

## Microscopia endotelial manual y automatizada: estudio comparativo en adultos sin alteraciones corneales

Manual and automated endothelial microscopy in adults without corneal alterations

Michel Guerra Almaguer<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1542-9091>

Rosaly González González<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5878-1968>

Taimi Cárdenas Díaz<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-3220-4553>

Carmen María Padilla González<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-2688-1857>

Arelys Ariocho Cambas Andreu<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1000-9028>

<sup>1</sup>Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Hospital Clínicoquirúrgico "Calixto García". La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [michguerra@infomed.sld.cu](mailto:michguerra@infomed.sld.cu)

### RESUMEN

**Objetivo:** Comparar los resultados de los parámetros morfológicos y morfométricos del endotelio corneal a través de la microscopia especular a partir de la utilización del conteo manual y automatizado.

**Métodos:** Se realizó un estudio descriptivo, observacional, de corte transversal de serie de casos en adultos sin alteraciones corneales, en el Servicio de Cirugía Refractiva del Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer", en el periodo comprendido de enero de 2019 a enero de 2020. Se estudiaron un total de 50 adultos (100 ojos), de los cuales 50 fueron ojos derechos y 50 ojos izquierdos. Se emplearon los porcentajes y los números absolutos para resumir

las variables cualitativas. En el caso de las cuantitativas, se utilizó la media con su desviación estándar.

**Resultados:** El 46 % fue del sexo femenino y el 54 % del sexo masculino. Los parámetros morfométricos, como la paquimetría central, fue igual en ambos conteos. A su vez, se obtuvieron mayores valores de densidad endotelial con el conteo automatizado. En los parámetros morfológicos se registró que la hexagonalidad fue superior en el conteo manual y el coeficiente de variabilidad en el conteo automatizado. Las diferencias más marcadas resultaron en el tamaño mínimo, en el máximo y en el promedio de las células endoteliales corneales, con variaciones entre los dos conteos.

**Conclusiones:** Queda demostrado que tanto el conteo manual como el automatizado para el estudio del endotelio corneal pueden ser aplicados en la práctica oftalmológica.

**Palabras clave:** Microscopia especular; endotelio corneal; conteo celular endotelial.

## ABSTRACT

**Objective:** Compare the results of morphological and morphometric parameters of the corneal endothelium using specular microscopy with manual and automated counting.

**Methods:** A cross-sectional observational descriptive study was conducted of a case series of adults without corneal alterations attending the Refractive Surgery Service at Ramón Pando Ferrer Cuban Institute of Ophthalmology from January 2019 to January 2020. A total 50 adults were studied (100 eyes: 50 right and 50 left). Percentages and absolute numbers were used to summarize qualitative variables, whereas quantitative variables were evaluated with means and standard deviations.

**Results:** Of the patients studied, 46% were female and 54% were male. Morphometric parameters such as central pachymetry were the same in both countings. Automated counting yielded higher endothelial density values.

Morphological parameters showed that hexagonality was greater in manual counting, whereas the coefficient of variability was greater in automated counting. The most obvious differences were observed in minimum size, maximum size and average corneal endothelial cells, with variations between the two countings.

**Conclusions:** It was shown that both manual and automated counting may be used for examination of the corneal endothelium in ophthalmic practice.

**Key words:** Specular microscopy; corneal endothelium; endothelial cell count.

Recibido: 24/05/2021

Aceptado: 02/06/2021

## Introducción

La microscopia endotelial es un proceder diagnóstico de gran utilidad clínica y es la modalidad semiológica más objetiva para evaluar clínicamente el endotelio corneal, lo que facilita la visualización de las células endoteliales corneales sin alterar su morfología ni su función.<sup>(1,2,3,4,5)</sup>

Se trata de una prueba no invasiva que permite valorar las características celulares *in vivo*, tanto en pacientes como en tejido corneal, con la finalidad del trasplante, y mide la reserva endotelial y la salud general del endotelio que puede estar afectada por determinadas enfermedades oculares y sistémicas.<sup>(5)</sup>

Desde el año 1919 se visualizó el endotelio corneal mediante el método de biomicroscopia especular, ideado por *Vogt*. En 1924, *Graves* utilizó un método similar para describir la alteración endotelial de Fuchs. En 1968, *David Maurice* fotografió la superficie posterior de la córnea de un conejo después de su enucleación y obtuvo una imagen del endotelio corneal. *Laing*, en 1975, a partir

de modificaciones hechas al microscopio especular ideado por *Maurice* pudo fotografiar el endotelio, *in vivo*, del ser humano. Su método permitió obtener imágenes con una magnificación 200 veces mayor con un haz de luz estrecho. La utilización de la informática facilitó desarrollar, en la década de los 90, el primer sistema de análisis del endotelio corneal.<sup>(6,7)</sup>

El análisis de las imágenes especulares se puede realizar de manera cualitativa, mediante la morfología celular o de manera cuantitativa, mediante un recuento endotelial y un análisis morfométrico.<sup>(6,8)</sup> Con este proceder se obtienen imágenes con gran amplificación de las células endoteliales sin alterar su función ni su morfología.<sup>(1,5)</sup>

La tecnología actual de la microscopia especular de no contacto reduce el riesgo de daño epitelial de la córnea, las infecciones y la presencia de artefactos, y su realización es fácil de hacer. Los parámetros que pueden calcularse y de mayor interés son: paquimetría, densidad endotelial, coeficiente de variación y hexagonalidad.

Actualmente existen varios microscopios especulares de no contacto. Entre ellos pueden citarse el SP 2000P producido por Topcon Corp, en Tokio, Japón. El SP (1P), Topcon, es un nuevo modelo de microscopio especular que introduce un procedimiento de captura totalmente automático junto con un diseño moderno y ergonómico que facilita su uso y aumenta su eficiencia. Otro de los microscopios especulares de no contacto es el *Cell Chek* SL fabricado en el año 2014. Existen también el CEM-530, procedente de Japón, y el Perseus, de Italia.<sup>(9,10,11,12)</sup>

En esta investigación se utilizó el microscopio especular SP 3000P, fabricado por Topcon Medical Systems Inc., de origen estadounidense. Es uno de los microscopios de no contacto más empleados en Cuba. Posee una rápida alineación automática en tercera dimensión y centra el instrumento a la

distancia precisa de trabajo para obtener imágenes sistemáticas y repetibles. Sus cinco objetivos de fijación permiten realizar mediciones simultáneas, además de un monitor en color integrado. Dispone de tres modos para la captura de imágenes (automático, semiautomático y manual). Es de fácil uso, fiable, y aporta comodidad al paciente.<sup>(13)</sup>

Es necesario destacar que la base de los datos que genera este microscopio se obtiene a partir del recuento celular. Por tal motivo, es indispensable realizar este proceder. Se puede ejecutar de forma manual o digitalizada. En la forma manual el oftalmólogo, a partir de la imagen que captura el equipo, identifica y selecciona un grupo de 50 a 100 células endoteliales continuas, que serán las que el equipo considerará para hacer el cálculo del resto de los parámetros que se miden (paquimetría, hexagonalidad, densidad, entre otros).<sup>(5)</sup>

Para ejecutar el conteo celular de forma digitalizada es necesaria la instalación de un *software* denominado *Endothelial Analysis Software Cell Count*, en un ordenador que debe estar acoplado al SP-3000P. El *Software Cell Count* proporciona una mayor precisión en el análisis según su fabricante. En este caso el oftalmólogo, a partir de la captura de la imagen, lo único que debe hacer es presionar el botón DATA en el microscopio en vez de hacer el cálculo manual.<sup>(8)</sup>

El *software* selecciona la cantidad de células y a partir de ahí ofrece los valores del resto de los parámetros. Es importante descartar que el SP-3000P no realiza el conteo de células de manera automática, pero sí genera el estado del resto de los parámetros de forma automática. El conteo digitalizado solo es posible con la utilización del *software Cell Count*, que además también puede generar el resto de los valores.<sup>(8)</sup>

Para el conteo digitalizado de células, el *Cell Count* selecciona todas las células que distingue de la imagen sin tener en cuenta un número fijo, pero sí en el rango de 70 a 120 células. El oftalmólogo tiene la posibilidad de visualizar la

selección que hace el *software* y corregirla. Esta corrección es a criterio de especialista, pues muchas veces el programa, por el contraste de la foto, interpreta varias células como una sola. El oftalmólogo tiene la posibilidad de marcarlas como independientes.

Este *software* tiene varias ventajas. Procesa la información de manera más rápida, además, guarda los resultados en el ordenador para ser posteriormente utilizados. Generalmente selecciona un numeroso grupo de células, lo que supuestamente aumenta la confiabilidad de los parámetros medidos. Además, ofrece la alternativa de trazar y corregir manualmente los límites celulares en la pantalla del ordenador.<sup>(8)</sup> A partir de aquí el oftalmólogo también puede realizar un conteo manual de células endoteliales. Cubre todas las necesidades del análisis de estas células gracias a su fiabilidad y a su amplia diversidad de opciones.<sup>(5,8)</sup> Sin embargo, tiene algunas desventajas.

La diferencia de la práctica del conteo de células (manual o automatizada) no se ha estudiado con profundidad con la utilización del microscopio SP 3000P. En estudios internacionales, *Piñero Llorens*<sup>(14)</sup> presenta resultados comparativos entre *Noncom Robo* y *Specular Microscope CSO*, lo que plantea que el procedimiento automático del microscopio CSO resulta equivalente al procedimiento manual del microscopio Noncom Robo para el análisis morfológico del endotelio corneal, al existir solo divergencias en el cálculo del porcentaje de hexagonalidad.

En el ámbito nacional existe un estudio realizado por *Cambas Andreu*<sup>(8)</sup> con la utilización del microscopio SP 3000P, donde se compara el conteo manual con el conteo digitalizado a partir de la realización de ajustes al conteo automatizado. Los resultados destacan que la opción de trazar manualmente los límites celulares en la pantalla del ordenador, para el análisis de los parámetros cuantitativos del endotelio corneal, resulta efectiva durante la realización de la microscopia especular.

En el Instituto Cubano de Oftalmología se han realizado otros estudios de conteo celular que utilizan el microscopio especular SP-3000P,<sup>(5,15)</sup> pero no en función de comparar el conteo de células de forma manual y automatizada. La mayoría de las publicaciones existentes en Cuba solo describen los resultados de algunos parámetros a partir del conteo celular en determinadas poblaciones.<sup>(16,17,18,19,20)</sup>

## Métodos

Se realizó un estudio descriptivo, observacional, de corte transversal de serie de casos, en 100 ojos de adultos sin alteraciones corneales. La investigación se desarrolló en el Servicio de Cirugía Refractiva del Instituto Cubano de Oftalmología en el periodo comprendido de enero de 2019 a enero de 2020.

El estudio tuvo como propósito fundamental comparar los resultados de los parámetros morfológicos y morfométricos del endotelio corneal a través de la microscopia especular a partir de la utilización del conteo manual y automatizado.

El universo de estudio estuvo constituido por todos los adultos sin alteraciones corneales que asistieron como acompañantes de pacientes al Servicio de Cirugía Refractiva del Instituto Cubano de Oftalmología en el periodo analizado.

Para dar salida a los objetivos propuestos se utilizaron las siguientes variables: la edad, el sexo, las variables morfométricas (como la paquimetría) y la densidad de células endoteliales. A su vez, las variables morfológicas hexagonalidad, coeficiente de variación, tamaño mínimo celular, tamaño máximo celular y tamaño promedio celular, lo cual se le explicó al universo el estudio en cuestión. A los que mostraron conformidad para participar se les presentó el modelo de consentimiento informado para consignar su aprobación. Al constatar el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión generales

se les aplicó un examen oftalmológico que se realizó en una etapa previa a la microscopia especular de la córnea.

Tras comprobar que los acompañantes no tenían afectaciones oculares se procedió a aplicar la microscopia endotelial, con el microscopio especular Topcon SP 3000P y el *software Cell Count*. La medición constó de dos momentos. Inicialmente se hizo el conteo con la utilización del software sin la corrección del oftalmólogo. Se tuvo en consideración el número de células en este conteo para seleccionar esa misma cantidad en un segundo momento durante el conteo manual. Las dos pruebas se realizaron consecutivamente y se utilizó la misma imagen inicial generada por el SP-3000P. Esta decisión se tomó para partir del estudio de la misma cantidad de células en ambos procedimientos. El estudio se hizo en la sección de la mañana para evitar la variabilidad horaria en la medición.

Para la recogida de datos primarios se confeccionó una base de datos previamente elaborada por la autora de la investigación, donde se encontraban incluidas las variables objeto de estudio. Esta se confeccionó con la utilización del programa Microsoft Office Excel 2019. También se empleó el programa SPSS versión 20 para realizar el procesamiento estadístico. Se emplearon los porcentajes y los números absolutos para resumir las variables cualitativas. En el caso de las cuantitativas se utilizó la media con su desviación estándar. También se empleó el valor modular.

El estudio se realizó con la autorización del Comité de Ética y Científico de la Institución para el uso de la información necesaria. Desde el punto de vista ético la investigación está justificada, ya que se realiza de acuerdo con lo establecido en el Sistema Nacional de Salud y previsto en la Ley No.41 de Salud Pública, en correspondencia con la Declaración de Helsinki.<sup>(21)</sup>



## Resultados

Se muestran las diferencias entre los parámetros morfológicos y morfométricos de la microscopia endotelial a partir de la utilización de los conteos manual y automatizado de las células del endotelio corneal, en adultos sin alteraciones corneales.

La edad en el sexo masculino osciló entre 21 y 70 años. Con respecto al sexo femenino, las edades se situaron entre 23 y 68. La media de edad del sexo masculino fue de 41 años y la del sexo femenino de 39 años. Desde el punto de vista general el valor mínimo de la edad fue 21 años y el valor máximo de 70 años. La media general fue de 41,32 años de edad (Tabla 1).

Tabla 1 - Estadísticos descriptivos de la edad por sexo

Variable	Mínimo-Máximo	Media
Edad: sexo femenino	23 - 68	39
Edad: sexo masculino	21 - 70	44
Edad general	21 - 70	41

En las mediciones morfométricas la paquimetría central ( $\mu\text{m}$ ) se comportó según aparece en la tabla 2. La media en el conteo automatizado fue de 507,83  $\mu\text{m}$ , al igual que en el conteo manual; la desviación típica también obtuvo valores iguales en los dos tipos de conteo (31,32), por lo que la media y la desviación típica del valor modular de las diferencias fue de cero. En relación con la densidad de las células endoteliales, la media de los resultados de la aplicación del *software* automatizado fue de 2 506,74 células ( $\text{cél}/\text{mm}^2$ ); la media del conteo manual resultó ser de 2 500,85 células; la media del valor modular de las diferencias alcanzó un valor de 212,33 ( $p < 0,001$ ); el primer proceder presentó una desviación típica de 311,91 y el segundo de 329,85. La desviación típica del valor modular de las diferencias fue de 199,240 ( $p < 0,001$ ) y el intervalo de confianza se encontró en un rango de 155,7 a 268,9 (Tabla 2).

**Tabla 2** - Estadísticas descriptivas de las variables morfométricas por microscopia manual y programa automatizado

Variable	Media	Desviación típica
Paquimetría central (automatizado)	507,83	31,32
Paquimetría central (manual)	507,83	31,32
Densidad celular (automatizado)	2 506,74	311,91
Densidad celular (manual)	2 500,85	329,85

Con respecto a las mediciones morfológicas, en la hexagonalidad el *software* automatizado generó valores cuya media fue de 53,54; en el conteo manual la media de los valores obtenidos fue de 57,25; la media del valor modular de las diferencias, por su parte, fue de 10,15 ( $p < 0,001$ ); la desviación típica fue de 10,19; 9,316 y 8,434 ( $p < 0,001$ ), respectivamente, y el intervalo de confianza se encontró en un rango de 7,4-12,5.

En cuanto al coeficiente de variabilidad celular (%), el conteo automatizado mostró valores cuya media fue 36,92; en el conteo manual la media calculada a partir de los resultados fue de 32,45; en relación con el valor modular de las diferencias la media fue de 8,39 ( $p < 0,001$ ); los resultados de la desviación típica fueron de 9,11; 5,91 y 6,89 ( $p < 0,001$ ), respectivamente, y el intervalo de confianza se encontró en un rango de 6,4-10,3 (Tabla 3).

**Tabla 3** - Estadísticas descriptivas de las variables morfológicas por microscopia manual y programa automatizado

Variable	Media	Desviación típica
Hexagonalidad (automatizado)	53,54	10,19
Hexagonalidad (manual)	57,25	9,316
Coefficiente de variabilidad (automatizado)	36,92	9,11
Coefficiente de variabilidad (manual)	32,45	5,91

En los cálculos del conteo automatizado del tamaño mínimo celular la media de los valores resultantes fue de 64,30, mientras que la media del conteo manual fue de 173,12. La media del valor modular de las diferencias fue de 119,82 ( $p < 0,001$ ), con una desviación típica de 43,07; 45,47 y 51,92 ( $p < 0,001$ ). El intervalo de confianza se encontró en un rango de 105,1-134,6, respectivamente. En cuanto al tamaño máximo celular, los valores generados por el *software* automatizado tuvieron una media de 1 398,97, mientras que en el conteo manual la media fue de 829,46 y la del valor modular de las diferencias de 601,99 ( $p < 0,001$ ). La desviación típica fue de 411,68, 213,40 y 412,53 ( $p < 0,001$ ), respectivamente. El intervalo de confianza se encontró en un rango de 484,7-719,2 (Tabla 4).

**Tabla 4** - Estadísticas descriptivas de la célula con el menor y mayor tamaño en el área analizada por microscopia manual y programa automatizado

Variable	Media	Desviación típica
Célula con el menor tamaño en el área analizada (automatizado)	64,30	43,07
Célula con el menor tamaño en el área analizada (manual)	173,12	45,47
Célula con el mayor tamaño en el área analizada (automatizado)	1 398,97	411,68
Célula con el mayor tamaño en el área analizada (manual)	829,46	213,40

En el conteo automatizado, los resultados del tamaño promedio celular tuvieron una media de 415,50. Por su parte, la media del conteo manual fue de 411,55. En el valor modular de las diferencias la media fue de 47,81 ( $p < 0,001$ ). La desviación típica presentó valores de 72,24; 66,54 y 65,86 ( $p < 0,001$ ) respectivamente. El intervalo de confianza se encontró en un rango de 29,1-66,5 (Tabla 5).

**Tabla 5** - Estadísticas descriptivas del tamaño promedio celular por microscopia manual y programa automatizado

Variable	Media	Desviación típica
Tamaño promedio de la célula en el área analizada (automatizado)	415,50	72,24
Tamaño promedio de la célula en el área analizada (manual)	411,55	66,54
Valor modular de las diferencias	47,81	65,86

## Discusión

El creciente desarrollo científico-tecnológico de la Oftalmología ocurrido en los últimos años ha permitido contar con equipos capaces de profundizar en el conocimiento de la morfofisiología del endotelio corneal. El microscopio especular, a diferencia de los microscopios convencionales, permite la realización de la técnica de la microscopia endotelial, así como realizar el análisis de las células endoteliales,<sup>(22,23,24)</sup> al evaluar el grosor o la paquimetría; el espesor corneal en el sitio donde se realiza el examen (T, *thickness*); el número de células contadas (N, *number*); la célula con el menor tamaño en el área analizada (MIN, *minimum*); la célula con el mayor tamaño en el área analizada (MAX, *maximum*); el promedio entre el tamaño mínimo y máximo de las células contadas (AVG, *average*); la desviación estándar del tamaño (SD, *standard deviation*); el coeficiente de variabilidad existente en lo que respecta al tamaño celular (CV, *coefficient variation*); la hexagonalidad: porcentaje de células hexagonales existentes en el área analizada (HEX, *hexagonality*) y la densidad celular: número de células por mm<sup>2</sup> en el área estudiada (CD, *cellular density*).

Con respecto a la cantidad de células contadas, algunos autores nacionales y foráneos han publicado que el número de células necesarias a estudiar para el análisis del endotelio corneal debe oscilar entre 50 y 100. En el Instituto Cubano

de Oftalmología y otros centros oftalmológicos se utilizan como promedio un total de 50 células. Sin embargo, hasta el momento no existe un consenso en cuanto a dicho parámetro.<sup>(25)</sup> En esta investigación se decidió utilizar el mismo conteo celular que marca el *software* para que el conteo manual fuera lo más semejante posible al automatizado, donde se emplean como promedio 100 células. Al tener esto como premisa en esta investigación se estudiaron los parámetros, los cuales se utilizaron como variables del estudio.

La paquimetría ultrasónica es el método más empleado y se considera el estándar de referencia para la medición del espesor corneal. Sin embargo, el microscopio especular también permite medir este parámetro y ha mostrado generar mediciones fiables y reproducibles.<sup>(26,27,28)</sup>

En este sentido, es importante destacar que el presente estudio no reveló variaciones estadísticamente significativas en esta variable, la cual se mostró de manera similar en los 100 ojos. El valor promedio del espesor corneal obtenido en esta investigación fue de 507,83 micras, medido por ambos métodos.

El microscopio especular también realiza el análisis cuantitativo de las células endoteliales. Esto es conocido como la densidad celular, que representa el número de células existentes en un milímetro cuadrado de endotelio, es decir, por unidad de superficie, y ofrece información sobre la integridad estructural.<sup>(5)</sup>

En esta investigación la media de los valores del conteo automatizado fue de 2 506,74 células, en relación con la densidad de las células endoteliales, mientras que la media del conteo manual fue de 2 500,85 células. Márquez<sup>(18)</sup> utiliza en su investigación el conteo manual en una muestra de 60 pacientes mujeres, adultas mayores. Reporta que la densidad celular media fue de 1 926 cél/mm<sup>2</sup> entre 60 y 69 años, la cual disminuyó progresivamente hasta 1 495 cél/mm<sup>2</sup> en pacientes mayores de 90 años. Por su parte, Higa<sup>(29)</sup> reportó en la población

japonesa en el grupo de 40 años  $3\ 012\ \text{cél}/\text{mm}^2 \pm 348$ , y la menor en el de 80 y más años ( $2\ 671\ \text{cél}/\text{mm}^2 \pm 519$ ). Estos resultados no concuerdan con los valores obtenidos en este trabajo. Las diferencias observadas en las cifras de la densidad celular endotelial reportadas en diversos países pueden estar en relación con los diferentes criterios que tienen en cuenta los autores, el método empleado para realizar los cálculos y el tipo de instrumento de medición empleado.

Relacionado con las diferencias entre los tipos de conteo, pudo apreciarse en esta investigación un contraste entre los dos conteos, que también pudo constatarse a la hora de registrar los datos, pues se observaron células que no fueron identificadas y otras que fueron interpretadas como dobles por el conteo automatizado. Es necesario señalar que a la hora de evaluarlo clínicamente no representa una gran variabilidad, aunque estadísticamente sí es significativa la diferencia ( $p < 0,001$ ).

Similares resultados se aprecian en el estudios de *Huang*<sup>(2)</sup> y otros en el año 2017 con la utilización del equipo Konan Specular Microscope NSP9900 y su *software* Konan cellchek. El valor medio obtenido por los métodos –totalmente automático, semiautomático y manual– fue  $2\ 941 \pm 176\ \text{cél}/\text{mm}^2$ ,  $2\ 901 \pm 273\ \text{cél} / \text{mm}^2$  y  $2\ 849 \pm 306\ \text{cél}/\text{mm}^2$ , respectivamente.

*Price*<sup>(30)</sup> y otros revelan en sus trabajos una conclusión similar. Estos autores expresan que el método automatizado realiza una sobrestimación y agregan que este presenta ajustes predeterminados que no son iguales en todos los pacientes. *Piñero*,<sup>(14)</sup> por su parte, reporta que la densidad endotelial media con el microscopio Noncom Robo resultó ser de  $2\ 598,00 \pm 2\ 75,71\ \text{cél}/\text{mm}^2$ , mientras que con el sistema CSO la densidad media fue de  $2\ 699,24 \pm 262,62\ \text{cél}/\text{mm}^2$ . Aclara que el procedimiento automático tiende a generar valores de

densidad endotelial algo superiores, aunque no es significativo en ninguna de las variables estudiadas.

Este estudio y otros, ya mencionados, fundamentan la premisa de que el conteo automatizado sobrestima la cantidad de células por  $\text{mm}^2$  en relación con el conteo manual. Esto sucede por diversas razones, entre ellas porque el *software* puede delimitar erróneamente las células al contar un número superior de las que el cuadrante presenta, como se pudo comprobar también en esta investigación.

Dos indicadores más específicos del daño endotelial son el cambio de tamaño y la forma celular, porque a nivel celular la forma y la función están estrechamente vinculados.<sup>(5)</sup> Esto se refleja en el coeficiente de variación celular y el porcentaje de hexagonalidad, respectivamente, donde se relacionan los cambios en el tamaño y la morfología celular. La hexagonalidad indica el porcentaje de células con seis ápices del contorno existentes en el área analizada. Es la configuración más estable geométrica y su medida se determina mediante el cálculo de la frecuencia de células hexagonales. Su rango normal está ubicado en los valores superiores al 50 %. Mientras más cercanos se encuentran al 100 %, la forma celular estará mejor conservada.<sup>(6,14)</sup>

En patrones endoteliales severamente afectados desde el punto de vista morfológico puede haber pérdida de la forma celular. El pleomorfismo es la modificación de formas celulares.<sup>(31)</sup> En este estudio se reportó un valor medio de hexagonalidad de 53,54 % en el conteo automatizado y en el conteo manual de 57,25 %. La media de los valores modulares de las diferencias fue de 10,15 ( $p < 0,001$ ).

Con respecto a la cantidad de células hexagonales encontradas en el conteo manual hay reportes en países asiáticos de un 58,1 % de hexagonalidad en la población de Malasia y un 59 % en la población de China.<sup>(5)</sup> En esta investigación

los valores son inferiores a los reportados por otros autores. Relacionado con el conteo automatizado, algunas investigaciones, como la de *Molina*,<sup>(32)</sup> determinó un promedio de 51,5 % de hexagonalidad, iguales resultados a los descritos en la población de Tailandia.<sup>(33)</sup> Nigeria<sup>(34)</sup> y Turquía,<sup>(35)</sup> por su parte, reportan el 46,5 y el 54,9 % respectivamente, por lo que se aprecian diferencias con las encontradas en el conteo automatizado en esta investigación.<sup>(35)</sup>

También se constatan diferencias estadísticamente significativas al comparar los valores de hexagonalidad resultantes de los conteos automatizado y manual, que influyen en su evaluación clínica. Estos resultados coinciden con los estudios realizados por *Gasser*<sup>(23)</sup> y otros, quienes aseveran que los valores obtenidos por ambos conteos varían mucho y muestran una débil correlación. *Gasses* plantea que cambian entre 0 y 100 con una media de 55, para un  $p = 0,82$ . La diferencia de valores entre los procedimientos se estima entre -45 y +60, por lo que existe poca coincidencia con respecto a este parámetro.

Por su parte, *Cambas*,<sup>(8)</sup> con la aplicación inicial del *software*, registró una media de 47,55 para el OD y de 45,05 para el OI. *Piñero*<sup>(14)</sup> presentó una media para la hexagonalidad de 55,72 en el conteo manual y de 55,84 en el conteo automatizado por lo que no se aprecian diferencias entre este estudio con el resto de los autores.

La homogeneidad en el tamaño celular también indica la buena función del endotelio corneal, por lo que estudiar el coeficiente de variación celular (una medida objetiva del polimegatismo), ayuda a valorar la funcionalidad del endotelio. Este se caracteriza por la variabilidad existente en lo que respecta al tamaño celular y se calcula como el cociente entre la desviación estándar de las medidas y su valor medio.<sup>(5)</sup>

El polimegatismo es el incremento en la variación del tamaño de las células; indica inestabilidad funcional endotelial con valores promedio normales de



hasta 33 % y un rango de normalidad de hasta un 40 %.<sup>(5,14)</sup> La media del coeficiente de variabilidad en este estudio mediante el conteo automatizado fue de 36,92 %, mientras que en el conteo manual el porcentaje medio fue de 32,45 ( $p < 0,001$ ). Esto no se corresponde con lo planteado por algunos autores, posiblemente por utilizar un número de células mayor o una población en su mayoría joven.

*Guerra*<sup>(5)</sup> reporta en su estudio, mediante el conteo manual, el  $30,6 \pm 6,0$  %. En la población iraní el coeficiente de variabilidad media es de 24 %. También utilizó el conteo manual. Por su parte, *Mohammad-Salih*, con la utilización del conteo automatizado, reportó en 125 ojos el 44,3 %; y *Sopapornamorn*, en Tailandia, el 39,4 %, mientras Nigeria registró el 43,9 %. Como puede apreciarse, hay diferencias significativas entre los resultados del conteo automatizado de esta investigación y los estudios antes descritos.<sup>(5)</sup>

*Piñero*,<sup>(14)</sup> por su parte, encontró una media para el coeficiente de variabilidad en el conteo manual con el equipo Noncom Robo de 35,92 %, y para el software CSO, de 32,84 %. Estos resultados no son similares a los obtenidos aquí por cuanto el conteo manual registró una cifra superior a la aportada por la investigación de *Piñero*.

Los estudios de *Gasser*<sup>(23)</sup> y otros revelan una media de  $29 \pm 5$  % con  $p \equiv 0,001$  y una diferencia de -2 a 22, entre los dos tipos de procedimientos. Se aprecia también que esta variable presenta una marcada diferencia y una poca correlación.

En relación con el tamaño de las células endoteliales, los estudios consultados solo hacen referencia al tamaño promedio. Según el conteo manual, Malasia reporta el  $382,8 \pm 47,7 \mu\text{m}^2$ ; Filipinas  $363,0 \pm 40,3 \mu\text{m}^2$ ; Tailandia  $369,04 \pm 37,90 \mu\text{m}^2$  y Nigeria  $392,2 \pm 68,03 \mu\text{m}^2$ ; México consigna un tamaño de células similar al publicado en la India, con  $404,66 \pm 77,05 \mu\text{m}^2$  y  $403,6 \pm 63 \mu\text{m}^2$ ,

respectivamente.<sup>(5)</sup> Por su parte, *Contreras Corona*<sup>(25)</sup> encontró en su estudio un valor promedio de  $383,6 \pm 42,19 \mu\text{m}^2$ . En la investigación aquí realizada se reportó un valor de  $411,55 \mu\text{m}^2$  de media. Los valores del conteo automatizado obtuvieron una media de  $415,50 \mu\text{m}^2$ . Se pueden apreciar entonces diferencias significativas entre los resultados de ambos conteos ( $p < 0,001$ ).

Con respecto a la célula con el menor tamaño en el área analizada, los resultados del conteo automatizado obtuvieron diferencia extremadamente significativa. Similar situación se encontró en los resultados de la célula con el mayor tamaño en el área estudiada. Como puede apreciarse en ambos casos y en las medidas, las diferencias tienen un valor numérico elevado. Esto puede ser resultado de la errónea selección de células en el conteo automatizado al escoger varias células como una sola, lo que aumenta su tamaño real o viceversa.

*Piñero* y otros<sup>(14)</sup> plantean que no se aprecian diferencias entre los procedimientos manual y automatizado en relación con el análisis endotelial, pues el procedimiento automatizado proporciona valores de densidad endotelial y coeficiente de variación equivalentes al procedimiento de contaje manual, tras una corrección de errores.

En este estudio los parámetros morfométricos, como la paquimetría central, es igual en ambos conteos. A su vez se obtienen mayores valores de densidad endotelial con el conteo automatizado.

En los parámetros morfológicos se registra que la hexagonalidad fue superior en el conteo manual y el coeficiente de variabilidad en el conteo automatizado. Las diferencias más marcadas resultaron en el tamaño mínimo, máximo y promedio de las células endoteliales corneales con variaciones entre los dos conteos. Queda demostrado que tanto el conteo manual como el automatizado

para el estudio del endotelio corneal pueden ser aplicados en la práctica oftalmológica.

## Referencias bibliográficas

1. Doughty MJ. Non-contact specular microscopy with Topcon instruments to assess central corneal thickness of healthy human eyes - A 20 year review. *Cont Lens Anterior Eye*. 2020;(20):30198. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clae.2020.11.005>
2. Huang J, Maram J, Tepelus TC, Modak C, Marion K, Sadda SR, et al. Comparison of manual & automated analysis methods for corneal endothelial cell density measurements by specular microscopy. *J Optom*. 2017;(17):30049. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.optom.2017.06.001>
3. Huang J, Liu X, Tepelus TC, Nazikyan T, Chopra V, Sadda SR, Lee OL. Comparison of the Center and Flex-Center Methods of Corneal Endothelial Cell Analysis in the Presence of Guttae. *Cornea*. 2017;36(12):1514-20. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/ICO.0000000000001334>
4. Cakici O, Karadag R, Bayramlar H, Koyun E. Measurements of central corneal thickness and endothelial parameters with three different non-contact specular microscopy devices. *Int Ophthalmol*. 2017;37(1):229-33. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10792-016-0264-x>
5. Guerra Almaguer M. Morfología y morfometría del endotelio corneal en adultos sin alteraciones corneales. [Tesis]. Universidad de Ciencias Médicas de La Habana; 2018. Disponible en: <http://tesis.sld.cu/index.php?P=FullRecord&ID=725>
6. Laing RA, Sandstrom MM, Leibowitz HM. *In vivo* photomicrography of the corneal endothelium. *Arch Ophthalmol*. 1975;93(2):143-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/archopht.1975.01010020149013>

7. Covarrubias Espinosa EP, Ozorno Zarate J, Naranjo Tackman R. Factores pronósticos y determinación de pérdida de células endoteliales en queratoplastia penetrante. Rev Mex Oftalmol. 2006 [acceso: 11/03/2021];80(3):145-9. Disponible en: <https://www.medigraphic.com.pdf>
8. Cambas Andreu AA, Guerra Almaguer M, Prada Sánchez C, Delgado Castillo O, García López de Trigo G. Microscopia especular con corrección manual vs. software automatizado. Rev Cubana Oftalmol. 2014 [acceso: 11/03/2021];27(3):359-68. Disponible en: <http://www.revoftalmologia.sld.cu/index.php/oftalmologia/article/view/268>
9. Pizarro Barrera ME, Garza-León MA, Beltrán Díaz F, Naranjo Tackman R. Reproducibilidad de la microscopia especular de no contacto de acuerdo con el número de células evaluadas. Rev Mex Oftalmol. 2007 [acceso: 11/03/2021];81(3):148-51. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=17356>
10. Página web Topcon Europe Medical. Microscopio especular Topcon SP-1P. Oftalmomedicina ocular; 2017 [acceso: 11/03/2021]. Disponible en: <https://www.medicalexpo.es/prod/topcon-europe-medical/product-77876-636235.html>
11. Catálogo Rosinov. CellChek SL. Rosinov; 2017 [acceso: 11/03/2021]. Disponible en: <https://rosinov.com/catalogo/cellchek-sl/>
12. Portal Óptico. Microscopio Oftálmico Especular Nidek. Portal Óptico; 2017 [acceso: 11/03/2021]. Disponible en: <https://www.portaloptico.mx/Oftalmologia-equipos/ diagnostico/microscopios-especiales.html>
13. Topcon Corporation. Specular Microscope SP 3000P.75-1 Hasunumacho, Itabashiku, Tokyo 174-8580. Japan: Topcon Corporation; 2005 [acceso: 11/03/2021]. Disponible en: <http://www.opticare.com.ar/detalle.php?ID=119&CAT=75>

14. Piñero Llorens DP, Plaza Puche AB. Análisis comparativo del estudio morfológico del endotelio corneal mediante dos microscopios especulares: CSO y Noncom Robo. Gac Ópt. 2009 [acceso: 11/03/2021];(436):42-6.

Disponible en:

<http://cgcoo.es/download/gaceta/cientifico3>

15. Guerra Almaguer M, Cárdenas Díaz T, Tamargo Barbeito TO, Pérez Suárez RG, Cruz Izquierdo D, Rivera Jiménez G. Concordancia entre los diferentes conteos celulares según los parámetros morfológicos y morfométricos del endotelio corneal. Rev Cubana Oftalmol. 2019 [acceso: 11/03/2021];32(4):2-

5. Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21762019000400002&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21762019000400002&lng=es)

16. Guerra Almaguer M, Llopiz Morales M, Cárdenas Díaz T, Tamargo Barbeito TO, Pérez Parra Z, Cambas Andreu AA. Morfología y morfometría del endotelio corneal en adultos sin alteraciones corneales. Rev Cubana Oftalmol. 2016

[acceso: 11/03/2021];29(4):622-31. Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21762016000400004&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21762016000400004&lng=es)

17. Guerra Almaguer M, Garza Chavarría JA, Tamargo Barbeito TO, Cárdenas Díaz T, Río Torres M, Cruz Izquierdo D, et al. Morfología y morfometría del endotelio corneal en adultos sin alteraciones corneales según cantidad de células evaluadas. Rev Cubana Oftalmol. 2017 [acceso: 11/03/2021];30(3):1-

9. Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21762017000300004&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21762017000300004&lng=es)

18. Márquez Villalón S, Villalón Fernández MJ, Escalona Leyva E, Pérez Parra Z, Perea A, Padilla González C. Modificaciones del endotelio corneal en el paciente adulto mayor. Rev Cubana Oftalmol. 2014 [acceso:

11/03/2021];27(4):610-8. Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21762014000400011&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21762014000400011&lng=es)

19. Cárdenas Díaz T, Corcho Arévalo Y, Torres Ortega R, Capote Cabrera A, Hernández López I, Cruz Izquierdo D. Caracterización del endotelio corneal en pacientes con indicación de cirugía de catarata. Rev Cubana Oftalmol. 2013 [acceso: 11/03/2021];26(1):39-47. Disponible en: <http://www.revoftalmologia.sld.cu/index.php/oftalmologia/article/view/169>
20. Cárdenas Díaz T, Qi Li F, Guerra Almaguer M, Fumero González F, Sánchez Acosta L, Torres Gómez O. Efecto de la lente fáquica ACR-128 sobre la tensión ocular y el endotelio corneal en las altas miopías. Rev Cubana Oftalmol. 2019 [acceso: 11/03/2021];32(2). Disponible en: <http://www.revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/754>
21. Ruggiero M. Declaración de Helsinki, principios y valores bioéticos en juego en la investigación médica con seres humanos. Rev Colomb Bioét. 2011 [acceso: 11/03/2021];6(1):125-44. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=189219032009>
22. Gómez Valcárcel M. Microscopia especular. En: Centro Mexicano de Córnea y Cirugía Refractiva. Córnea Médica. México DF: Elsevier; 2015. p. 85-93.
23. Gasser L, Reinhard T, Bohringer D. Comparison of corneal endothelial cell measurements by two non-contact specular microscopes. BMC Ophthalmol. 2015;15:87. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12886-015-0068-1>
24. Abdellah MM, Ammar HG, Anbar M, Mostafa EM, Farouk MM, Sayed K, Alsmman AH, Elghobaier MG. Corneal Endothelial Cell Density and Morphology in Healthy Egyptian Eyes. J Ophthalmol. 2019;2019:6370241. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2019/6370241>
25. Contreras Corona RG, Anaya-Pavab EJ, Gallegos-Valencia AJ, Villarreal-Maíz JA. Densidad y morfología de células del endotelio corneal en adultos jóvenes del norte de México. Rev Mex Oftalmol. 2014;88(3):99-103. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mexoft.2014.02.002>

26. Erdur SK, Demirci G, Dikkaya F, Kocabora MS, Ozsutcu M. Comparison of Central Corneal Thickness with Ultrasound Pachymetry, Noncontact Specular Microscopy and Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Semin Ophthalmol.* 2018;33(6):782-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/08820538.2018.1448091>
27. Scotto R, Bagnis A, Papadia M, Cutolo CA, Risso D, Traverso CE. Comparison of Central Corneal Thickness Measurements Using Ultrasonic Pachymetry, Anterior Segment OCT and Noncontact Specular Microscopy. *J Glauc.* 2017;26(10):860-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/IJG.0000000000000745>
28. Karaca I, Yilmaz SG, Palamar M, Ates H. Comparison of central corneal thickness and endothelial cell measurements by Scheimpflug camera system and two noncontact specular microscopes. *Int Ophthalmol.* 2018;38(4):1601-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10792-017-0630-3>
29. Higa A, Sakai H, Sawaguchi S, Iwase A, Tomidokoro A, Amano S, Araie M. Corneal endothelial cell density and associated factors in a population-based study in Japan: the Kumejima study. *Am J Ophthalmol.* 2010;149(5):794-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2009.12.029>
30. Price MO, Fairchild KM, Price FW Jr. Comparison of manual and automated endothelial cell density analysis in normal eyes and DSEK eyes. *Cornea.* 2013;32:567-73. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/ICO.0b013e31825de8fa>
31. Lass JH, Sugar A, Benetz BA, Beck RW, Dontchev M, Gal RL, et al. Endothelial cell density to predict endothelial graft failure after penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol.* 2010;128(1):63-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/archophthalmol.2010.128.63>

32. Molina D, Gómez A. Evaluación por décadas de edad del comportamiento de las células endoteliales corneales en población mexicana. Rev Mex Oftalmol. 2005 [acceso: 11/03/2021];79(2):93-100. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=7188>
33. Sopapornamorn N, Lekskul M, Panichkul S. Corneal endothelial cell density and morphology in Phramongkutkloao Hospital. Clinic Ophthalmol. 2008 [acceso: 11/03/2021];2(1):147-51. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19668398/>
34. Ewete T, Ani EU, Alabi AS. Normal corneal endothelial cell density in Nigerians. Clin Ophthalmol. 2016;10:497-501. DOI: <http://dx.doi.org/10.2147/OPHTH.S97070>
35. Arıcı C, Arslan OS, Dikkaya F. Corneal endothelial cell density and morphology in healthy Turkish eyes. J Ophthalmol. 2014;2014:8526-29. DOI: <http://dx.doi.org/10.2147/OPHTH.S97070>

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

### Contribución de autores

*Michel Guerra Almaguer*: Conceptualización, curación de datos, supervisión.

*Rosaly González González*: Conceptualización, análisis formal, supervisión, redacción del borrador original.

*Taimi Cárdenas Díaz*: Investigación, Redacción del borrador original.

*Carmen María Padilla González*: Metodología, visualización, administración del proyecto.

*Arelys Ariocha Cambas Andreu*: Validación, redacción, revisión y edición.

Todos los autores aprueban la versión final del artículo.