medigraphic Artemisa en línea

Rev Mex Oftalmol; Marzo-Abril 2005; 79(2): 93-100

Evaluación por décadas de edad del comportamiento de las células endoteliales corneales en población mexicana

Diego Fernando Molina Rey, Arturo Gómez

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la pérdida y los cambios morfológicos de las células endoteliales corneales en función de la edad.
Material y métodos: Se realizó un estudio prospectivo, descriptivo, longitudinal y observacional incluyendo 350 ojos de sujetos mexicanos sanos, entre agosto de 1999 y octubre de 2002. Estos se dividieron en 7 grupos de 50 sujetos por décadas de edad y se les realizó evaluación y conteo de células endoteliales con microscopia especular.
Resultados: Se analizaron 350 ojos, 55.71% de mujeres y 44.28% de hombres, con edad promedio de 35.20 años. Se observó un máximo de pérdida de células endoteliales (44.11%) y un aumento de la superficie de área (95.44%) en mayores de 60 años; con disminución significativa de la hexagonalidad (14.47%) desde la tercera década; sin cambios significativos en el coeficiente de variación y paquimetría.
Discusión y conclusiones: Con la edad existe una pérdida progresiva de las células endoteliales y un aumento de la superficie de área después de los 60 años y disminución de la hexagonalidad a partir de la tercera década, sin cambios significativos en el coeficiente de variación y paquimetría.

Palabras clave: Células endoteliales, microscopia especular.

SUMMARY

Objetive: To evaluate the loss and morphologic changes of corneal endotelial cells.
Material and methods: A prospective, descriptive, longitudinal and observational study was carried out in 350 eyes on mexican healt patients, between August 1998 and October 2002. Patients were divided into groups of 50 individuals by age decades and they underwent evaluation of the endotelial cells account by specular microscopy.
Results: 350 eyes were studied, 55.71% from women and 44.28% from men. Age average was 35.20 years. Maximum endothelial cells loss (44.11%) and increased surface area (95.44%) were observed after 60 years of age, with significative decreased of hexagonality (14.47%) since third decade, without significative changes in the variation coefficient and paquimetry.
Discussion and conclusion: Progressive endothelial cells loss and increased surface area exist after 60 years of age: hexagonality decreased since third decade; without significative changes in variation coefficient and paquimetry.

Key words: Endotelial cells, specular microscopy.

INTRODUCCIÓN

El endotelio corneal es una monocapa que tiene la apariencia de un panal de abejas y que mide más o menos 4 micras de espesor en el adulto (1). Con la edad la densidad celular cambia, siendo el conteo celular endotelial normal al nacimiento de 3.000 a 5.000 células (1, 3-5), disminuyendo en la segunda década de la vida hasta 2.600 células por mm^2 (1, 2), alcanzando una pérdida de hasta 2/3 partes en ancianos, con un rango de pérdida de 0.5% por año (3, 4). Esto se acompaña de aumento en el tamaño de las células y pleomorfismo (2). Igualmente, hacia la segunda década, el porcentaje de hexagonalidad disminuye de 75% a 60% aproximadamente (6).

La principal función del endotelio es la regulación de los líquidos en el estroma; la disposición geométrica hexagonal de las células permite un mejor recubrimiento de la superficie

Hospital de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana. Departamento de Córnea. Chimalpopoca 14 Col. Obrera. México D.F. Tels: 55884600, 55880028. Correo electrónico: m_olina @ hotmail.com

sin dejar hendiduras. Esto facilita la función de barrera (6, 7), permitiendo que el estroma se mantenga en un estado disturgente, con un contenido de agua de 78% que, junto con la malla de fibras colágenas,, crean un tejido transparente (9).

La hipótesis más aceptada es que la actividad endotelial está mediada por presiones osmóticas de un estroma relativamente hipo-osmótico a un acuoso hiper-osmótico; este movimiento no requiere energía. Los procesos que sí requieren de energía son el transporte intracelular y el de iones membrana, los cuales sirven para generar un gradiente osmótico. Los dos sistemas de transporte más importantes son las membranas de unión de Na, K, ATPasa y la vía intracelular de anhidrasa carbónica (10). Estos sistemas forman un flujo de estroma a humor acuoso. La función de barrera del endotelio es única en cuanto a la permeabilidad de un gradiente para permitir el flujo iónico necesario y establecer un gradiente osmótico (11, 12).

Las células del endotelio corneal humano parecen tener poca o ninguna posibilidad de dividirse después del nacimiento, aunque se ha observado mitosis en pequeños grupos después de queratoplastia penetrante. Por tanto, cualquier traumatismo mecánico o inflamatorio cicatriza sólo por deslizamiento, reestructurando y alargando las células existentes. Un gran número de células en el área circundante al defecto son afectadas por esta migración. Finalmente se forman células de unión y la función de hidratación del endotelio se restablece por completo. Si el total de las células perdidas es muy grande, puede resultar en edema corneal irreversible, aunque la densidad crítica de células perdidas necesarias para que esto ocurra se desconoce. Las células endoteliales juegan un papel primordial en la transparencia corneal y no se sabe con exactitud cuánta pérdida celular se requiere para que ésta se pierda (3, 4, 13).

La valoración del endotelio corneal se hace con la medición del grosor corneal (paquimetría) y observación de la capa endotelial por medio de la microscopia especular (ME). La paquimetría refleja indirectamente la función endotelial, ya que ésta refleja el estado de disturgencia corneal. El grosor corneal central es en promedio de 0.5 mm, el cual gradualmente aumenta hacia la periferia llegando a medir 0.7 mm. La paquimetría puede medirse ultrasonográficamente ú ópticamente, ésta última es la que realiza la ME (14, 15).

La microscopia especular proporciona imágenes de la superficie endotelial. Las células endoteliales se pueden analizar de muchas formas y su densidad (conteo de células epiteliales/mm^2) es el parámetro más conocido. También se valoran de modo habitual el polimegatismo (variación del tamaño celular) y el pleomorfismo (variación de la forma celular). Cuanto más bajo es el conteo de células endoteliales, mayor es la variación del tamaño celular (coeficiente de variación) y cuanto más marcada es la variación de la forma de las células (poca hexagonalidad) menos sano será el endotelio (5).

Hasta hace pocos años la evaluación del endotelio corneal estuvo limitada al examen biomicroscópico. Tal limitación hacía difícil evaluar la función endotelial y su reserva funcional, tanto para predecir el curso de una enfermedad, como para determinar la posibilidad del ojo para resistir un proceso quirúrgico (13).

La introducción de la microscopia especular hace posible la visualización directa del endotelio. Es un método estándar para determinar la pérdida, polimegatismo y pleomorfismo, de las células endoteliales corneales (2).

Aunque las observaciones del endotelio corneal por reflejo especular datan de principios del siglo XX y fueron realizadas en córneas de conejos, sólo hasta 1975 Laing hace la primera microscopia especular, usando un elemento cónico de plástico especial, colocando sobre éste solución salina, hidroximetil celulosa u otro líquido, manteniéndolo entre la superficie del lente de contacto y el epitelio y así registrando las imágenes epiteliales. Desde entonces, en los últimos 20 años, se ha venido mejorando la técnica con la consiguiente mejora en la calidad de imagen.

El objetivo de la microscopia especular endotelial es proporcionar la observación visual del endotelio y analizar la morfología endotelial, que puede variar desde una apariencia normal hasta una comprometida que sea incapaz de mantener la claridad corneal. Hay una continuidad de valores de brillantez; la mayoría de células están en uno de tres grupos: oscuro, medio y luminoso. Las células oscuras parecen casi negras, mientras que las brillantes son ligeramente verdes. Las células de intensidad similar tienden a agruparse y la brillantez entre ellas es homogénea.

El microscopio especular es un microscopio de reflejo luminoso que proyecta la luz dentro de la córnea, reflejándose en la interfase que se encuentra entre el endotelio corneal y el humor acuoso; mostrando así las imágenes de las células endoteliales (2). De acuerdo con el equipo utilizado, la imagen proyectada puede ser estática, en movimiento o en secuencias estáticas. Los cambios del índice de refracción en la interfase endotelio-humor acuoso es de aproximadamente 0.022% del índice total de la luz reflejada; éste reflejo de luz es capturado por el microscopio especular y forma la imagen endotelial.

Cuando la densidad celular disminuye a menos de 1,000 o 500 células/mm^2,, cuando hay un aumento en el pleomorfismo y en el polimegatismo, la claridad corneal se altera por un estrés hipóxico, en comparación con las córneas de morfología normal (3, 4). Por lo tanto todas son importantes para determinar la función endotelial.

Existen múltiples reportes basados en células de pacientes donadores para transplantes corneales, e incluso se han realizado estudios tratando de determinar qué tanta pérdida de células endoteliales hay posterior a procedimientos quirúrgicos como queratoplastia penetrante (16), cirugía de catarata (faco o extracapsular) y cirugía refractiva, entre otras. Sin embargo, llama la atención que cuando se busca en la literatura, no se encuentran reportes publicados en México de estudios para determinar la cantidad de células endoteliales que se pierden y los cambios que éstas sufren con el paso de los años en individuos vivos y sanos de nuestra población. Por este motivo, el presente estudio trata de establecer un parámetro estadístico de las pérdidas celulares y los cambios morfológicos normales en cada década de la vida en población mexicana.

JUSTIFICACIÓN

Necesidad de contar con parámetros de referencia confiables del comportamiento de las células endoteliales en cada década de la vida en nuestra población.

OBJETIVO

Evaluar la pérdida y los cambios morfológicos que se presentan en las células endoteliales corneales por décadas de edad en pacientes sanos de la población mexicana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo, descriptivo, longitudinal y observacional, en el Instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana, en el periodo comprendido de agosto de 1999 a octubre de 2002. En él se incluyeron 350 individuos mexicanos sanos, de los cuales 195 fueron mujeres y 155 hombres, con un promedio de edad de 35.20 años (3-89), que acudieron al servicio de oftalmología integral. Los pacientes se seleccionaron bajo los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

- Sujetos sanos de cualquier edad y sexo que acudieran al servicio de oftalmología integral.
- Defecto refractivo no mayor de 3 dioptrías.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con cualquier patología ocular y/o sistémica.
- Pacientes con antecedente de cualquier patología ocular.
- Pacientes con defecto refractivo mayor de 3 dioptrías.
- Pacientes que no colaboraron para la realización del examen.

A todos los pacientes se les realizó microcopia especular de un ojo, utilizando un microscopio especular Konan NonCon Robo, tomando en cuenta las siguientes variables: densidad celular (promedio del conteo de células endoteliales), superficie de área (promedio del área que ocupa cada célula por mm^2), coeficiente de variación (promedio de la variación celular), hexagonalidad (porcentaje de células hexagonales) y paquimetría (grosor corneal).

El microscopio Konan NonCon Robo es un aparato automático que requiere la mínima intervención del operador. Tiene un proceso fotográfico automatizado que puede también fotografiar el endotelio periférico a 3 mm del centro de la córnea en las posiciones del reloj 12, 2, 6 y 10; y puede individualizar el análisis de las células usando el método vecino cercano que da un valor aproximado del porcentaje de células cuyo centro es digitalizado, usando el *mouse* que viene con el aparato (3). Los sujetos fueron divididos por décadas de edad obteniendo 7 grupos, que van de 0-9 años con un promedio de edad de 5.6 años (3-9 años), 10-19 con promedio de 13.86 años (10-19 años), 20-29 con 24.42 años de promedio (20-29 años), 30-39 con 35.74 años (30-39 años), 40-49 con 43.12 años (40-49 años), 50-59 con 53.32 años (50-59 años) y 60 o mas años con 72.08 años de edad promedio (60-89 años), con un total de 50 pacientes en cada grupo.

En todos se valoraron las variables de microscopia especular antes mencionadas; tomando primero como patrón de referencia el primer grupo (0-9 años) y comparando los otros grupos contra éste, y posteriormente comparamos cada grupo con el inmediato anterior. Se hizo análisis estadístico con T de Student, siendo estadísticamente significativa $p<0.005$.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la biomicroscopia especular fueron los siguientes:

Densidad celular

El conteo celular va disminuyendo progresivamente, empezando a ser estadísticamente significativo a partir de la segunda década de la vida, teniendo su pico máximo en los >de 60 años (gráfica 1).

Al comparar todos los grupos contra el primero, se observó que la pérdida celular empieza a ser estadísticamente significativa desde el grupo de 20-29 años con una pérdida de 15.8% (p=0.002), que continúa siendo progresiva en los demás grupos, presentándose una pérdida total de 41.11% en el último grupo (p=1.3745E19) y una pérdida celular de 0.46% por año.

Posteriormente se observó, al comparar los grupos con el grupo inmediatamente anterior, una pérdida de 11.55% comparando el primer grupo contra el segundo, pero sin ser ésta estadísticamente significativa (p=0.0056). Todos los grupos presentaron una pérdida progresiva del conteo celular, que no fue estadísticamente significativa excepto en el grupo de mayores de 60 años que, al compararlo con el grupo de 50-59 años, presentó una pérdida de 21.2% (p=1.862E05) (gráfica 2).

Superficie de área

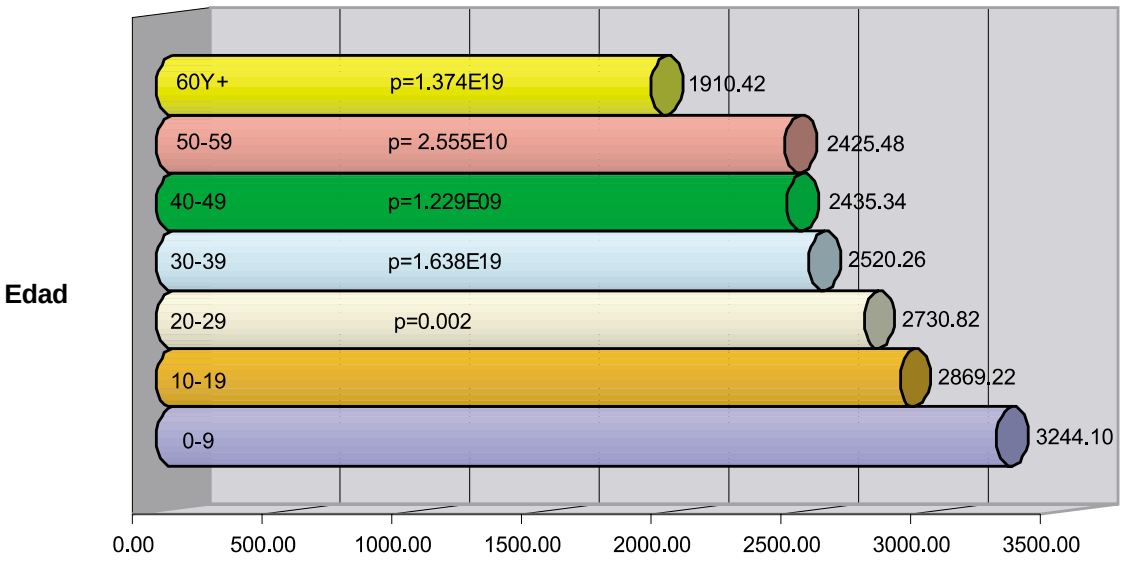
La superficie de área mostró que, al igual que el grupo anterior, a partir del grupo de 20 a 29 años se presentan cambios estadísticamente significativos, con un aumento del 23.58% (p=2.860E07), que aumenta progresivamente en todos los grupos de edad, volviendo a presentarse un pico importante en el grupo de mayores de 60 años con un aumento de 95.44% (p=6.056E07) lo que da un promedio de aumento de la superficie de área por año de 1.07% (gráfica 3).

Al comparar los grupos con el anterior, todos presentaron un aumento progresivo, no significativo estadísticamente, con un pico de aumento que fue estadísticamente significativo en el grupo de mayores de 60 años, comparado con el de 50-59 años, con un aumento del 51.50% (p=0.0013) (gráfica 4).

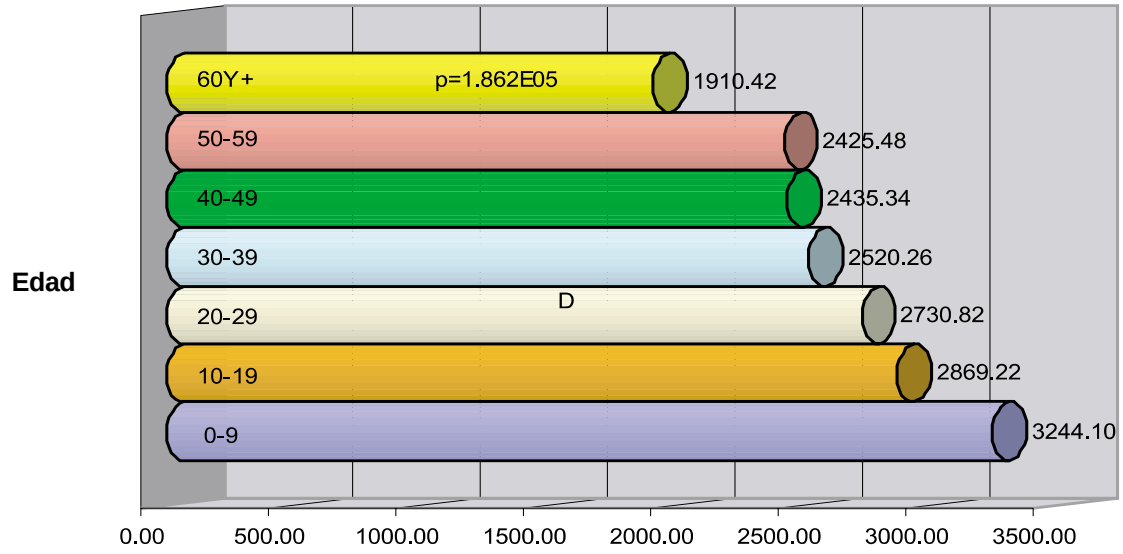
Coeficiente de variación

En cuanto al coeficiente de variación, no hubo cambios estadísticamente significativos en ninguno de los grupos al ser comparados con el primero, ni con el inmediatamente anterior. Los dos primeros grupos fueron similares con apenas un aumento de 0.07% (p=0.98), encontrando el primer aumento importante en el grupo de 20-29 años con un aumento de 5.63% (p=0.374) al compararlo con el primer grupo, y de 5.56%

Gráfica 1. Densidad celular. % conteo de células endoteliales.



Gráfica 2. Densidad celular. % conteo de células endoteliales.



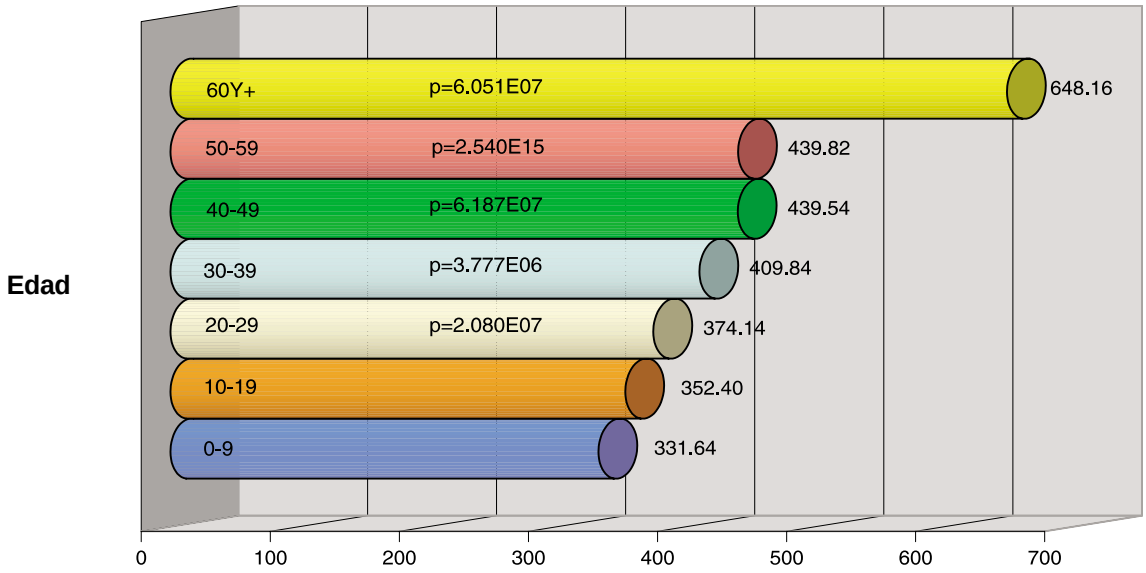
(p=0.0336) al compararlo con el grupo inmediatamente anterior sin ser esto estadísticamente significativo. El cuarto grupo presentó un aumento de 15.40% (p=0.013) al compararlo con el primer grupo, y de 8.90% (p=0.17) al compararlo con el grupo anterior, siendo muy similares en los siguientes grupos. Se encontró otro pequeño pico en los mayores de 60 años con un incremento del 23.32% total (p=0.01), teniendo un aumento promedio de 0.26% por año al compararlo con el primer grupo, y de 5.33% (p=0.82) al compararlo con el anterior, sin ser estos estadísticamente significativos (gráfica 5).

Hexagonalidad

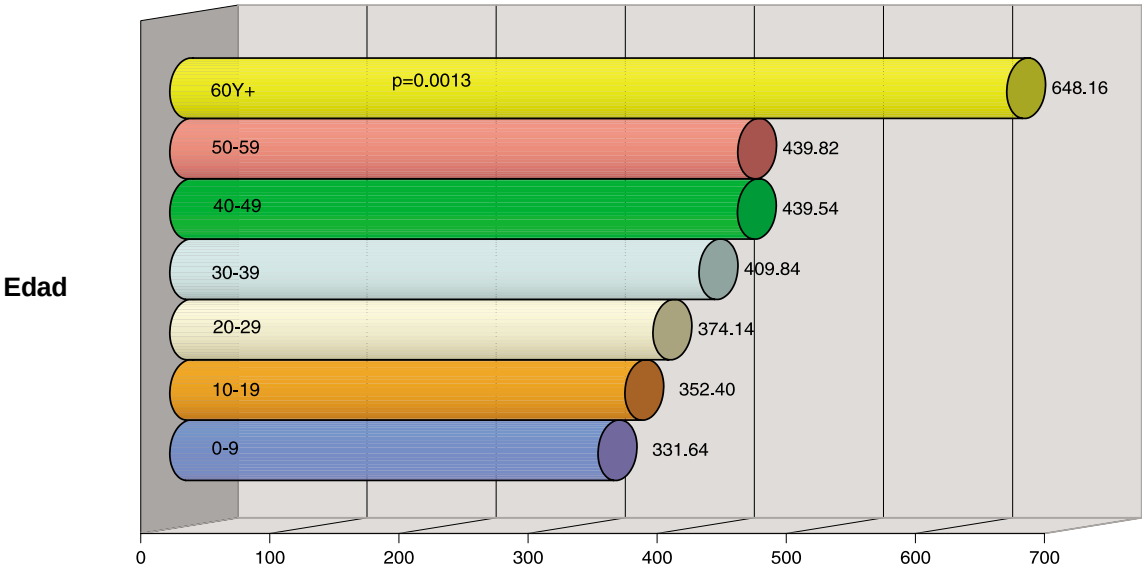
La hexagonalidad fue muy parecida en los dos primeros grupos, con apenas una pérdida de 0.09% (p=0.90, no estadísticamente significativa), para presentar a partir del grupo de 20-29 años una caída de 14.47% (p=0.0037, estadísticamente significativa) que persistió significativa en todos los demás grupos al ser comparados contra el primero. Al comparar el último grupo contra el primero también encontramos una pérdida promedio de 19.98% (p=6.1365E05, estadísticamente significativa), dando un promedio de pérdida de la hexagonalidad de 0.22% por año (gráfica 6).

Al compararlos con el grupo inmediatamente anterior, se confirma la importante caída en el tercer grupo con una pérdida de 14.39% (p=0.0037, estadísticamente significativa). Comparando el grupo de 30-39 años con el anterior obtuvimos una pérdida de 7.41% (p=0.24, estadísticamente no significa-

Gráfica 3. Superficie de área. % de área que ocupa cada célula.



Gráfica 4. Superficie de área. % de área que ocupa cada célula.



tiva), continuándose en forma similar en el resto de los grupos (gráfica 7).

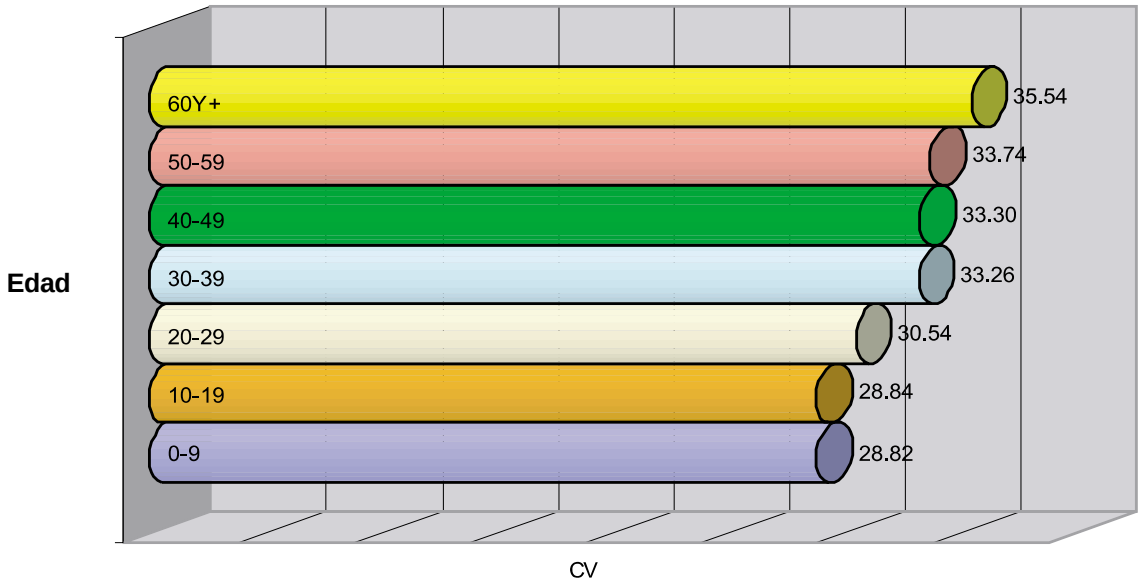
Paquimetría

La paquimetría también se mantuvo muy estable en todos los grupos, sin cambios estadísticamente significativos al ser comparados contra el primer grupo y el inmediatamente anterior. Sin embargo, se encontró un pico en los mayores de 60 años con un aumento de 16.95% (p=0.84, no estadísticamente significativa) y un promedio de aumento de 0.19% por año al compararlo con el primer grupo y de 17.16% (p=0.41, no estadísticamente significativa) al compararlo con el grupo anterior (gráfica 8).

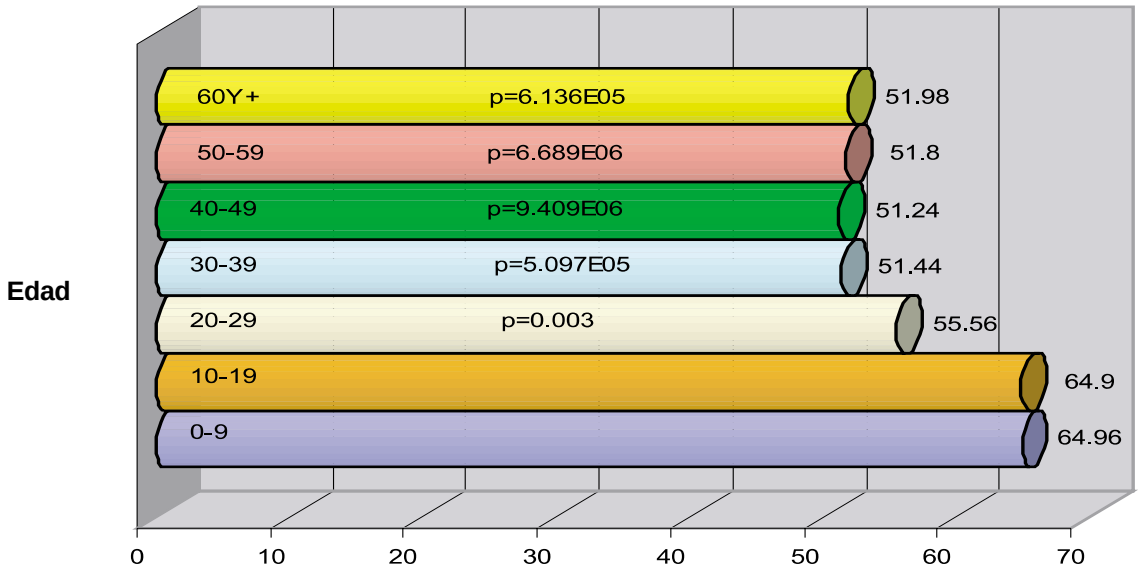
DISCUSIÓN

La microscopia especular ha venido, en los últimos años, a revolucionar el estudio del endotelio corneal, dadas las limitaciones que se tenían con la biomicroscopia con lámpara de hendidura que hacían difícil poder evaluar la morfología y la función endotelial para determinar el estado y el pronóstico de dicho endotelio. Con la llegada de la microscopia especular, se hizo posible visualizar directamente el endotelio, pudiendo hacer una medición cuantitativa de las células endoteliales, su tamaño y su forma, logrando así predecir y diagnosticar alteraciones de las mismas. Cabe remarcar que es un misterio aún, el conocer cuánta pérdida celular se nece-

Gráfica 5. Coeficiente de variación. % de variación celular.



Gráfica 6. Hexagonalidad. % de células hexagonales.

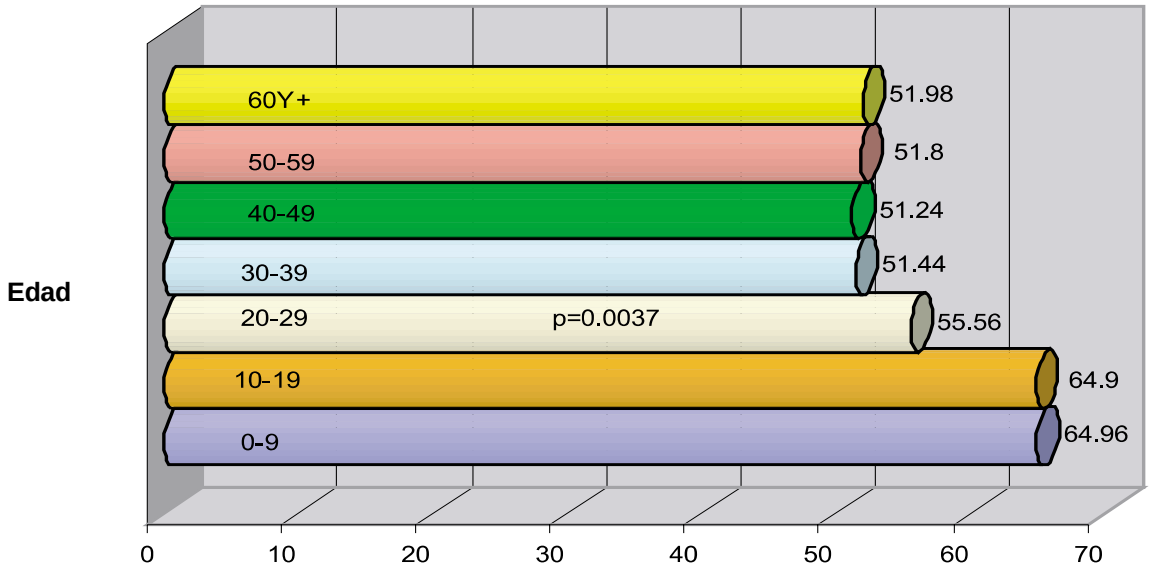


sita para perder la claridad corneal, aunque algunos autores estiman que conteos por debajo de 1000 a 500 células, aumentan la probabilidad de que esto ocurra. En nuestro estudio sólo tuvimos cinco pacientes con conteo por debajo de 1000 células/mm^2, y uno por debajo de 500 células/mm^2, pero ninguno de ellos presentaba patología corneal.

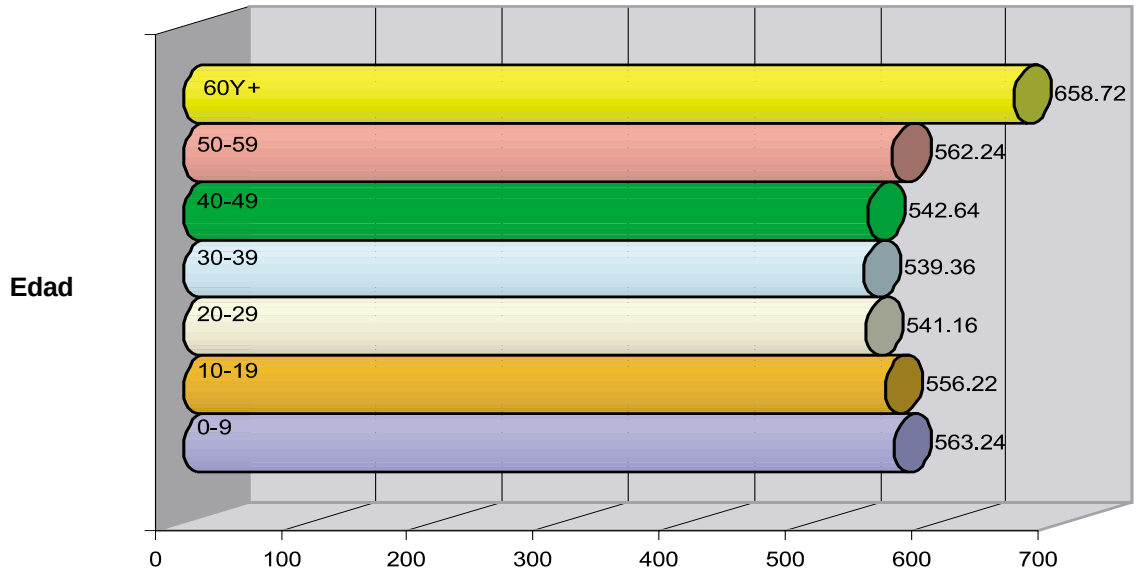
Los resultados obtenidos en nuestro estudio muestran una pérdida importante del contenido celular endotelial a partir de la tercera década de la vida, con una pérdida de 15.8% (p=0.002), encontrando su pico máximo de caída en los mayores de 60 años con una pérdida total de 41.11% (p=1.3745E19), datos que son estadísticamente significativos al compararlos con el grupo de 0-9 años y que, al compararlos con el grupo inmediatamente anterior, se confirman, presentándose un aumento importante entre la primera y la segunda décadas de 11.5% (p=0.0056) sin ser ésta estadísticamente significativa, pero encontrando entre los grupos de mayores de 60 años contra los de la sexta década una pérdida de 21.2% (p1.8662E07) que sí fue estadísticamente significativa.

Esto se correlaciona muy bien con los datos obtenidos en la superficie de área, ya que a mayor pérdida las células del endotelio ocuparan más área. Esto lo vemos reflejado en los resultados encontrando, en la tercera década de la vida, aumentos significativos de 23.58% (p=2.860E07), con su pico máximo también en los mayores de 60 años con un aumento de 95.44% (p=6.056E07) que son estadísticamente significativos al ser comparados con los menores de 10 años. Esto también se refleja al compararlos con los grupos anteriores, principal-

Gráfica 7. Hexagonalidad. % de células hexagonales.



Gráfica 8. Paquimetría. Grosor corneal.



mente en los mayores de 60 años con un aumento del 51.5% (0.0013) que también fue estadísticamente significativo.

Lo anterior se traduce igualmente en la pérdida de la calidad de las células, perdiendo éstas su hexagonalidad a partir del grupo de 20-29 años, con una disminución de 14.47% (p=0.0037), pero encontrando también en el grupo de mayores de 60 años la mayor pérdida con 19.98% (p=6.1365E05) que fueron estadísticamente significativos al compararlos contra los menores de 10 años, lo que da una disminución de la hexagonalidad de 0.22% por año. Estas pérdidas también se vieron reflejadas al comparar los grupos con el inmediatamente anterior, donde el grupo de la tercera década presentó una disminución de 14.39% (p=0.0037) que fue significativa, y el de la cuarta década con una disminución de 7.41% (p=0.24) que no fue estadísticamente significativa y que continuó con una disminución progresiva pequeña que no fue significativa.

En cuanto al coeficiente de variación, también se correlacionó muy bien con la pérdida de la hexagonalidad, ya que a medida que se perdía dicha hexagonalidad aumentaba la variación en las formas celulares, encontrándose también un aumento importante apartir de la tercera década con 5.63% (0.374, significativa) al compararla con los menores de 10 años, y de 5.56% (p=0.0336) al compararlos con los de la primera, sin ser estos estadísticamente significativos. Al comparar los mayores de 60 años con el primer grupo obtuvimos un aumento total de 23.32% (p=0.01, no significativa) que dio un promedio de aumento de 0.26% por año en el coeficiente de variación.

La paquimetría no presentó variaciones estadísticamente significativas en ninguno de los grupos, sin embargo, encontramos su pico máximo en los mayores de 60 años con un aumento de 16.95% (p=0.84) al compararlo con los menores de 10 años y que da un aumento del 0.19% por año. También podemos decir que el máximo pico al hacer la comparación con el grupo anterior correspondía a este mismo grupo con un aumento del 17.16% (0.41) que tampoco fue estadísticamente significativo.

Todo lo anterior se encuentra dentro de lo reportado en la literatura por McMahon y cols. en 1983 y Pols en 1990, quienes reportan un conteo celular entre 3,000 y 5,000 células por mm^2, y que éste decae con el paso de los años. Cabe remarcar que en nuestro estudio se encontró una primera caída significativa en el grupo de los 20-29 años de un 15.8% como ya se mencionó anteriormente, siendo el pico más alto de pérdida en el grupo de mayores de 60 años de 41.11%, con un promedio de pérdida de 0.46% por año; que concuerda con lo reportado por Pols en 1990, aunque Smolin reporta una pérdida de hasta 66.66% en este grupo de edad. Al comparar los grupos con el anterior, la mayor pérdida se encontró entre los mayores de 60 con una pérdida del 21.2%. También se pudo confirmar que a mayor pérdida celular, mayor aumento en la superficie de área que mostró su pico máximo en el grupo de mayores de 60 años con un aumento de 95.94% en general, con un aumento de 1.072% por año y estando también los picos máximos de incremento entre los grupos de la sexta década y los mayores de 60 años con 51.50%, siendo éstos estadísticamente significativos.

El polimegatismo, valorado mediante la medición del porcentaje de hexagonalidad, tuvo un descenso en los diferentes grupos, siendo la caída más importante en la tercera década de la vida con 14.47% para después presentar variaciones que no fueron estadísticamente significativas, interpretándose como un epitelio sano, tal como lo reportó Krachmer en 2000. Estos datos se compaginaron con el aumento del coeficiente de variación que presentó un aumento importante en la tercera década (5.63%) y en la cuarta (15.40%) sin ser estos estadísticamente significativos.

En la paquimetría no hubo variaciones significativas en casi todos los grupos, con excepción del de mayores de 60 años donde, sin ser estadísticamente significativo, se observó una elevación de casi 17.16% que concuerda con lo reportado por Bourne y Holladay, quienes referían que la paquimetría refleja indirectamente la función endotelial.

CONCLUSIONES

En nuestro estudio encontramos una pérdida progresiva de las células endoteliales con la edad, con un promedio de 0.46% por año, la cual es significativa a partir de la tercera década de la vida (15.8%) y se hace más marcada después de los 60 años, donde alcanza 41.11%. Esto lleva a un aumento progresivo de la superficie de área, que también empieza a ser significativo a partir de la segunda década y llega a un pico máximo de 95.44% en los mayores de 60 años, con un promedio de incremento de 1.07% por año. La hexagonalidad empieza a ser significativa a partir de la tercera década, donde ocurren los mayores cambios, y esto conlleva a un aumento del coeficiente de variación que tiene sus cambios más marcados entre la tercera y cuarta décadas, pero sin ser estos significativos. En cuanto a la paquimetría, se mantuvo muy estable en las diferentes edades, hasta llegar a los mayores de 60 años, donde presentó un aumento importante, pero sin ser estadísticamente significativo.

REFERENCIAS

1. Krachmer J. Specular microscopy. Cornea. 1997.
2. Benetez BA. Comparison of Corneal Endotelial Image Analysis by Konan SP8000 and Bio-Optics Bambi Systems. Cornea 1999; 18 (1): 67-72.
3. Polse K, Brand RJ, Cohen SR, Guillon M. Hypoxic effect on corneal morphology and function. Invest Ophthalmo Vis Sci 1990; 31:1542-1554.
4. McMahon T, Polse K, McNamara N. Long-term PMMA contact lens wear reduces corneal function. ARVO abstracts. Invest Ophthalmo Vis Sci 1983; 34:1008.
5. Krachmer J. Microscopia especular. Los requisitos en Oftalmología. Madrid: Mosby; 2000.
6. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edlehauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. Curr Eye Res 1985; 4(6):671-677.
7. Thompson DW. The forms of tissues on cell-aggregates. En: Bonner JT (ed). On Growth and form. Cambridege: University Press; 1969:88-119.
8. Honda H. Geometrical models for cells in tissues. 1983; 81:191-248
9. Geroski DH, Matsuda M, Yee RW, Edelhouser HF. Pump function of the human corneal endothelium, effects of eye and corneal guttata. Ophthalmology 1985; 92(6):759-763.
10. Riley M. Transport of ions and metabolites across the corneal endothelium. En: McDevitt D (ed). Cells biology of the eye. New York: Academic press; 1982:53-95.
11. Watsky MA, McDermontt ML, Edlerhauser HF. In vitro corneal endothelium permeability in rabbit and human: the effects of ages, cataract surgery and diabetes. Exp Eye Res 1989; 49:751-767.
12. Watsky MA, McCartney MD, McLaughlin BJ, Edlerhauser HF. Corneal endothelial junctions and the effect of ouabaim. Invest Ophthalmo Vis Sci 1990; 31(5):933-941.
13. Smolin G. Endothelial Funtion. The Cornea. 1994.
14. Bourne WM, Kauffman HE. Specular microscopy of human corneal endothelium in vivo. Am J Ophthalmol 1976; 81(3):319-323.
15. Holladay JT, Bishop JE, Prager TC. Quantitative endothelial microscopy. Ophthalmic Surg 1983; 14(1):33-40.
16. Louis E. Probest, Quality of Corneal Donor Tissue in the greater than 75 year age Group. Cornea 1997; 16 (5):507-511.
17. Nuijts RMMA. Ocular toxicity of intraoperatively used drugs and solutions. New Amsterdam: Kugler; 1995.
18. Roa GN, Lohman LE, Aquavella JV. Cell-size-shape relationships in corneal endothelium. Invest Ophthalmol Vis Sci 1982; 22:271.