



► Artículo original

## Análisis de los nervios estromales de la córnea mediante microscopía confocal *in vivo*

*Analysis of stromal corneal nerves using confocal microscopy in vivo*

Manuel Ramírez-Fernández, Ramón Naranjo-Tackman

Servicio de Córnea y Cirugía Refractiva, Asociación para Evitar la Ceguera en México, Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes, Universidad Nacional Autónoma de México.



**Palabras clave:**

Nervios estromales de córnea, microscopía confocal, México.

► **Resumen**

**Objetivo:** Analizar la morfología y el espesor de los nervios corneales estromales en ojos sin patología previa.

**Métodos:** Se realizó microscopía confocal de la córnea en una sola ocasión a 50 ojos de 25 pacientes sin patología. Se evaluó la morfología y el espesor de los nervios estromales corneales obtenidos de los escaneos; el espesor de cada nervio se obtuvo con el promedio de la porción más gruesa y la más angosta de los mismos.

**Resultados:** Los nervios estromales se observaron como estructuras lineales hiperreflectivas. El promedio de espesor de los nervios estromales

► **Abstract**

**Objective:** To analyze corneal stroma nerves morphology and the thickness in eyes without previous pathology.

**Methods:** A confocal microscopy study was done to 50 eyes of 25 patients without previous pathology. Corneal stromal nerves morphology and thickness were evaluated. Nerve thickness was obtained from the mean between the widest and the narrowest portion of each nerve.

**Results:** Corneal stromal nerves were observed as linear hiperreflective structures. Mean corneal stromal nerves was  $5.9 \pm 1.7$  microns, range from 3.4 to 10.5 microns.

**Keywords:**

Corneal stroma nerves, confocal microscopy, Mexico.

fue de  $5.9 \pm 1.7$  micras, con un rango de 3.4 a 10.5 micras.

**Conclusión:** Es posible evaluar la morfología de los nervios estromales corneales, así como su espesor mediante microscopía confocal *in vivo*.

## ► Introducción

La microscopía confocal ha permitido el estudio de las micro-estructuras de la córnea *in vivo*, así como los cambios de éstas después de ser sometidas a procedimientos quirúrgicos o tratamientos de algún tipo.<sup>1</sup> El estudio de los nervios corneales por microscopía confocal no es la excepción; se han realizado múltiples estudios en su mayoría sobre el plexo nervioso sub-epitelial.<sup>2-5</sup> El propósito del presente estudio es analizar la morfología y el espesor de los nervios corneales estromales en ojos sin patología previa.

## ► Métodos

Se realizó microscopía confocal de la córnea en una sola ocasión a 50 ojos de 25 pacientes sin patología, mediante el uso del microscopio confocal de hendidura (Confisca 4; Fortune Technologies, Vigonza, Italy); se obtuvo una secuencia de imágenes digitalizadas (JPEG) que constó de dos rastreos consecutivos de la profundidad total del espesor corneal, lo cual corresponde a un rastreo equivalente a la obtención de imágenes de endotelio a epitelio y nuevamente a endotelio, es decir, de lo posterior a lo anterior y de nuevo a lo posterior, para permitir el desplazamiento en el eje "Z" del espesor corneal central. Las imágenes fueron capturadas automáticamente en el disco duro de una computadora. El análisis se hizo mediante el uso del programa Navis v. 3.5.0. (NIDEK, Multi-Instrument Diagnostic System, Japan). Se analizaron todas las imágenes de microscopía confocal del estroma corneal en la cual hubieran nervios estromales, se evaluaron todos los nervios estromales que estuvieran en el foco de todos los escaneos obtenidos. Se valoró la morfología de los nervios estromales encontrados. El espesor de

**Conclusion:** *It is possible to evaluate corneal stromal nerves morphology and thickness by using confocal microscopy in vivo.*

los nervios estromales se obtuvo del promedio de la porción más gruesa y la más angosta de cada nervio medido; no se midieron los nervios que presentaran bifurcaciones. Sólo se evaluaron los nervios estromales y no se midieron los nervios del plexo nervioso subepitelial.

## ► Resultados

Se obtuvieron 90 nervios estromales en foco de todos los escaneos realizados, que se mostraron como estructuras lineales, bien definidas e hiperreflécticas, rodeados por queratocitos en las imágenes de microscopía confocal del estroma de la córnea (**Figuras 1 y 2**). La disposición de los nervios estromales fue oblicua en 100% de todas las imágenes evaluadas, con diferentes grados de tortuosidad, porciones gruesas y angostas (**Figuras 1 y 2**).

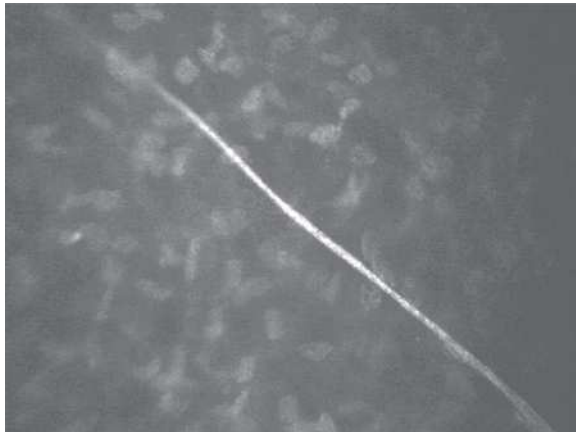
El promedio de espesor de los nervios estromales fue de  $5.9 \pm 1.7$  micras, con un rango de 3.4 a 10.5 micras. La porción de nervio estromal más angosta obtenida fue de 3.0 micras en tanto que la más gruesa fue de 12.9 micras.

## ► Discusión

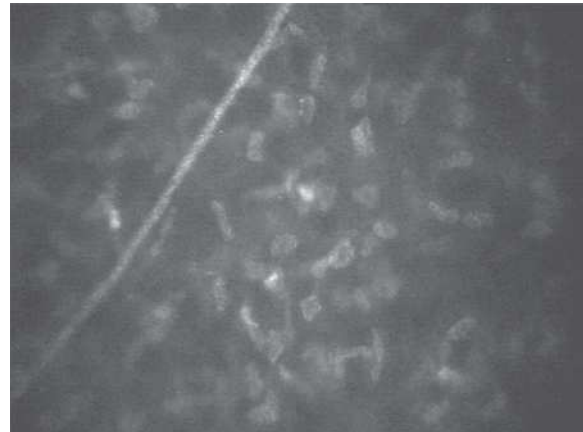
El estudio de los nervios corneales mediante microscopía confocal se ha centrado primordialmente al plexo nervioso subepitelial, tanto en condiciones normales,<sup>3,5</sup> como debido a los cambios que este plexo nervioso sufre secundarios a procesos tanto quirúrgicos como por trasplante de córnea,<sup>2</sup> cirugía refractiva<sup>4,6</sup> y enfermedades como el ojo seco.<sup>7</sup> En el presente estudio quisimos evaluar únicamente los nervios estromales corneales en condiciones normales y en ausencia de patología.

En condiciones normales, por microscopía confocal, en la córnea se pueden valorar diferentes

► **Figura 1.** Fotografía de microscopía confocal de un nervio estromal corneal en la que se observa su tortuosidad con porciones gruesas y angostas, rodeado por queratocitos (340 por 255 micras).



► **Figura 2.** Fotografía de microscopía confocal de un nervio estromal corneal en la que se observa su tortuosidad con porciones gruesas y angostas, rodeado por queratocitos (340 por 255 micras).



estructuras como el epitelio superficial, las células basales epiteliales, el plexo nervioso subepitelial, los núcleos de los queratocitos, así como las células endoteliales. Los nervios estromales no son la excepción<sup>8</sup> y en el presente estudio los observamos como estructuras lineales hiperreflécticas con tortuosidades que ya se han descrito en la literatura bibliografía<sup>7,8</sup> rodeadas de núcleos de queratocitos que se consideran normorreflécticos.<sup>8-10</sup>

El espesor de los nervios estromales de la córnea se ha estudiado en patologías en las que están anormalmente engrosados, como en el estudio de Mocan y colaboradores<sup>10</sup> que en pacientes diabéticos evidenciaron un promedio de espesor de nervios estromales corneales de  $8.99 \pm 2.32$  micras; no obstante, el grupo control de ese estudio presentó un espesor de nervios estromales corneales de  $5.69 \pm 2.32$ , semejante al obtenido en el presente estudio ( $5.9 \pm 1.7$  micras).

No se midieron los nervios estromales que presentaban bifurcaciones, para no sobreestimar el espesor de estas imágenes y que alterara el promedio real del espesor de los nervios estromales

corneales. Gracias a la microscopía confocal es posible estudiar estructuras corneales en condiciones normales *in vivo*.

## Referencias

1. Erie JC, McLaren JW, Patel SV. Confocal microscopy in ophthalmology. *Am J Ophthalmol* 2009;148:639-46.
2. Patel SV, Erie JC, McLaren JW, Bourne WM. Keratocyte and subbasal nerve density after penetrating keratoplasty. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2007;105:180-9. 3.
3. Erie EA, McLaren JW, Kittleson KM, et al. Corneal subbasal nerve density: a comparison of two confocal microscopes. *Eye Contact Lens* 2008;34:322-5.
4. Lee SJ, Kim JK, Seo KY, et al. Comparison of corneal nerve regeneration and sensitivity between LASIK and laser epithelial keratomileusis (LASEK). *Am J Ophthalmol* 2006;141:1009-1015.
5. Guthoff RF, Wiens H, Hahnel C, Wree A. Epithelial innervation of human cornea: a three-dimensional study using confocal laser scanning fluorescence microscopy. *Cornea* 2005;24:608-13.
6. Ramirez M, Hernandez-Quintela E, Sanchez-Huerta V, Naranjo-Tackman R. Confocal microscopy of corneal flap microfolds after LASIK. *J Refract Surg* 2006;22:155-8.
7. Villani E, Galimberti D, Viola F, Mapelli C, Ratiglia R. The cornea in Sjogren's syndrome: an *in vivo* confocal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:2017-22.
8. Sanchez-Huerta V, Ramirez M, Hernandez-Quintela E, Naranjo Tackman R. Microscopía confocal de la córnea. *Rev Mex Oftalmol* 2001;75:57-61.
9. Zhao C, Lu S, Truffert A, et al. Corneal nerves alterations in various types of systemic polyneuropathy, identified by *in vivo* confocal microscopy. *Klin Monbl Augenheilkd* 2008;225:413-7.
10. Mocan MC, Durukan I, Irkec M, Orhan M. Morphologic alterations of both the stromal and subbasal nerves in the corneas of patients with diabetes. *Cornea* 2006;25:769-73.