masculino de 56 años de edad, acude a la consulta por presentar disminución de agudeza visual OI de larga evolución.

Sin antecedentes heredo familiares y patológicos importantes para la enfermedad.

Agudezas visuales: **OD** 20/50 (.) 20/20. **OI** CD 1mt (.) 20/20.

Error refractivo:

OD: -0.50=-1.00x0°. **AV** 20/20. **OI:** -7.50=-0.50x180°. **AV** 20/40.

Queratometrías:

OD: 41.75x0/43.50x90. **OI:** 43.00x0/43.75x90.

CE: OD: 1750. OI: 833.

A la biomocroscopia se observa en ojo derecho lesión en forma de coma y estrías en descemet en ojo izquierdo.

FO: Excavaciones 50%, resto sin datos patológicos.

Diagnóstico: Distrofia Polimorfa Posterior.

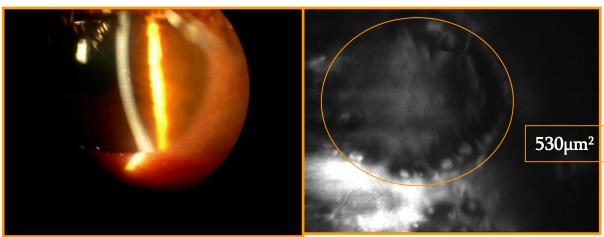


Figura 6.a Figura 6.b

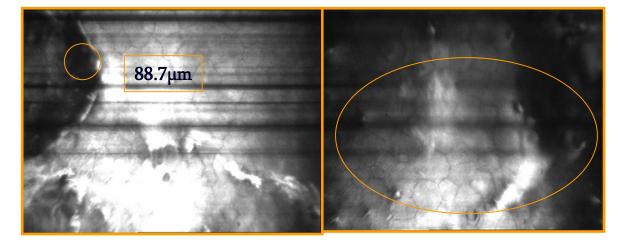


Figura 6.d Figura 6.d

Figura 6.a En foto panorámica de un paciente con distrofia polimorfa posterior se evidencia lesión blanquecina en forma de coma. **Figuras 6.b** Muestran múltiples lesiones

circulares oscuras hiporreflécticas. **Figuras 6.c** Vesículas alrededor de lesiones circulares de 6µm² e hiperreflectividades contigua a la lesión. **Figuras 6.d** En el endotelio existen lesiones hiporreflécticas sobresalientes de 2 a 13µm² compatibles con guttatas.

Paciente 7.

Femenino de 79 años que refiere visión borrosa, sensación de cuerpo extraño, ojo rojo de un año de evolución.

Sin antecedentes heredo familiares y patológicos de importancia.

Agudezas visuales: **OD** CD (.) NC. **OI** 20/200 (.) 20/50.

Error refractivo:

OD: -5.75=-2.25x150° NC. **OI:** -2.75=-1.25x90° 20/20.

Queratometrías:

OD: Miras distorsionadas. **OI:** 44.62x0/43.62x90.

A la biomicroscopia se observa edema corneal leve, estrías en Descemet y guttatas.

Diagnóstico: Distrofia de Fuchs.

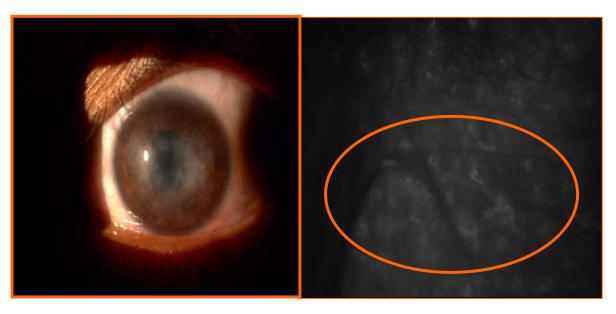


Figura 7.a Figura 7.b

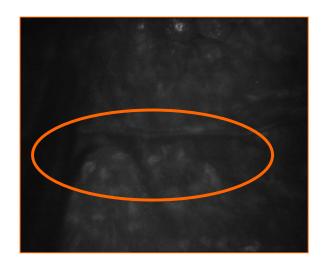


Figura 7.a Foto panorámica de paciente con distrofia de Fuchs, se evidencia edema corneal. **Figura 7.b-c** Se observan imágenes hiporreflectivas rectas y dicotomizadas aparentemente canalizadas. Guttatas aisladas.

VI. DISCUSIÖN.

Dipika y cols. Describen en imágenes de microscopia confocal de distrofias de Meesmann aparecen áreas hiporreflécticas en la capa basal del epitelio, mayormente circulares, ovales o en forma de gota de lagrima con un rango de 48 y 145µm de diámetro, también observaron grandes hendiduras intraepiteliales elongadas, manchas reflectivas visibles dentro la mayoría de las lesiones que pueden representar en material fibrilogranular (sustancia peculiar) (16). En la F.H.N.S.L., evidenciamos áreas hiporreflécticas ovales de 72µm de diámetro, tortuosidad de nervios corneales con incremento en el diámetro 55.3µm. Hiperreflectividades

circulares aisladas de 16.4µm² de diámetro y elongación de células de capa basal 28µm de longitud.

Chiou AG y cols. En distrofia en lattice, evidenciaron imágenes lineales hiperreflécticas de 40 a 80 µm (25). En la F.H.N.S.L. evidenciamos áreas hiperreflécticas sin forma definida que no permiten adecuada visualización del estroma.

Kobayashi y cols., evidenciaron en distrofia de Francois células epiteliales básales normales, gránulos de alta reflectividad en estroma anterior, pudiendo visualizarse estrato medio y posterior del estroma, observaron estrías del endotelio (17). En la F.H.N.S.L. evidenciamos gránulos de alta reflectividad que no permiten buena visualización del estroma medio, posterior y endotelio.

Claudio Traversi y cols. Evidenciaron en distrofias granulares, lesiones hiperreflécticas en estroma medio de 100um en promedio. No afectación del endotelio corneal (26). En la F.H.N.S.L evidenciamos lesiones hiperreflécticas que protruyen a través de la capa basal de epitelio corneal de 73 a 274µm de ancho y de 274 a 308µm de largo. Lesiones hiperreflécticas circulares en estroma medio y anterior de 72µm de diámetro. No afectación del endotelio corneal.

Juha M. Holopainen y cols., en un paciente con distrofia Predescemet evidenciaron partículas hiperreflécticas entre los queratocitos, con normal morfología de los mismos, no existe afectación del endotelio (18). En la F.H.N.S.L. evidenciamos partículas hiperreflécticas en estroma profundo, bastonadas (107.7µm de longitud y

66.3µm de ancho), circulares (44.5µm de diámetro), en media luna. En endotelio corneal imagenes de guttatas aisladas.

Lulu L. Cheng y cols evidenciaron en distrofia Polimorfa Posterior una densidad de células endoteliales de 613 - 3405 mm², polimegatismo endotelial en todos los casos, pleomorfismo no predominante, brillo nuclear de células endoteliales no constante. Se evidenciaron también lesiones curvilíneas y vesiculares de 6 - 159 µm de diámetro e hiperreflectividad de la membrana de Descemet alrededor de las lesiones. (19-21).

Grupcheva, Christina N y cols. además de lo detallado describen que existe mayor prominencia de los nervios corneales (22). En la F.H.N.S.L. observamos múltiples lesiones circulares oscuras de 530µm² de área, vesículas alrededor de la misma de 6µm² e hiperreflectividades contigua a la lesión. En endotelio existen lesiones hiporreflécticas sobresalientes de 2 a 13µm² compatibles con guttatas.

Rokita Wala I y cols., Evidenciaron que en etapas tempranas de la distrofia endotelial de Fuchs se observan áreas de hiporreflectividad difusa, las células endoteliales localizadas detrás de estas áreas presentan pleomorfismo y polimegatismo, en etapas tardías se observaron áreas de hiporreflectividad difusas rodeando a células endoteliales hiperreflécticas. Se observaron bandas oscuras en la parte posterior del estroma corneal (23). Sabong y cols., además indican que la media del conteo de células endoteliales es de 1202 +/- 850 similar al número de células endoteliales encontradas por microscopia confocal. (24). En la F.H.N.S.L.

Lesiones hiporreflécticas rectas y dicotomizadas aparentemente canalizadas, correspondientes a estrías en Descemet, además guttatas aisladas.

VII. CONCLUSIÓN.

Aunque no se tiene mucha experiencia en la descripción histológica de distrofias corneales, es una alternativa diagnóstica que apoya el examen clínico realizado por el oftalmólogo en su valoración inicial.

VII. BIBLIOGRAFIA.

- Robert C Arffa, M.D. Grayson, Enfermedades de la córnea. 4ta ed. Editorial Harcourt Brace. Pag. 413 - 456.
- Sheppard CJR, Shotton DM. Confocal Laser Scanning Microscopy.
 Microscopy Handbook Series N.º 38. New York: BIOS Scientific Publishers
 Ltd; 1997.
- 3. Boyde A, Petran M, Hadravsky, M. Tandem scanning reflected light microscopy of internal features in whole bone and tooth samples. J Microsc 1983; 132: 1-7.
- 4. Boyde A. Applications of tandem scanning reflected light microscopy and three-dimensional imaging. Ann N Y Acad Sci 1986; 483: 428-439.
- 5. Petroll MW, Cavanagh D, Jester JV. Clinical confocal microscopy. Curr Opin Ophthalmol 1998; 9: 59-65.
- 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.
- Koester CJ, Auran JD, Rosskothen HD, Flokaris GJ, Tackaberry RB. Clinical microscopy of the cornea utilizing optical sectioning and a high-numericalaperture objective. J Opt Soc Am A 1993; 10: 1670-1679.
- 8. Mustonen RK, McDonald MB, Srivannaboon S, Tan AL, Doubrava MW, Kim CK. Normal human corneal cell populations evaluated by in vivo scanning slit confocal microscopy. Cornea 1998; 17: 485-492.

- 9. Oliveira-Soto L, Efron N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy. Cornea 2001; 20: 374-384.
- 10. Hahnel C, Somodi S, Weiss DG, Guthoff R. The keratocite network of human cornea: a three-dimensional study using confocal laser scanning fluorescence microscopy. Cornea 2000; 19: 185-193.
- 11. Moller-Pedersen T. A comparative study of human corneal keratocyte and endothelial cell density during aging. Cornea 1997; 16: 333-338.
- 12. Wiegand W, Thaer AA, Kroll P, Geyer OC, García AJ. Optical sectioning of the cornea with a new confocal in vivo slit-scanning videomicroscope.

 Ophthalmology 1995; 102: 568-575.
- 13. Winchester K, Mathers WD, Sutphin JE, Daley TE. Diagnosis of Acanthamoeba keratitis in vivo with confocal microscopy. Cornea 1995; 14: 10-17.
- 14. Werner LP, Werner L, Dighiero P, Legeais JM, Renard G. Confocal microscopy in Bowman and stromal corneal dystrophies. Ophthalmology 1999; 106: 1697-1704.
- 15. Rosenberg ME, Tervo MT, Petroll WM, Vesaluoma MH. In vivo confocal microscopy of patients with corneal recurrent erosion syndrome or epithelial basement membrane dystrophy. Ophthalmology 2000; 107: 565-573.
- 16. Dipika V. Patel, MA, MRCOphth, Christina N. Grupcheva. Imaging the microstructural abnormalities of Meesmann corneal dystrophy by in vivo confocal microscopy. Cornea 2005; 24: 669-673.

- 17. Kobayashi A, Sugiyama K, Huang AJ. In vivo confocal microscopy in patients with central cloudy dystrophy of Francois. Arch Ophthalmol. 2004 Nov; 122(11):1676.
- 18. Juha M. Holopainen, M.D., Jukka A.O. Moilanen, M.D., Timo M.T. Tervo, M.D. In Vivo Confocal Microscopy of Fleck Dystrophy and Pre-Descemet's Membrane Corneal Dystrophy. Cornea 22(2): 160–163, 2003.
- 19. Dipika V. Patel, MA, MRCOphth, Christina N. In vivo confocal microscopy of posterior polymorphous dystrophy. Cornea 2005; 24: 550–554.
- 20. Lulu L. Cheng, BMedSc, MRCSEd (Ophth). Confocal microscopy of posterior polymorphous endothelial dystrophy. Cornea 2005; 24: 599–602.
- 21. Chiou AG, Kaufman SC, Beurman RW. Confocal microscopy in posterior polymorphous corneal dystrophy. Opthalmologica 1999; 213(4): 211-213.
- 22. Grupcheva, Christina N MD; Chew, Gerald SM MBChB. Imaging posterior polymorphous corneal dystrophy by in vivo confocal microscopy. Clinical and experimental ophthalmology 2001; 29(4): 256-259.
- 23. Rokita Wala I. Mrukwa Kominek E. Changes in corneal structure observed with confocal microscopy during Fuchs endothelial dystrophy. Klin Oczna 2000; 102 (5): 339-344.
- 24. Sabong M.D., Tan, Alnette L. M.D. In vivo confocal microscopic findings of corneas with Fuchs endothelial dystrophy. Cornea 1998; 17(5): 439.
- 25. <u>Chiou AG</u>, <u>Beuerman RW</u>, <u>Kaufman SC</u>, <u>Kaufman HE</u>. Confocal microscopy in lattice corneal dystrophy. <u>Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.</u> 1999 Aug; 237(8):697-701.

26. Claudio, Traversi MD; Gianluca, Martone MD; Alex, Malandrini MD; Gian Marco, Tosi MD; Aldo, Caporossi MD. *In vivo* confocal microscopy in recurrent granular dystrophy in corneal graft after penetrating keratoplasty. Clinical and experimental ophthalmology. Volume 34(8), November 2006, p 808–810.