



---

# **Universidad de Valladolid**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Grado en Medicina**

**TRABAJO DE FIN DE GRADO**

**“Estudio de las Alteraciones Histopatológicas en el Epitelio Corneal en Pacientes con Queratocono”**

**Presentado por Juan Armando Molina Ortiz**

**Tutelado por los Dres. José Carlos López López y**

**José Carlos Pastor Jimeno**

**Curso 2017-2018**

## **RESUMEN**

El queratocono es un término clínico que designa una variación anatómica no inflamatoria de la córnea en la que ésta se altera adoptando una morfología cónica debido a su adelgazamiento y posterior protrusión.

La etiología del queratocono todavía no se ha aclarado en su totalidad, sin embargo, se cree que no es un proceso aislado ya que suele ser una manifestación de algunas patologías sistémicas y/o oculares. El avance en los conocimientos sobre el queratocono, el desarrollo de mejores técnicas de imagen y de nuevos procesos quirúrgicos permiten un diagnóstico mucho más precoz que en el pasado y unos tratamientos más adecuados.

Con esta revisión de muestras histológicas se intenta arrojar luz sobre el desarrollo de esta patología y concretar la existencia de patrones diagnósticos para conseguir una más precisa detección del queratocono.

**Palabras Clave:** Queratocono, córnea, histología, UHR-OCT.

## **ABSTRACT**

Keratoconus is a clinical term that describes a non-inflammatory anatomic variation of the cornea that assumes a conical morphology due to its thinning and protrusion.

Keratoconus etiology is still unknown, however, it is believed that this is not an isolated process since it is usually a manifestation of some systemic and/or ocular pathologies.

The development in knowledge about keratoconus, image techniques and new surgical procedures allow an earlier diagnosis than in the past and more suitable treatments.

This review of histological samples is intended to clarify the development of this pathology and to specify the existence of diagnostic patterns to achieve a more accurate detection of keratoconus.

**Key Words:** Keratoconus, cornea, histology, UHR-OCT.

## ÍNDICE

	<u>Página</u>
1. Introducción .....	1
2. Material y Métodos .....	4
3. Resultados .....	5
4. Discusión .....	14
5. Conclusiones .....	17
6. Bibliografía .....	18

## **1. INTRODUCCIÓN**

El queratocono es un término clínico que designa una alteración anatómica no inflamatoria de la cornea en la que ésta se deforma adoptando una morfología cónica debido a su adelgazamiento y posterior protrusión.

Atendiendo a un estudio realizado en Minnesota (Kennedy *et al.*, 1986) en el que se evaluó a la población del Condado de Olmsted mediante queratometría y el empleo de un movimiento “en tijera” en la retinoscopia, se estableció una prevalencia global del 0,054% (54 casos por cada 100.000 habitantes). Sin embargo, estudios más recientes como el de Godefrooij DA (Godefrooij *et al.*, 2017) estiman dicha prevalencia en 265 casos por cada 100.000 habitantes, lo cual nos lleva a observar diferencias significativas en comparación con los estudios previamente realizados, que establecen una frecuencia 5 a 10 veces menor respecto a los más recientes.

El queratocono comienza a desarrollarse en la pubertad, momento en el que se instaaura un astigmatismo irregular progresivo (de duración de hasta 10-20 años) debido al adelgazamiento y protrusión de la córnea.

En cuanto a la gravedad del cuadro, puede ir de un leve astigmatismo a una severa deformación corneal que requiera una queratoplastia para su corrección.

La etiología de esta enfermedad sigue siendo incierta, sin embargo, múltiples investigaciones han relacionado al queratocono con varias enfermedades sistémicas y oculares llevando al consecuente planteamiento de un abanico de teorías. Existe la posibilidad de que sea consecuencia de determinados procesos patológicos diferentes e, incluso, se acepta la influencia de factores genéticos (Krachmer *et al.*, 2011).

La patogenia también es algo incierta, pero, según algunos trabajos, el queratocono podría estar relacionado con alteraciones del epitelio y del estroma corneales:

- Scroggs fue quien demostró el adelgazamiento corneal central en pacientes con queratocono (Scroggs y Proia, 1992).

- Bureau estableció la gran sensibilidad a la apoptosis inducida por citocinas en los queratocitos corneales con queratocono de pacientes, así como que no existen genes aislados que promuevan el desarrollo del queratocono sino una combinación de ellos (Bureau *et al.*, 1993).
- Tuori fue quien observó un estroma desestructurado junto a las roturas de la membrana de Bowman que pueden aparecer en el queratocono (Tuori *et al.*, 1997).

En cuanto al tratamiento, éste se basa en el estado de evolución de la enfermedad y en la deformidad de la córnea. Atendiendo a ello se definen una serie de opciones terapéuticas:

- En estadios poco avanzados se indica una corrección visual mediante gafas o lentes de contacto rígidas; otras opciones son los anillos intraestromales o el “*cross-linking*” (potenciar las uniones entre el colágeno mediante el uso de riboflavina y la polimerización mediante radiación ultravioleta).
- Mientras que en estadios muy evolucionados se recomienda la queratoplastia, ya que las técnicas anteriormente mencionadas no son capaces de regularizar suficientemente la córnea (Bravo, 2009).

El diagnóstico del queratocono se consigue mediante la sospecha clínica gracias a la exploración física y anamnesis, y la topografía corneal, que es un procedimiento indispensable para el diagnóstico precoz y su seguimiento (Pauné *et al.*, 2009). Actualmente existen técnicas de imagen utilizadas en el diagnóstico del queratocono como la microscopía confocal, los ultrasonidos y la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT), las cuales permiten el estudio in vivo y permiten comprobar la existencia de anomalías corneales. Con todo esto se consigue un mejor seguimiento y un diagnóstico aun más precoz de la enfermedad (Xu *et al.*, 2016).

Por todo esto y debido al desconocimiento existente acerca del desarrollo del queratocono, es de gran ayuda la elaboración de una investigación con el fin de conocer la fisiopatología de esta enfermedad, así como detectar posibles patrones anatomopatológicos con el fin de realizar un diagnóstico directo y preciso, pudiendo comparar dichos resultados con los obtenidos en pruebas

complementarias como el OCT (siglas en inglés de Tomografía de Coherencia Óptica), técnica de exploración introducida en Oftalmología en 1995 y cuyo desarrollo técnico imparable está modificando algunos paradigmas.

Con este trabajo se pretende demostrar que a partir de estudios con Tomografía de Coherencia Óptica de Ultra Alta Resolución realizados en pacientes con sospecha de queratocono se podrían detectar patrones epiteliales y de esta manera llevar a cabo un diagnóstico precoz del mismo para poder iniciar un tratamiento temprano de la enfermedad con el fin de evitar su progresión.

## **2. MATERIAL Y MÉTODOS**

Para llevar a cabo esta investigación, se utilizaron 25 preparaciones teñidas con Hematoxilina-Eosina y PAS consistentes en cortes histológicos de pacientes diagnosticados de queratocono que necesitaron de un trasplante de córnea debido a la evolución de su enfermedad.

Se realizó una búsqueda en la base de datos PAT-Win del Laboratorio de Anatomía Patológica Ocular del Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de todas aquellas córneas almacenadas con diagnóstico de queratocono entre los años 2008-2014 y se seleccionaron 25 preparaciones. Se obtuvo la autorización tanto del Comité de Investigación del IOBA como del Comité Ético de Investigación Clínica. Las muestras se trataron de manera anonimizada utilizando como referencia el número de biopsia asignado a cada córnea por el laboratorio.

Una vez seleccionadas las muestras, se analizaron las siguientes características:

- Comparación del número de capas epiteliales a nivel central y en la periferia. Se empleó la siguiente clasificación:
  - Si existía una diferencia de 3 o más capas se clasificó como “Moderada-Severa”.
  - Si ésta era de 2 capas, se catalogó como “Leve-Moderada”.
  - Si era menor de 2 capas, se clasificó en la categoría “No hay diferencias”.
- Existencia de hipertrofia o atrofia del epitelio corneal.
- Aparición de edema a nivel del epitelio, así como su extensión.
- Presencia de roturas en la membrana de Bowman y contaje de éstas.

Se realizó además una medición en micras del espesor corneal total y del espesor del epitelio en la zona central y en la periferia utilizando el software Leica Application Suite (Leica Microsystems, Wetzlar Alemania).

Para completar el estudio, se realiza una tinción de Perls para la detección de depósitos de hierro en el epitelio corneal en aquellas muestras de las que se pudo extraer cortes histológicos.

### 3. RESULTADOS

Nº Muestra	Nº Capas Centro	Nº Capas Periferia	Diferencias entre Centro y Periferia
09B109	6	7	No hay diferencias
09B125	3	5	Ligera-Moderada
10B9	5	3	Ligera-Moderada
10B56	5	2	Moderada-Severa
10B75	1	4	Moderada-Severa
10B97	2	3	No hay diferencias
10B145	5	4	No hay diferencias
11B16	4	4	No hay diferencias
11B75	5	4	No hay diferencias
11B76	3	4	No hay diferencias
11B77	2	5	Moderada-Severa
11B104	6	4	Ligera-Moderada
11B106	4	5	No hay diferencias
11B112	5	5	No hay diferencias
12B46	2	4	Ligera-Moderada
12B89	4	3	No hay diferencias
12B109	5	3	Ligera-Moderada
12B133	4	3	No hay diferencias
12B134	6	3	Moderada-Severa
12B156	4	3	No hay diferencias
12B164	1	4	Moderada-Severa
12B169	4	2	Moderada-Severa
12B175	1	5	Moderada-Severa
12B177	6	3	Moderada-Severa
12B180	4	5	No hay diferencias

**Tabla 1. Contaje del número de capas de células epiteliales tanto en la zona central como periferia de la córnea, así como una clasificación teniendo en cuenta la diferencia existente entre ambas zonas.**



<b>Nº Muestra</b>	<b>Roturas en Membrana Bowman (nº)</b>	<b>Localización del Edema</b>
<b>09B109</b>	Sí (6)	Localizado en la Parte Basal del Epitelio + Bulla Subepitelial
<b>09B125</b>	Sí (7)	Localizado en la Parte Basal del Epitelio
<b>10B9</b>	Sí (2)	Localizado en la Parte Basal del Epitelio
<b>10B56</b>	Sí (4)	Intraepitelial
<b>10B75</b>	Sí (8)	Localizado en la Parte Basal del Epitelio+ Bulla Subepitelial
<b>10B97</b>	Sí (6)	Bulla Subepitelial
<b>10B145</b>	Sí (1)	Intraepitelial
<b>11B16</b>	Sí (3)	Intraepitelial
<b>11B75</b>	No (0)	No edema
<b>11B76</b>	No (0)	No edema
<b>11B77</b>	Sí (1)	No edema
<b>11B104</b>	No (0)	Intraepitelial
<b>11B106</b>	Sí (3)	Localizado en la Parte Basal del Epitelio+ Bulla Subepitelial
<b>11B112</b>	Sí (2)	No edema
<b>12B46</b>	No (0)	No edema
<b>12B89</b>	No (0)	Intraepitelial
<b>12B109</b>	No (0)	Bulla Subepitelial
<b>12B133</b>	Sí (2)	Localizado en la Parte Basal del Epitelio
<b>12B134</b>	Si (7)	Localizado en la Parte Basal del Epitelio+ Bulla Subepitelial
<b>12B156</b>	No (0)	Localizado en la Parte Basal del Epitelio
<b>12B164</b>	No (0)	Localizado en la Parte Basal del Epitelio
<b>12B169</b>	Sí (2)	Localizado en la Parte Basal del Epitelio
<b>12B175</b>	Sí (2)	Intraepitelial
<b>12B177</b>	Sí (3)	No edema
<b>12B180</b>	No (0)	Bulla Subepitelial

**Tabla 2. Recopilación del número de roturas a nivel de la membrana de Bowman y localización del edema en el epitelio corneal.**

<b>Nº Muestra</b>	<b>Espesor Corneal Central(<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Espesor Corneal Periférico(<math>\mu\text{m}</math>)</b>
09B109	261	723
09B125	293	689
10B9	398	798
10B56	288	905
10B75	315	695
10B97	152	696
10B145	441	763
11B16	218	750
11B75	235	788
11B76	225	545
11B77	174	567
11B104	305	828
11B106	194	675
11B112	376	626
12B46	262	743
12B89	365	754
12B109	345	522
12B133	297	911
12B134	196	640
12B156	457	875
12B164	320	727
12B169	337	541
12B175	205	747
12B177	288	651
12B180	327	776
<b>Media</b>	291,0	717,4
<b>Desviación Estándar</b>	80,5	107,0
<b>Máximo</b>	457	911
<b>Mínimo</b>	152	522

Tabla 3. Registro de las medidas del espesor corneal total en micras ( $\mu\text{m}$ ) en el centro y la periferia junto a media, desviación estándar, espesor máximo y espesor mínimo.

<b>Nº Muestra</b>	<b>Espesor Epitelio Central (µm)</b>	<b>Espesor Epitelio Periférico(µm)</b>
09B109	68,9	71,3
09B125	41,7	34,7
10B9	150,6	33,6
10B56	77,9	34,7
10B75	14,1	49,2
10B97	25,4	36,7
10B145	50,7	37,1
11B16	30,8	29,7
11B75	21,8	76,1
11B76	28,8	23
11B77	18,1	53,7
11B104	37,5	41
11B106	31,9	35,5
11B112	46	50,1
12B46	24,7	48,3
12B89	37,9	28
12B109	58,4	37,2
12B133	44,6	21,1
12B134	18,2	35,1
12B156	33,7	40,4
12B164	16,7	37,8
12B169	41,1	35,1
12B175	31,2	39,7
12B177	72,1	33
12B180	43,8	49,1
<b>Media</b>	42,7	40,4
<b>Desviación Estándar</b>	28,3	12,8
<b>Máximo</b>	150,6	76,1
<b>Mínimo</b>	14,1	21,1

Tabla 4. Registro de las medidas del espesor del epitelio corneal en micras (µm) en el centro y la periferia junto a media, desviación estándar, espesor epitelial máximo y espesor epitelial mínimo.

<b>Tipo 1</b>	<b>Tipo 2</b>	<b>Tipo 3</b>
10B9	09B109	09B125
10B56	10B97	10B75
11B104	10B145	11B75
12B109	11B16	11B77
12B169	11B76	12B46
12B177	11B106	12B134
	11B112	12B164
	12B89	12B175
	12B133	
	12B156	
	12B180	
<b>TOTAL</b>		
<b>6/25</b>	<b>11/25</b>	<b>8/25</b>
<b>Tabla 5. Clasificación de las muestras según el tipo de patrón epitelial.</b>		

Después de analizar las distintas muestras, se realizó una clasificación en los tres patrones descritos en la tabla 5 tras realizar una comparación entre el epitelio corneal de la zona central y el de la región periférica.

Los resultados fueron los siguientes:

### Patrón tipo 1: Hiperplasia del Epitelio Corneal Central.

6/25 (24%)

Media del Epitelio Corneal a Nivel Central → 58,9 μm

Media del Epitelio Corneal a Nivel Periférico → 35,8μm



**Figura 1. Patrón tipo 1 (HE 40x).**

A): Imagen Izquierda. Epitelio corneal en zona central que cuenta con 6 capas.

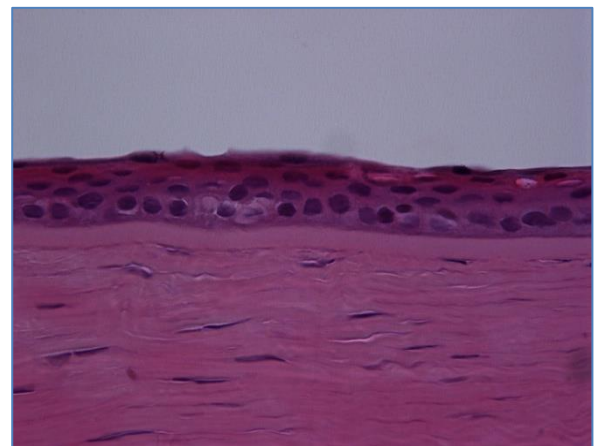
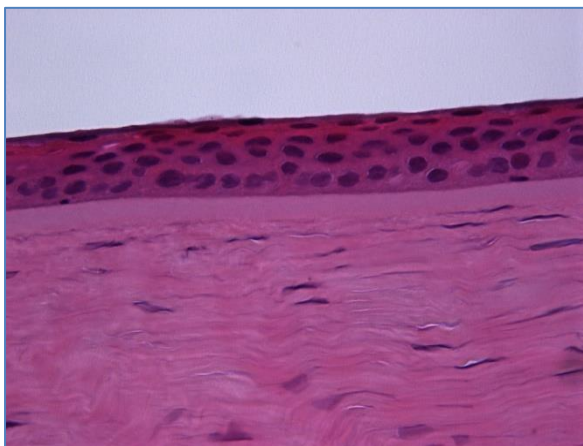
B): Imagen Derecha. Epitelio corneal en zona periférica que cuenta con 4 capas.

### Patrón tipo 2: Espesor similar en zona Central y Periférica del Epitelio Corneal.

11/25 (44%)

Media del Epitelio Corneal a Nivel Central → 37,4 μm

Media del Epitelio Corneal a Nivel Periférico → 38,4μm



**Figura 2. Patrón tipo 2 (HE 63x).**

A): Imagen Izquierda. Epitelio corneal en zona central que cuenta con 4 capas.

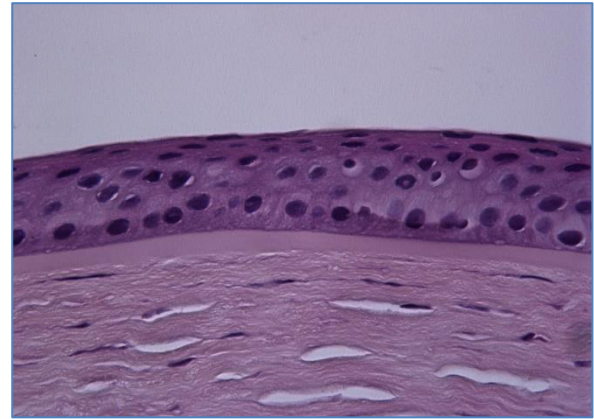
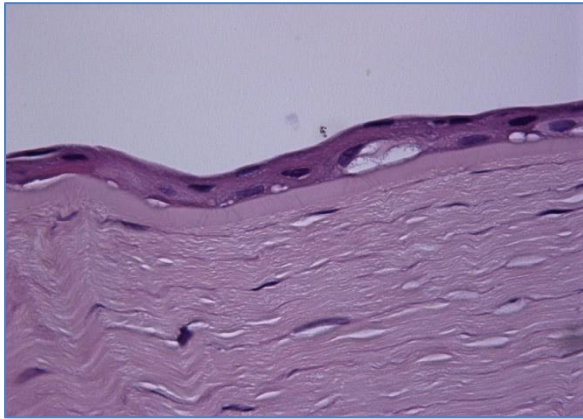
B): Imagen Derecha. Epitelio corneal en zona periférica que cuenta también con 4 capas.

**Patrón tipo 3: Atrofia del Epitelio Corneal Central.**

**8/25 (32%)**

Media del Epitelio Corneal a Nivel Central → 23,3μm

Media del Epitelio Corneal a Nivel Periférico → 40,9μm

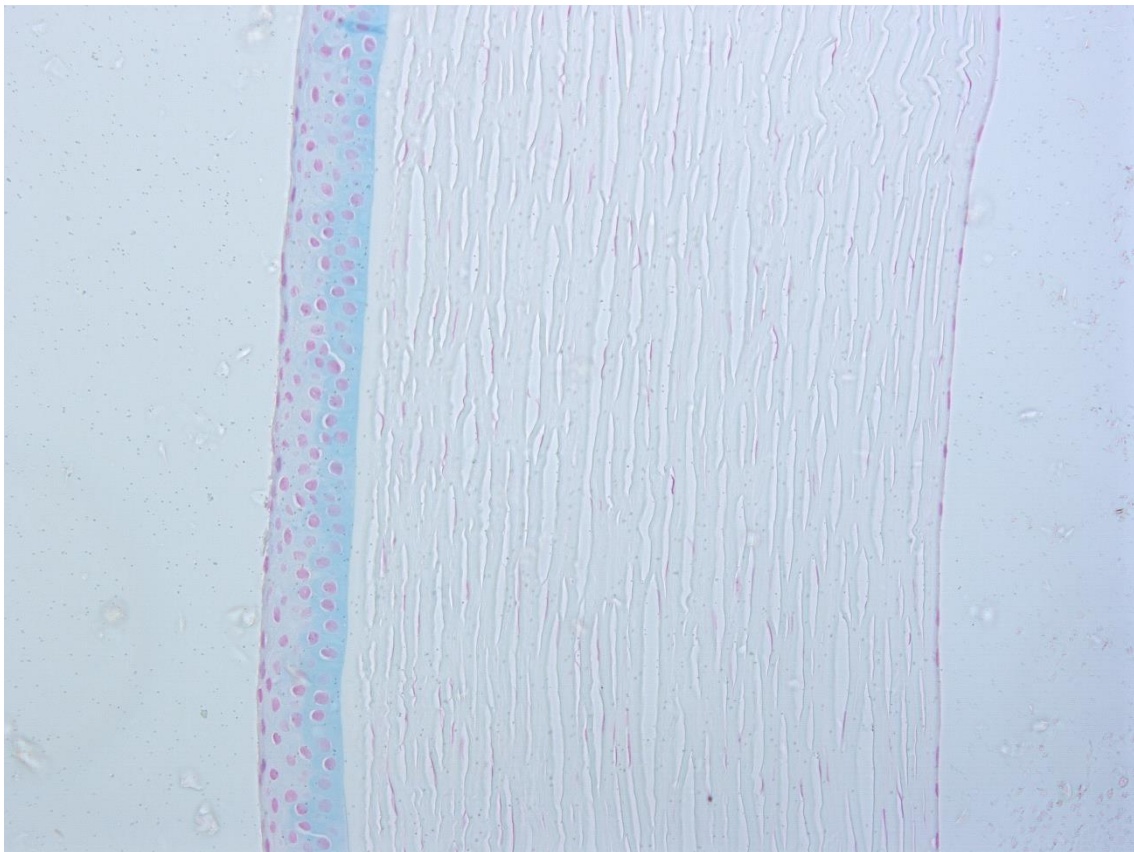


**Figura 3. Patrón 3 (HE 60x).**

*A): Imagen Izquierda. Epitelio corneal en zona central que cuenta con 2 capas.*

*B): Imagen Derecha. Epitelio corneal en zona periférica que cuenta con 5 capas.*

Además, el análisis de las córneas con la técnica de Perls permitió demostrar la existencia de depósitos de hierro en 11 de las 21 muestras en las había tejido disponible y se pudo realizar esta tinción. Los depósitos de hierro se tiñen de color azul con esta técnica. Fundamentalmente, el hierro se encuentra en la zona central del epitelio y abarca las capas celulares más próximas a la membrana de Bowman, sin embargo, en algunas muestras como la de la figura 4, el depósito de hierro aparece en todo el espesor del epitelio.



**Figura 4. Tinción de Perls de la muestra 10B56 en la que se evidencian depósitos de hierro en el epitelio central de la córnea.**



<b>Nº Muestra</b>	<b>Existencia de Muestra para Tinción con Perls</b>	<b>Resultado de Tinción con Perls</b>
09B109	Sí	Positivo
09B125	Sí	Positivo
10B9	Sí	Negativo
10B56	Sí	Positivo
10B75	Sí	Positivo
10B97	Sí	Negativo
10B145	Sí	Negativo
11B16	Sí	Positivo
11B75	No	
11B76	Sí	Negativo
11B77	Sí	Negativo
11B104	No	
11B106	Sí	Negativo
11B112	Sí	Positivo
12B46	Sí	Negativo
12B89	Sí	Positivo
12B109	No	
12B133	No	
12B134	Sí	Positivo
12B156	Sí	Negativo
12B164	Sí	Positivo
12B169	Sí	Positivo
12B175	Sí	Negativo
12B177	Sí	Positivo
12B180	Sí	Negativo

Tabla 6. Disponibilidad de tejido para la tinción de Perls y resultados obtenidos con esta técnica.



#### **4. DISCUSIÓN**

A lo largo del proceso de investigación histórico sobre el desarrollo del queratocono, la gran mayoría de los autores han coincidido en que se trata de una alteración a nivel del estroma corneal, sin embargo, ya en el 1956, (Chi *et al.*, 1956) demostró que el epitelio también estaba involucrado. Teng (1963) descubrió que los cambios más precoces aparecían en las células basales del epitelio como se recoge en la revisión de Mathew *et al.*, 2011.

Sherwin y Brookes (2004) realizaron una recopilación de datos que apuntaba que la existencia de modificaciones a nivel del epitelio y membrana basal son intensamente representativas de esta patología. De esta forma, destacaron los siguientes estudios:

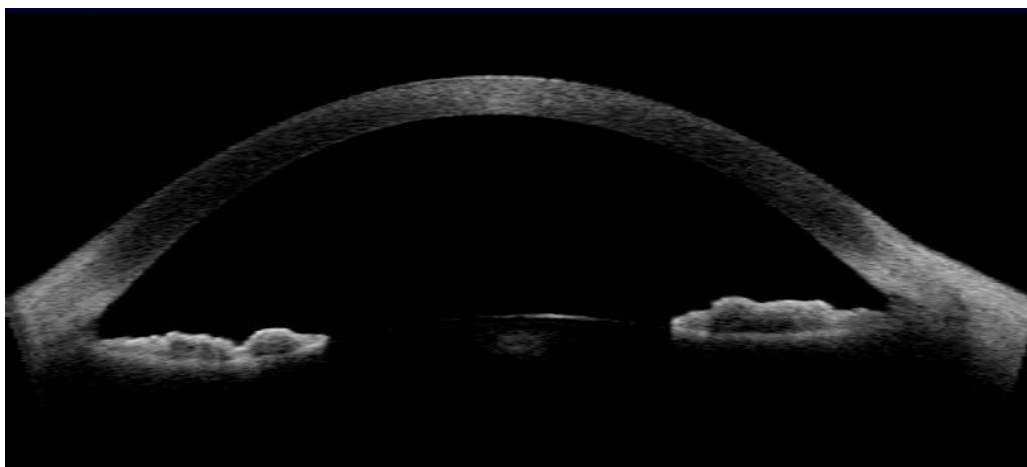
- Kaldawy (2002) demostró la ausencia de total continuidad a nivel del epitelio basal en el queratocono.
- Duke Elder (1965) describió un menor espesor a nivel del ápex corneal desde la mitad hasta una quinta parte del espesor normal, así como rupturas en la membrana de Bowman en muestras con patología en estadios más avanzados. También comentó la existencia de cicatrices superficiales por rotura de la membrana de Bowman y la aparición del anillo de Fleischer, que describió como un trazado lineal que recorre la base del cono.

Tras la lectura de los descubrimientos por Duke Elder, Sherwin continuó con su recogida de información sobre las variaciones del epitelio, tanto del adelgazamiento del epitelio corneal central como de su engrosamiento e incluso de aquellos en los que no había diferencias entre los epitelios entre los casos y controles.

El estudio de Erie (Erie *et al.*, 2002) concluyó que no había diferencias en el grosor epitelial entre corneas patológicas y control. Posteriormente, Mathew J.H. (Mathew *et al.*, 2011) a partir del estudio de 12 muestras de córneas de pacientes con queratocono pudo comprobar que la zona periférica solo se veía afectada en aquellos casos en los que había modificaciones en la zona central de la córnea.

Más tarde, Brautaset, como aparece en el artículo de A. Alkanaa *et al.*, 2017, demuestra con un estudio que el número de capas es significativamente menor en el área central frente a la periférica, así como la existencia de mayores y más intensificadas ondulaciones estromales en la zona central. Por tanto, vemos que los hallazgos encontrados a nivel del epitelio corneal son contradictorios.

En nuestro estudio histológico, hemos diferenciado tres patrones diferentes en el epitelio corneal del queratocono: un patrón de hiperplasia del epitelio central, otro de atrofia central y otro en el que el espesor tanto del centro como de la periferia son similares. El empleo de lentes de contacto, así como otros métodos terapéuticos como el “*cross-linking*” corneal son muy dependientes de las propiedades del epitelio, con diferentes grados de éxito y fracaso del tratamiento (Antoun *et al.*, 2015).



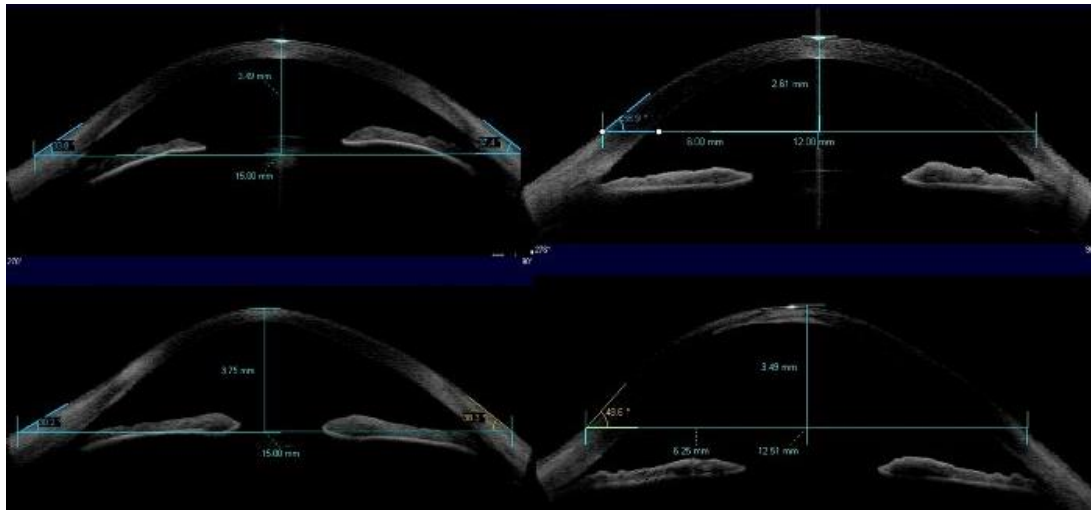
**Figura 5. OCT de la córnea de un paciente sano.<sup>1</sup>**

La OCT es un instrumento que permite el estudio in vivo de la córnea. Sin embargo, todavía carece de la resolución requerida para poder estudiar minuciosamente las capas del epitelio corneal. En esta situación surge la Tomografía de Coherencia Óptica de Ultra Alta Resolución (UHR-OCT), con la cual ha sido posible describir el patrón “en donut” que refleja un

---

<sup>1</sup>De Orta-Arellano F, Muñoz-Rodríguez P and Salinas-Gallegos JL (2011). Measurement of Anterior Chamber Angle with Optical Coherence Tomography, *The Mystery of Glaucoma*, Dr. Tomas Kubena (Ed.), ISBN: 978- 953-307-567-9, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/the-mystery-of-glaucoma/measurement-of-anterior-chamber-angle-with-optical-coherence-tomography>

adelgazamiento central y un engrosamiento periférico del epitelio corneal (Xu *et al.*, 2016). Este avance es de gran importancia debido a que ayuda a la toma de decisiones y al seguimiento evolutivo de la enfermedad (Werkmeister *et al.*, 2017), ya que es capaz de detectar córneas con queratocono subclínico que mediante la topografía serían imposibles de detectar (Xu *et al.*, 2016).



**Figura 6. Comparativa de imágenes obtenidas con OCT en paciente normal (imágenes superiores) frente a las obtenidas en paciente con queratocono (imágenes inferiores).<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>El uso de la OCT en la medición de la profundidad sagital y la forma escleral del Queratocono. Publicado el 30 septiembre, 2013 por [Javier Sebastián](#). Sección Optometría Clínica, Contactología y Baja Visión. Available from: <http://www.qvision.es/blogs/javier-sebastian/files/2013/09/Oct-en-Qc.jpg>

## **5. CONCLUSIONES**

En este estudio hemos encontrado tres patrones histológicos diferentes, los cuales no habían sido descritos previamente, en el epitelio corneal de pacientes con diagnóstico de queratocono que precisaron trasplante de córnea.

Teniendo en cuenta los avances actuales en las técnicas de imagen, creemos que con el empleo de la OCT de Ultra Alta Resolución (UHR-OCT) se podrían detectar estos tres patrones histológicos *in vivo* y realizar un diagnóstico precoz de esta enfermedad, así como evaluar la opción terapéutica más adecuada en cada caso.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Kennedy RH, Bourne WM, Dyer JA. *A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus*. Am J Ophthalmol.1986; 101: 267-273.
- Godefrooij DA, de Wit GA, Uiterwaal CS, Imhof SM, Wisse RP. *Age-specific Incidence and Prevalence of Keratoconus: A Nationwide Registration Study*. Am J Ophthalmol. 2017; 175: 169-172.
- Scroggs MW, Proia AD. *Histopathological variation in keratoconus*. Cornea.1992; 11: 553-559.
- Bureau J, Fabre EJ, Hecquet C, Pouliquen Y, Lorans G. *Modification of prostaglandin E2 and collagen synthesis in keratoconus fibroblasts, associated with an increase of interleukin 1 alpha receptor number*. C R Acad Sci III. 1993; 316:425–430.
- Tuori AJ, Virtanen I, Aine E, Kalluri R, Miner JH, Uusitalo HM. *The immunohistochemical composition of corneal basement membrane in keratoconus*. CurrEye Res. 1997; 16: 792-801.
- Bravo SM. *Una revisión del queratocono*. Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular. 2009; 7: 95-106.
- Mathew JH, Goosey JD, Bergmanson JP. *Quantified histopathology of the keratoconic cornea*. Optom Vis Sci. 2011; 8: 988-997.
- Sherwin T, Brookes NH. *Morphological changes in keratoconus: pathology or pathogenesis*. ClinExpOphthalmol. 2004; 32: 211-217.
- Kaldawy RM, Wagner J, Ching S, Seigel GN. *Evidence of apoptotic cell death in keratoconus*. Cornea. 2002; 22: 206-209.
- Erie JC, Patel SV, McLaren JW, Nau CB, Hodge DO, Bourne WM. *Keratocyte density in keratoconus. A confocal microscopy study*. Am J Ophthalmol. 2002; 13: 689–695. [https://doi.org/10.1016/S0002-9394\(02\)01698-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9394(02)01698-7).
- Alkanaa A, Barsotti R, Kirat O, Almubrad T, Khan A, Akhtar S. *Ultrastructural study of peripheral and central stroma of keratoconus cornea*. Br J Ophthalmol. 2017; 101: 845-850. doi: 10.1136/bjophthalmol-2016-309834. Epub 2017 Apr 17.

- Pauné Fabré J, Palomar Mascaró F. *Índices actuales en la detección del queratocono por análisis de la topografía corneal*. Gaceta Óptica. 2009; 436: 22-26.
- Xu Z, Jiang J, Yang C, Huang S, Peng M, Li W, Cui L, Wang J, Lu F, Shen M. *Value of corneal epithelial and Bowman's layer vertical thickness profiles generated by UHR-OCT for sub-clinical keratoconus diagnosis*. Sci Rep. 2016; 6: 315-350.
- Bizheva K, Hutchings N, Sorbara L, Lee L, Moayed AA, Simpson T. *In vivo volumetric imaging of the human corneo-scleral limbus with spectral domain OCT*. Biomed Opt Express. 2011; 2: 1794-1802 doi: 10.1364/BOE.2.001794. Epub 2011 Jun 1.
- Antoun J, Slim E, El Hachem R, Chelala E, Jabbour E, Cherfan G, Jarade EF. *Rate of corneal collagen crosslinking redo in private practice: risk factors and safety*. JOphthalmol. 2015; 2015: 690961. doi: 10.1155/2015/690961. Epub 2015 Mar 19
- Werkmeister RM, Sapeta S, Schmidl D, et al. *Ultrahigh-Resolution OCT imaging of the human cornea*. Biomed Opt Express. 2017; 8: 1221-1239.