

**REPRODUCIBILIDAD INTRA E INTEROBSERVADORES DE LOS
RESULTADOS DE RECUENTO ENDOTELIAL CON MICROSCOPIA
ESPECULAR DE NO CONTACTO TOPCON SP-3000P® EN LA FUNDACIÓN
OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER – CLÍNICA CARLOS ARDILA LULLE
(FOSCAL)-CENTRO OFTALMOLOGICO VIRGILIO GALVIS**

JULIAN ALBERTO DELGADO GARCIA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
ESCUELA DE MEDICINA
FUNDACIÓN OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER
BUCARAMANGA
2011**

**REPRODUCIBILIDAD INTRA E INTEROBSERVADORES DE LOS
RESULTADOS DE RECUENTO ENDOTELIAL CON MICROSCOPIA
ESPECULAR DE NO CONTACTO TOPCON SP-3000P® EN LA FUNDACIÓN
OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER – CLÍNICA CARLOS ARDILA LULLE
(FOSCAL)- CENTRO OFTALMOLOGICO VIRGILIO GALVIS**

Trabajo de investigación presentado Para optar al título de:
OFTALMÓLOGO

Autor:
JULIAN ALBERTO DELGADO GARCIA

Directores de tesis y asesores metodológicos:
VIRGILIO GALVIS RAMIREZ
ALEJANDRO TELLO HERNÁNDEZ
LAURA ANDREA RODRIGUEZ VILLAMIZAR MD MSc

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
ESCUELA DE MEDICINA
FUNDACIÓN OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER
BUCARAMANGA
2011

CONTENIDO

1. PREGUNTA DE INVESTIGACION:	7
2. JUSTIFICACIÓN	10
3. MARCO TEÓRICO	11
3.1 Generalidades	11
3.2 ANATOMIA Y ULTRESTRUCTURA ENDOTELIAL	12
3.3 FUNCIONES DEL ENDOTELIO CORNEAL	13
3.4 FACTORES QUE AFECTAN FUNCION DE BARRERA ENDOTELIAL	14
3.5 FACTORES QUE ALTERAN FUNCION DE BOMBA ENDOTELIAL.	15
3.6 INTERVENCIONES QUIRURGICAS Y NO QUIRURGICAS EN OFTALMOLOGIA QUE PUEDEN ALTERAR EL ENDOTELIO CORNEAL	16
3.7 FUNCION SECUNDARIA DEL ENDOTELIO CORNEAL	17
3.8 MECANISMOS DE INHIBICION MITOTICA DEL ENDOTELIO CORNEAL	18
3.9 TECNICAS DE EVALUACION DEL ENDOTELIO CORNEAL: MICROSCOPIA ESPECULAR	19
4. OBJETIVOS	22
5. MATERIALES Y MÉTODOS	23
6. CONSIDERACIONES ETICAS	24
7. DESCRIPCION DE LOS INDICADORES DE RECUENTO ENDOTELIAL	25
8. RESULTADOS	26
8.1 REPRODUCIBILIDAD INTEREVALUADOR	26
8.1.1 PROMEDIO NÚMERO DE CELULAS POR EVALUADOR DE CADA AREA CORNEAL.	26

8.1.2 REPRODUCIBILIDAD INTEREVALUADOR DE HEXAGONALIDAD CELULAR ENDOTELIAL	27
8.1.4 REPRODUCIBILIDAD INTEREVALUADOR TAMAÑO CELULAR PROMEDIO	39
8.2 REPRODUCIBILIDAD INTRAEVALUADOR	45
8.2.1 PROMEDIO DE NÚMERO DE CELULAS ENTRE TOMA 1 Y TOMA 2	45
8.2.2 REPRODUCIBILIDAD INTRAEVALUADOR DE HEXAGONALIDAD CELULAR ENDOTELIAL	46
8.2.3 REPRODUCIBILIDAD INTRAEVALUADOR DENSIDAD CELULAR ENDOTELIAL	52
8.2.4 REPRODUCIBILIDAD INTRAEVALUADOR TAMAÑO CELULAR PROMEDIO	58
9. DISCUSIÓN	65
CONCLUSIONES	68
RECOMENDACIONES	69
BIBLIOGRAFÍA	70

RESUMEN

TÍTULO: REPRODUCIBILIDAD INTRA E INTEROBSERVADORES DE LOS RESULTADOS DE RECUESTO ENDOTELIAL CON MICROSCOPIA ESPECULAR DE NO CONTACTO TOPCON SP-3000P® EN LA FUNDACIÓN OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER*

Autor: Julián Alberto Delgado García**

Palabras claves: Densidad Celular Endotelial, Número de Células Analizadas, Tamaño Celular Promedio, Hexagonalidad Celular, Microscopio especular de No Contacto, Límites de Acuerdo (LoA), Coeficiente de correlación intraclase (CCI)

Objetivo: Analizar la reproducibilidad Inter-intra observador de cada uno de los parámetros que da un examen de Recuento Endotelial Celular con el microscopio especular de no contacto Topcon SP-3000P® en la Fundación Oftalmológica de Santander.

Materiales y Métodos: El presente estudio de evaluación tecnológica diagnóstica fue realizado durante el segundo periodo de 2009 en la FUNDACION OFTALMOLOGICA DE SANTANDER. Se realizaron medidas de: Número de células analizadas, Tamaño celular promedio, Densidad Celular Endotelial, Hexagonalidad celular en el centro corneal y en cuatro regiones paracentrales con el Microscopio Especular TOPCON SP3000, dos tomas realizadas por el mismo examinador y quince minutos después desconociendo los valores obtenidos por el Examinador 1, dos tomas realizadas por un Segundo examinador.

Resultados: Tanto Interevaluador como Intraevaluador se encontró un CCI mayor o igual a 0.90 en la toma central y 4 tomas paracentrales para las medidas de Densidad Corneal y Tamaño Promedio Celular y un CCI menor a 0.60 para Hexagonalidad. Los límites de acuerdo de 95% para evaluar el acuerdo Intra-inter evaluador fueron menores para las medidas centrales.

Conclusiones: El examen de Recuento Endotelial con el microscopio especular de No contacto TopconSP-3000 es reproducible Intra-Interexaminador para las medidas de Densidad endotelial Celular y Tamaño promedio Celular teniendo mejor acuerdo intra-interevaluador las medidas en el área corneal central para estas variables. La reproducibilidad Intraevaluador e Interexaminador para la variable Hexagonalidad es débil

* Tesis de Grado

** Facultad de Salud; Especialización en Oftalmología; Director: Virgilio Galvis M.D.

SUMMARY

TITLE: REPRODUCIBILITY WITHIN-EXAMINER AND INTEREXAMINER OF CORNEAL ENDOTHELIAL CELL DENSITY (ECD) MEASUREMENTS WITH NONCONTACT SPECULAR MICROSCOPE: TOPCON SP-3000P® AT THE FUNDACIÓN OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER*

AUTOR: Julián Delgado García**

Key words: Endothelial cell density (ECD). Number of endothelial cells. Average cell size (ACS). Endothelial cell density (ECD). Hexagonality. Noncontact specular microscope (NCSM). Limits of agreement (LoA). Intraclass correlation coefficient (ICC)

Objective: To assess the within- and between-examiner reproducibility of corneal endothelial cell density (ECD) measurements with noncontact specular microscope: Topcon SP-3000P® in the Fundación Oftalmológica de Santander

Materials and methods: The present study of diagnostic technology evaluation was made during the second period of 2009 in the FUNDACION OFTALMOLOGICA DE SANTANDER. Number of endothelial cells, Average cell size (ACS), endothelial cell density (ECD), and hexagonality values were independently calculated by two examiners with the noncontact specular microscope (NCSM) Topcon SP-3000 in the center and at 4 paracentral areas of 41 eyes of 28 healthy patients. For the Inter-examiner reproducibility, fifteen minutes after a second examiner measured central and four paracentral corneal areas twice. Interexaminer and Within-examiner was analyzed using the Bland-Altman 95% limits of agreement, intra-class correlation coefficient (ICC).

Results: Inter-Intraexaminer reproducibility was the best for ACS and ECD measurements in the central and paracentral corneal measurements (ICC > 0.90) but weak for hexagonality (ICC < 0.65). The 95% limits of agreement (LoA) and Standard Deviation to assess Intra-interexaminer reproducibility were also minor for central corneal ACS and ECD.

Conclusions: The non contact specular microscope Topcon SP-3000 allows between examiner and within examiner reproducible ACS and ECD measurements on normal corneas, accurate is also the best for central corneal areas. For the calculation of morphometric parameter such as Hexagonality, both interexaminer and within examiner reproducibility was weak.

* Thesis of Grade

** Faculty of Health: Ophthalmology Specialization; Dir. Virgilio Galvis MD

1. PREGUNTA DE INVESTIGACION:

¿Es reproducible la toma de medidas para recuento endotelial INTEREVALUADOR E INTRAEVALUADOR por el microscopio especular de no contacto Topcon SP-3000 en pacientes con corneas sanas en una población de Santander Colombia?

2. JUSTIFICACIÓN

Debido a las características especiales de las células endoteliales, incluyendo su Inhibición mitótica y la pérdida de Densidad Endotelial con la edad, la determinación del estado endotelial antes de cualquier procedimiento es crítico, con el fin de tomar medidas adicionales necesarias para optimizar su protección y disminuir la pérdida celular.

La cirugía de catarata es una de las cirugías oftalmológicas más frecuentes a nivel mundial, siendo esta patología la principal causa de ceguera reversible, alcanzado niveles de hasta el 50% de la población en América Latina. Al aumentar el número de oftalmólogos y de cirugías oftalmológicas, se evidenció que en los últimos años la segunda causa de ceguera pasó a ser las complicaciones de las cirugías de catarata, siendo una de las principales la descompensación corneal postpseudofaquia. Esta se puede presentar más frecuentemente por pérdida de células endoteliales y la motivación de este estudio se dirige hacia la conservación de las mismas para evitar este tipo de complicaciones. La pérdida endotelial se asocia a diversos factores, entre ellos la habilidad quirúrgica, el tipo de cirugía, los materiales utilizados y factores propios del paciente.

Para este estudio, se desea demostrar la reproducibilidad del equipo de microscopía especular de no contacto Topcon SP-3000P para futuros trabajos de investigación relacionados a la pérdida de endotelio corneal como la cirugía de catarata o de LASIK y poder disminuir el riesgo de pérdida de células endoteliales.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 GENERALIDADES

La cornea ocupa la sexta parte anterior de la circunferencia del globo. Es transparente, avascular y altamente inervada. Debido a la avascularidad de la cornea, sus requerimientos de oxígeno son tomados del oxígeno atmosférico disuelto en la lagrime y de la irrigación palpebral cuando se cierran los párpados. La mayoría de nutrientes como los carbohidratos, vitaminas, aminoácidos y otros sustratos son suministrados a la cornea por el humor acuoso a través del endotelio corneal con una mínima contribución de las arcadas vasculares limbares. Algunos factores de crecimiento, complejos inmunes y otras sustancias como el retinol son también secretados por la glándula lagrimal y llevados a la cornea por las lagrimas. El dióxido de carbono y otros productos finales del metabolismo corneal son removidos a través del endotelio corneal hacia el humor acuoso, a la película lagrimal y a los capilares limbares.²

Al nacimiento, el diámetro horizontal de la cornea es de 9.8mm aproximadamente (área de 102 mm², o aproximadamente 75 a 80% del tamaño de la cornea de un adulto. Adicionalmente, al nacer, el grosor del epitelio mide aproximadamente 50 um, la membrana de Bowman 12 um, el estroma corneal central 450 um, la membrana de Descemet 4 um y el endotelio 5 um.²

Durante la infancia, la cornea continua creciendo, llegando a alcanzar el diámetro horizontal del adulto a los 2 años (diámetro horizontal de 11.7 mm con área de 138 mm²) y pocos cambios en el tamaño, forma y propiedades ópticas de ahí en adelante. La única estructura de la cornea que se engrosa con la edad es la membrana de Descemet, que gradualmente incrementa de 6 a 11 um del nacimiento a la vejez.²

La cornea es más delgada en el centro, midiendo aproximadamente 520 um e incrementa su grosor hasta aproximadamente 700 um al llegar al limbo. Los 4 mm centrales de la cornea contienen el centro óptico de la visión central, la cual tiene superficie y estructura regular casi esférica. La periferia corneal es usualmente

mas irregular y torica que el centro, dando a la cornea entera una forma hiperbolica.²

3.2 ANATOMIA Y ULTRESTRUCTURA ENDOTELIAL

El endotelio corneal de un niño se compone una monocapa de aproximadamente 500.000 células derivadas de la cresta neural, cada una midiendo cerca de 5 μm de grosor por 20 μm de diámetro y cubriendo una superficie de 250 μm^2 . Estas células se encuentran en la superficie posterior de la cornea y forman un mosaico poligonal irregular. La apariencia tangencial de cada célula endotelial es irregular usualmente uniforme en tamaño y de forma hexagonal. Los espacios intercelulares se interdigitan unos a otros a través de fuertes uniones apicales discontinuas (macula occludens) o Tight junctions: que están formadas por la fusión de membranas celulares opuestas en las células endoteliales formando puentes de soldadura que las mantienen unidas, se extienden alrededor de toda la parte apical del endotelio para sellar las hendiduras intercelulares al contacto con el medio extracelular manteniendo la función de barrera endotelial. Y las gap junctions laterales, formando una barrera permeable a la difusión de pequeñas partículas como iones y pequeñas moléculas³. Este espacio mide aproximadamente 20 nm entre célula y célula. El endotelio corneal contiene numerosas organelas citoplasmáticas, particularmente mitocondrias, por lo cual tienen la segunda tasa más alta de metabolismo aeróbico en el ojo, próximo a los fotoreceptores retíales².

Al nacer, la densidad de células del endotelio corneal en el area central es de alrededor de 5000 células/ mm^2 . Debido a que el endotelio corneal tiene una limitada capacidad regenerativa, se ha documentado disminucion en la densidad de celulas endoteliales centrales con la edad que tipicamente comprende 2 fases: una fase rapida y una lenta. Debido al crecimiento corneal y relación con la edad, hay muerte celular selectiva: durante el componente rápido, la densidad de células endoteliales centrales disminuye exponencialmente a cerca de 3500 células/ mm^2 a los 5 años de edad y de 3000 células/ mm^2 a los 20 años. Luego se da la fase lenta donde la perdida endotelial se da a razón de 0.6% por año, resultando en un conteo celular de 2500 células/ mm^2 en la senectud. Debido a que el endotelio mantiene su continuidad por migración y expansión de las células sobrevivientes, al disminuir las células endoteliales con la edad, disminuye el porcentaje de células hexagonales (pleomorfismo) y aumenta el coeficiente de variación del

tamaño celular (polimegatismo).⁴⁻⁵ Es importante al revisar esta información, que los datos son tomados de promedios de medidas de densidad central de endotelio corneal de poblaciones caucásicas de EEUU, tomando así que puedan existir diferencias raciales y geográficas.

Asimismo, los estudios fueron hechos con datos de densidad endotelial en area central, diferenciándose de los recuentos periféricos en los que se encontró mayor densidad endotelial. Encontrándose mayor densidad en la periferia superior comparándose con el area central mayor a 10% y cerca de la línea de Shwalbe de casi 20-30%¹². Basandonos en estos estudios, se aprecia que la densidad de células endoteliales centrales disminuye un promedio de 50% desde el nacimiento hasta el fallecimiento. Debido a que la descompensación corneal no ocurre hasta que los valores rodeen las 500 células/mm², parece que existe una reserva celular potencial remanente luego de pasar los límites de pérdida endotelial para la edad. Parece que tenemos suficiente reserva de células después de un promedio de vida esperado. Se sugiere que una persona sana, con un endotelio corneal normal podría mantener la transparencia corneal hasta un mínimo de 215 años, si los humanos viviésemos ese tiempo¹².

3.3 FUNCIONES DEL ENDOTELIO CORNEAL

La función primaria del endotelio corneal es mantener la salud, turgencia y claridad de la cornea a través de un sistema de bomba que fue descrito por primera vez por David Maurice¹³. Una función secundaria que es incluso conocida es secretar hacia la membrana de Descemet localizada hacia anterior y hacia el glicocaliz localizado posteriormente. Teniendo un suficiente número de células endoteliales para cubrir la superficie posterior de la cornea a lo largo con integridad de las uniones celulares (Fuertes y Gap), las cuales están presentes en el espacio intercelular entre las células endoteliales, establece una función de barrera del endotelio. Clínicamente la función de barrera de la cornea puede ser valorada in vivo con el uso del microscopio especular o con microscopia confocal (densidad endotelial celular) o fluorofotometria (permeabilidad). En humanos sanos esta barrera previene el flujo de salida de líquido desde el humor acuoso a el estroma corneal, permitiendo la moderada difusión de nutrientes, agua y otros metabolitos para cruzar dentro del estroma a través de 20 nm de espacio intercelular¹⁴. Esta membrana parece insuficiente pero cuando uno considera que la mayoría de todos

los nutrientes de las otras capas vienen del humor acuoso, la situación es diferente.

3.4 FACTORES QUE AFECTAN FUNCION DE BARRERA ENDOTELIAL

Un sin numero de factores que afectan la función de barrera endotelial son conocidos, incluyendo los siguientes: Disrupción reversible de las uniones celulares (como las Soluciones libres de Calcio o Soluciones con restricción de Glutación), Daño Mecánico (trauma, Implante de lentes intraoculares, Instrumentos quirúrgicos), o Heridas químicas (soluciones toxicas intraoculares, preservativos). Afortunadamente si existen suficientes células viables para migrar y recuperar la superficie corneal posterior por migración sobre el área de superficie alterada, se restablecen las uniones intercelulares, las funciones de barrera y el endotelio corneal es restaurado².

La primera evidencia que sugiere que el endotelio corneal posee bombas metabólicas fue la observación del edema estromal que es dependiente de la temperatura¹⁵. Bajar la temperatura hace que las bombas metabólicas endoteliales se detengan en su funcionamiento lo que causa un edema estromal, mientras que si se restaura la temperatura se regresa al estado fisiológico, resolviendo el edema. Fue determinado que la membrana plasmática de las células endoteliales posee transportadores de proteínas dependientes de ATP que catalizan los movimientos de los iones desde el estroma hasta el humor acuoso, creando un gradiente osmótico que retira el agua del estroma corneal. Es importante notar que este gradiente osmótico ocurre solamente si la membrana endotelial conserva las funciones de barrera y no ha sido dañada.

El transportador primario de proteínas creando este efecto fue después determinado como una bomba Na^+/K^+ -ATPasas. El número y la densidad de estos sitios de bomba de Na^+/K^+ -ATPasas fue incluso cuantificado utilizando la [³H]-ouabaina, y que ha podido calcular aproximadamente 3 millones de sitios donde se encuentra la Na^+/K^+ -ATPasas en la membrana lateral de una simple célula endotelial (para un promedio total de 4.4 trillón de sitios/mm² a lo largo de toda la extensión de la membrana lateral). En vivo se puede conocer el funcionamiento de esta bomba de Na^+/K^+ -ATPasas midiendo que tan rápido se recupera el espesor corneal midiendo la paquimetría después del uso prolongado de un lente de contacto impermeable al oxígeno¹⁶.

3.5 FACTORES QUE ALTERAN FUNCION DE BOMBA ENDOTELIAL.

Un sinnúmero de factores son conocidos que alteran la función de bomba endotelial: Inhibición farmacológica con ouabina, disminución de la temperatura, la carencia de bicarbonato o inhibidores de anhidrasa carbónica, y la reducción crónica del número de células en trauma mecánico, daño químico o enfermedades. Afortunadamente los mecanismos compensadores fisiológicos previenen que el edema corneal ocurra a cierto grado (densidad endotelial central entre 2.000 y 750 cells/mm²) incrementando la actividad de los sitios donde la bomba esta presente (requiriendo mas ATP) y/o incrementando el numero total de células y densidad de los sitios donde se encuentra la bomba de Na/K-ATPasa sobre las membranas laterales de las células endoteliales. En casos de distrofia endotelial de Fuchs la cornea ha sido entrenada para mantener la transparencia y el grosor normal, a pesar de que tiene pocas células endoteliales, aumentan los sitios de activación de la bomba Na/K-ATPasa para compensar el aumento de permeabilidad. El punto donde estos mecanismos compensatorios pueden fallar es cuando el endotelio corneal alcanza niveles de 500 cell/mm². En este numero pequeño la permeabilidad ha aumentado intensamente tanto hasta el punto que las células endoteliales se vuelven delgadas y alargadas y no tienen suficiente espacio en las membranas laterales para mas sitios de bomba metabólica por lo tanto la bomba falla y el balance resulta en edema corneal¹⁵⁻¹⁶.

Cuando la barrera y el sistema de bomba están funcionando normalmente, el estroma corneal tiene un total de 179 mEq/L (134.4 mEq/L libres y 44.6 mEq/L unidos a los PGs estromales) de concentración de Sodio Na⁺, mientras el humor acuoso tiene una concentración de 142.9 mEq/L (todo libre). Por lo tanto existe un gradiente osmótico de 30.4 mm de Hg, causando que el agua pase del estroma al humor acuoso¹⁷.

Las células endoteliales contienen altas concentraciones de anhidrasa carbónica, la cual forma ion Bicarbonato (HCO₃⁻) del metabolismo de CO₂. El HCO₃⁻ pasa a través de este gradiente de concentración a el espacio extracelular o a través de la membrana vía Cl⁻/HCO₃⁻, o a través de canales de Cl. El bicarbonato puede incluso entrar a la célula vía a Na⁺/HCO₃⁻ co-transportador y ser regulado el PH intracelular al menos por un intercambiador basal de Na⁺/H⁺. El transporte de Cl⁻ endotelial ocurre a través de ambos canales y transportadores, con el Cl⁻ entrando a la célula desde el estroma vía transportador basal Na⁺/K⁺/2Cl⁻ y el

cambiador de $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$, y saliendo dentro del humor acuoso vía canales de aniones de la vía apical¹⁸.

3.6 INTERVENCIONES QUIRURGICAS Y NO QUIRURGICAS EN OFTALMOLOGIA QUE PUEDEN ALTERAR EL ENDOTELIO CORNEAL

Aunque este trabajo fue con ojos realizado en ojos años y endotelio corneal normal, existen una serie de factores que podrían potencialmente dañar el endotelio corneal. La mayoría de intervenciones que afectan la cornea/endotelio incluyen el uso de lentes de contacto, la cirugía refractiva (LASIK, PRK), y la cirugía intraocular (cirugía de catarata, cirugía refractiva con lente intraocular, trasplante de cornea).

El uso de lentes de contacto no parece causar pérdida endotelial como tal, pero puede inducir un edema agudo reversible y/o causar signos de estrés endotelial (Aumento de Polimegatismo y disminución de pleomorfismo). Estos cambios se a pensado que ocurren por hipoxia ya que no se observan con el uso de lentes de contacto permeables al oxígeno.

La cirugía basada en Excimer laser para la corrección de defectos refractivos se ha encontrado que producen un estrés endotelial pasajero (aumentando el polimegatismo y disminuyendo el pleomorfismo) con pérdida de la función de barrera en especial en cornea con un grosor residual menor o igual a 200 micras, presumiblemente por la onda de choque producida por la ablación laser. No se han encontrado efectos a largo plazo sobre el endotelio corneal en cirugía refractiva con laser.¹⁹

Realizando una comparación de todas las cirugías intraoculares se sabe que causan varios grados de daño endotelial uno agudo y el mas importante es el daño a largo plazo que estas pueden crear. Las incisiones pequeñas modernas para cirugía de catarata (Facoemulsificación de Kelman mas Lente Intraocular) ha disminuido exponencialmente la pérdida de densidad endotelial central; un año después de cirugía de catarata, la densidad de células endoteliales disminuye en 10.5%.²⁰ Adicionalmente no cambios significativos en cuanto a polimegatismo o pleomorfismo se ha encontrado. Este componente rápido de pérdida de células endoteliales es similar al encontrado con la extracción extra capsular de cataratas, otra vía tradicional para realizar cirugía de catarata. El cual resulta en 9.1% en la densidad de células endoteliales posteriores a 1 año de cirugía.²⁰ La ruptura

capsular, la pérdida de vítreo, las cataratas duras y la edad al tiempo de la cirugía son los factores que han tenido mayor significancia en las ratas de pérdida endotelial.²⁰

La rata de pérdida de células endoteliales a largo plazo para cirugía de Facemulsificación es desconocida, mientras para cirugía extra capsular de catarata los datos muestran una pérdida lineal de 2.5% células desde el primer al décimo año posterior a la cirugía²¹. Los datos tempranos de cirugías de Implante de lente intraocular para cirugía refractiva muestran menos daño a la cornea/endotelio que la cirugía de catarata

Finalmente se ha encontrado que los trasplantes de cornea tienen los porcentajes más grandes a largo plazo de la pérdida de densidad central endotelial con respecto a los otros procedimientos de segmento anterior y esto se podría explicar por la pérdida periférica de las células madre del adulto que están localizadas sobre o cerca de la línea de Schwalbe.²² Estudios a largo plazo a 20 años postoperatorios de trasplante corneal han mostrado que la pérdida de células endoteliales ocurre en dos fases: una rápida y una lenta. Durante la fase rápida, la densidad endotelial central disminuye exponencialmente en 1 año a 36.7% de pérdida celular y a 5 años 8.4% de pérdida celular después de cirugía.²³ Luego hay un periodo de pérdida de densidad endotelial que es más lenta a una rata de 4.2% por año.²³ Al mismo tiempo gradualmente aumenta el polimegatismo celular y disminuye el pleomorfismo.

3.7 FUNCION SECUNDARIA DEL ENDOTELIO CORNEAL

Una función secundaria del endotelio corneal es la habilidad para secretar matriz extracelular. La secretada y depositada matriz extracelular a lo largo de la superficie del endotelio es conocida como Membrana de Descemet. Y es esencialmente una membrana basal de vida larga acumulada sobre las células endoteliales. A pesar de que algunas fibrillas de colágeno del estroma posterior están sobre la membrana de Descemet, este no tiene uniones o complejos de adhesión. La membrana de Descemet es altamente elástica y fuerte, esta compuesta principalmente por colágeno (tipo IV y VIII) y glicoproteínas (fibronectina, laminina, trombospondinas). Al nacimiento tiene un espesor de 4 μm , después del nacimiento el colágeno es gradualmente adicionado a esta capa fetal inicial a través de la vida, comenzando a ser diferente como una capa sin bandas y conteniendo pequeños diámetros de fibrillas de colágeno que se

agrupan dentro de esa matriz.²⁴ Típicamente la membrana de Descemet en adultos sanos mide 10- a 15- μm (4- μm espesor de la parte con bandas y 6- a 11- μm espesor de la capa sin bandas). Con enfermedades tales como la distrofia endotelial de Fuchs, queratopatía bulosa, la membrana de Descemet se vuelve gruesa por deposición anormal de colágeno que puede ser focal o difusa. Esta nueva deposición de colágeno anormal es llamada la capa posterior de colágeno de la membrana de Descemet y clasificada como uno de estos tres tipos: fibrilar, en banda y fibrocelular.²⁵ Presumiblemente esta banda posterior de colágeno se deposita porque las células endoteliales fueron estresadas por daño o enfermedad.

Finalmente se sabe que el endotelio secreta una capa de Glicocaliz de 0.5 μm de espesor en su superficie apical y funcionalmente parece que protege al endotelio particularmente de trauma por cirugías de segmento anterior.¹⁹

3.8 MECANISMOS DE INHIBICION MITOTICA DEL ENDOTELIO CORNEAL

Las células endoteliales corneales son inhibidas en vivo en la Fase G1 del ciclo celular⁶⁻⁷, pero retienen la capacidad de proliferar⁷⁻⁸. Esto de que las células endoteliales mantienen su capacidad de proliferar mas no se dividen conduce a la hipótesis de que el endotelio corneal debe mantenerse activamente en un estado de No proliferación. Entre los factores que parecen contribuir con el estado no replicativo del endotelio corneal están la carencia Autocrina o Paracrina de estimulación por factores positivos de crecimiento, la edad, el factor transformante de crecimiento β (TGF- β) y la inhibición de contacto⁵.

El Humor Acuoso el cual se encuentra en la región posterior del endotelio, no tiene concentraciones significantes de factores de crecimiento positivos, a pesar que las células endoteliales expresan RNAmensajero y proteínas para un número de factores de crecimiento y sus receptores existe poca aparente estimulación autocrina o paracrina mitogenica, incluso mayor después de que existe perdida celular. La edad es un factor donde las células de individuos ancianos entran en el ciclo celular más despacio que los individuos jóvenes y requieren por ende mayor estimulación mitogenica.

El factor transformante de crecimiento β puede jugar un papel en la inhibición de la proliferación endotelial. En las células corneales endoteliales humanas en vivo hay expresión de los receptores para este Factor de Crecimiento β que son de tipo I, II, III, los cuales son requeridos para inducir la señal de transducción de este factor. En células endoteliales humanas cultivadas, estas sintetizan RNAm y proteína para factor transformante de crecimiento β , estas células en vivo son

expuestas al factor transformante de crecimiento β -2 presente en el humor acuoso. Estudios usando células endoteliales cultivadas de ratas y conejos indican que un factor transformante de crecimiento β -1 y factor transformante de crecimiento β -2 en el humor acuoso suprimen la entrada de las células endoteliales a la Fase S del ciclo celular. Como en muchos tipos de células la Inhibición de contacto juega un papel importante en el “rol” de inhibir la proliferación corneal del endotelio. Esto parece ser cierto incluso en el endotelio de humanos donadores, ya que estudios de laboratorio revelan que en corneas humanas de donantes de 50 años o más, la exposición de la monocapa endotelial intacta a una estimulación mitogénica fuerte no presenta proliferación. Sin embargo las células muestran respuestas a esta estimulación si las uniones entre las células son interrumpidas por un trauma mecánico o tratamiento con ácido etilendiaminotetraacético o EDTA.¹⁰

La supresión de la Fase S en células endoteliales cultivadas de ratas y conejos sugiere que el TGF podría inhibir la proliferación en un endotelio maduro en el cual puede fallar el factor de inhibición. Los estudios conducen a la hipótesis que en un endotelio maduro en vivo, el Factor transformante de crecimiento β -2 produce un efecto antiproliferativo y actúa como un mecanismo en caso de que disminuya el factor inhibitorio entre célula y célula.¹⁰

Los inhibidores de Ciclina dependientes de quinasa o (**CKIs**) como el p27kip1 y el p15IN4b, ayudan a mediar la inhibición mitótica de otros tipos de células. La función de los inhibidores dependientes de Ciclina-quinasa en el endotelio corneal fue determinada para por primera vez determinar las características cinéticas de la expresión de p27kip1 en el endotelio de ratas recién nacidas, encontrándose en los estudios del ciclo celular la exposición de las células a los mitógenos conducen a un aumento de la expresión de ciclina D1, un factor regulador que se une y activa las quinasas dependientes de ciclina (CDK4). La quinasa dependientes de ciclina D1 (D1-CDK4) media la fosforilación del gen producto de retinoblastoma pRB. El mantenimiento en fase G1 del ciclo celular de la célula endotelial requiere un complejo mecanismo regulatorio mediado al menos en parte por los inhibidores de Ciclina dependientes de Quinasa como el p27kip1 quien ayuda a mediar el arresto celular inducido por el contacto célula-célula y el Factor transformante de crecimiento β .¹⁰

3.9 TECNICAS DE EVALUACION DEL ENDOTELIO CORNEAL: MICROSCOPIA ESPECULAR

Las técnicas de exanimación clínica del segmento anterior eran rudimentarias antes del desarrollo de la primera lámpara de hendidura por Gullstrand en 1911.²⁶ La combinación de la fuente de iluminación focal de Gullstrand y el microscopio de

Czapski permite que el rayo de luz sea proyectado en varios ángulos y enfocada en diferentes ángulos del ojo, creando el primer sistema satisfactorio para evaluación del endotelio corneal.²⁶ El endotelio corneal fue examinado por primera vez por Vogt en 1922 usando la lámpara de hendidura²⁷ Fue David Maurice en 1968 quien por primera vez realizó fotografías de la superficie posterior de la cornea en un ojo enucleado de conejo y publicó una imagen del endotelio corneal, capturado con un instrumento que él llamó microscopio especular.^{27,28}

El microscopio confocal (MC) fue inventado en 1957 por Marvin Minsky con el cual se comenzó a realizar imágenes en vivo de la cornea a mediados de los 1990s^{29,30}

La mejoría de la óptica del microscopio confocal permite en tiempo real tomar imágenes en tercera dimensión de todas las capas de la cornea en vivo pero esta herramienta de alto poder todavía no se ha realizado²⁹

En los 80s, Koester desarrolló un microscopio especular de campo amplio que capturaba completamente el mosaico endotelial con buena resolución al escanear zonas de capas endoteliales estrechas y proyectándolas en la misma película.²⁶ Desde entonces, la microscopía especular ha logrado el esparcimiento de la aceptación clínica como un método para evaluar la densidad celular endotelial y la morfología.²⁷⁻²⁹ El advenimiento de la microscopía especular ha avanzado el estudio de la morfología del endotelio corneal humano y ha permitido la cuantificación de los cambios endoteliales.³⁰ Ha sido adoptada para valorar la salud del endotelio en pacientes con enfermedades corneales o en aquellos programados para cirugía.³¹ La microscopía especular postoperatoria es de rutina en la cirugía de trasplante de córnea y es usada también cuando ocurren complicaciones que puedan afectar al endotelio durante otros procedimientos intraoculares.³¹ También se usa como propósito de investigación para valorar la seguridad de nuevos materiales y procedimientos en el endotelio corneal.³¹ En muchas de estas situaciones, la microscopía especular es repetida para investigar cualquier cambio que ocurra al endotelio corneal a través del tiempo.³¹

Es sabido que la técnica de la medición del endotelio corneal a través de la microscopía especular de no contacto tiene ventajas y desventajas. Entre las ventajas que tiene este procedimiento se encuentra el hecho de proveer una fotografía detallada de la densidad celular y de la morfología del endotelio corneal.³⁰ La microscopía especular de no contacto es apreciada por médicos oftalmólogos y aceptada por los pacientes, principalmente porque la evaluación puede ser llevada a cabo sin la necesidad de anestésicos y no hay riesgo de trauma corneal o transmisión de infección.³¹ Permite la toma de imágenes del

endotelio sin tener contacto directo con el ojo y las imágenes se adquieren rápidamente.³² La desventaja de la microscopía especular radica principalmente en la resolución de la imagen quieta, la cual es limitada por la dispersión de la luz rodeando el tejido corneal.³⁰ Para discernir el detalle celular, la capa endotelial debe ser pareja en el mismo plano de foco.^{33,34} Otras desventajas que se encuentran con esta técnica es el costo, la disponibilidad y la necesidad para la interpretación de imágenes por un observador experimentado.³⁰

4. OBJETIVOS

- Analizar la reproducibilidad inter e intraobservador de cada uno de los parametros que da un examen de Recuento Endotelial Celular con el microscopio especular de no contacto Topcon SP-3000P®.
- Demostrar la reproducibilidad del equipo de microscopia especular de no contacto Topcon SP-3000P® para futuros trabajos de investigación relacionados a la perdida de endotelio corneal como la cirugía de catarata o Cirugía refractiva con LIO o con laser (LASIK o PRK) y poder disminuir el riesgo de perdida de células endoteliales.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente es un estudio de evaluación tecnológica diagnóstica que se realizó durante el segundo semestre entre Julio y Septiembre del 2009 en el Centro Oftalmológico Virgilio Galvis de la Fundación Oftalmológica de Santander en Bucaramanga.

La Población de estudio fue un grupo de 28 pacientes (41 ojos) dieciocho mujeres y diez hombres con un promedio de edad de 39 años para mujeres y 28 años para los hombres sin ningún tipo de patología o alteración del segmento anterior, ni antecedentes de trauma ocular sin historia de cirugía ocular previa, que iban a ser intervenidos de cirugía refractiva y que accedieran a participar voluntariamente en el estudio luego de la explicación correspondiente, previa autorización del paciente por medio de consentimiento informado. **(ANEXO 1)**

Para la realización del estudio se utilizó el microscopio especular de no contacto TOPCON SP-3000P[®] utilizado en el modo automático.

Las imágenes del endotelio corneal fueron obtenidas por un primer experimentado examinador (Examinador 1) realizando dos tomas de las diferentes áreas de la cornea así:

Dos del área central, dos del área nasal, dos del área temporal, dos del área superior y dos del área inferior con un intervalo de 5 minutos entre la Toma uno y la Toma dos para evaluar la reproducibilidad del instrumento intraobservador.

Quince minutos después de la toma del primer examinador y desconociendo los resultados de este examinador 1, un segundo experimentado examinador (Examinador 2) realizó las mismas tomas en dos oportunidades para evaluar y comparar las medidas con el primer examinador con el fin de determinar la reproducibilidad del instrumento interobservador.

Las variables fueron tomadas con una ficha de recolección individual para cada examinador **(ANEXO 2)** y traspasadas a una base de datos en Microsoft Excel. Se realizó el análisis de las tomas realizadas con STATA 9.0 y Epi Info 2000. Los Datos fueron analizados utilizando los límites de acuerdo de Bland-Altman el cual es utilizado para comparar diferentes evaluaciones realizadas por examinadores⁴⁹ y el Coeficiente de Correlación Intraclase (CCI) este sirve para datos estructurados en grupos más que para datos estructurados como observaciones de pares de datos. En especial cuando se busca evaluar reproducibilidad. Se habla de valores aceptables hasta 0.60 de reproducibilidad en el ICC, y de valores muy buenos aquellos mayores o iguales a 0.80⁵⁰.

6. CONSIDERACIONES ETICAS

Las consideraciones éticas en este estudio se basan en la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Protección Social en Colombia, la cual establece las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Se obtendrá el consentimiento informado por escrito de cada paciente para participar del estudio, con el principio de *primum non nocere*, explicándosele detalladamente a cada uno el procedimiento a realizar, consistente en la toma doble de cada campo evaluado por el equipo Topcon SP-3000P® en cada ojo por dos examinadores diferentes.

Por ser este un estudio en el que se requerirá conservar o almacenar datos para posterior uso de los pacientes que acepten y sean elegibles, se preparó un formato de consentimiento informado para ser firmado con número de cédula de ciudadanía por cada uno (**Anexo 2**), donde se explica breve y claramente el procedimiento y se autoriza a los autores y demás personas que hagan parte de la realización del estudio el uso de los resultados.

La cirugía LASIK en la actualidad, no es un procedimiento que pueda ser realizado a través de las Empresas Promotoras de Salud, por lo cual únicamente se tendrán en cuenta aquellos pacientes quienes por deseo propio asistan a consulta para realizarse dicho procedimiento. Es de importancia recalcar que los pacientes estarán informados de que la realización de las tomas para el recuento endotelial de la córnea no generará costos adicionales al precio base de su cirugía.

Asimismo se asegurará a los pacientes que los datos recolectados serán utilizados únicamente con fines académicos y de investigación; y en el caso que no se los necesite más, serán eliminados. Los datos serán procesados de manera transparente y no se alterarán en ninguno de los grupos de estudio.

De esta manera, considerando este estudio como de riesgo mínimo para los pacientes, se asegurará que los principios de autonomía, justicia, beneficencia y confidencialidad no sean pasados por alto durante el desarrollo del estudio.

7. DESCRIPCION DE LOS INDICADORES DE RECuento ENDOTELIAL

Número de células analizadas: Es el total de células analizadas dentro del área de endotelio seleccionada para realizar el recuento de la densidad celular. Este número debe ser mínimo de 60 células para que recuento se considere confiable.³⁵

Indicador de Calidad de la Toma pero es dependiente del examinador.

Tamaño celular promedio: Area promedio de las células analizadas, en micras cuadradas. Es un indicador de Polimegatismo celular. Tamaño celular promedio es de $300 \mu\text{m}^2$ como normal³⁶

Densidad celular: Es la cantidad de células por unidad de superficie (células/ mm^2). Constituye un análisis cuantitativo del endotelio corneal que refleja la integridad estructural, se considera el indicador mas importante del estado del endotelio corneal.³⁵⁻³⁶⁻³⁷⁻³⁸

Hexagonalidad: Es el porcentaje de células hexagonales. En los equipos de recuento endotelial las células ubicadas en la periferia del recuadro escogido para el análisis se excluyen porque su número de lados no puede ser determinado de forma precisa. Se evalúa la hexagonalidad con los ángulos en los lados de las células analizadas, definiéndose como célula hexagonal la que tiene 6 ángulos. Es un índice de Pleomorfismo. Consideramos un porcentaje igual o mayor a 50% de hexagonalidad como normal.³⁷⁻³⁸

8. RESULTADOS

Se realizaron un total de 164 imágenes del endotelio corneal (82 cada examinador) realizando el Examinador 1 dos tomas de diferentes áreas de la cornea: dos del área central, dos del área nasal, dos del área temporal, dos del área superior y dos del área inferior para evaluar la reproducibilidad del instrumento intraobservador con un intervalo de 5 minutos entre la Toma Uno y Toma Dos.

Quince minutos después de la toma del primer examinador un segundo examinador (Examinador 2) realizó dos veces las mismas tomas para evaluar y comparar las medidas con el primer examinador. Con el fin de determinar la reproducibilidad del instrumento interobservador.

La distribución por sexos fue de diez casos para el sexo masculino y de 18 para el sexo femenino con un promedio de edad de 39 años para mujeres y 28 años para los hombres. Se tomaron muestras en 41 ojos de estos 28 pacientes sin ningún tipo de patología o alteración del segmento anterior, ni antecedentes de trauma ocular, sin historia de cirugía ocular previa, que iban a ser intervenidos de cirugía refractiva y que accedieran a participar voluntariamente en el estudio luego de la explicación correspondiente, previa autorización del paciente por medio de consentimiento informado.

8.1 REPRODUCIBILIDAD INTEREVALUADOR

Para evaluar la reproducibilidad interevaluador se realizaron dos tomas en el área central y en las cuatro áreas paracentrales corneales en los 41 ojos (82 Tomas) por el Examinador 1 y se compararon con las realizadas por el Examinador 2 quince minutos después en las mismas áreas central y paracentral de la cornea desconociendo los valores obtenidos por el Examinador 1. A continuación se describen los hallazgos encontrados en cada uno de los Indicadores de Recuento Endotelial por los examinadores.

8.1.1 PROMEDIO NÚMERO DE CELULAS POR EVALUADOR DE CADA AREA CORNEAL.

El número de células es un indicador de la Calidad de la Toma pero sabemos que es dependiente del examinador, por lo tanto no nos sirve para medir reproducibilidad interevaluador pero nos ayuda saber que tan confiable es la toma en las células endoteliales dependiendo del número de células que cada examinador utilice para las medidas de recuento endotelial. Se realizó el

Promedio del número de células analizadas por cada evaluador de cada area corneal (**Tabla I**). Asi como el valor de p .

Tabla I. Promedio de Número de células analizadas por cada evaluador de cada área corneal.

PROMEDIO	Numero células analizadas área central	Numero células analizadas área superior	Numero células analizadas área nasal	Numero células analizadas área inferior	Numero células analizadas área temporal
Evaluador 1	107.07	109.9	106.09	112.9	107.47
Evaluador 2	98.71	102.43	100.24	99.83	98.98
DIFERENCIAS PROMEDIO	8.3	7.5	5.8	13.11	8.4
<i>P VALUE</i>	0.05	0,03	0.05	0.04	0.15

Lo mas importante en este parámetro es que el numero de células sea mayor a 60 células y como lo evidenciamos por los resultados el promedio del **examinador 1 fue 107.07** células y del **Evaluador 2 de 98.71 celulas** en el área central que es la mas importante pues es donde clínicamente se hace el calculo para las otras variables de un examen de recuento endotelial.

8.1.2 REPRODUCIBILIDAD INTEREVALUADOR DE HEXAGONALIDAD CELULAR ENDOTELIAL

Se realizo el Promedio de Hexagonalidad Celular Endotelial por cada Evaluador de cada area corneal **TABLA II** asi como el promedio de las diferencias interevaluador **TABLA III** encontrándose lo siguiente:

TABLA II. Promedio de Hexagonalidad de cada área corneal por Evaluador.

PROMEDIO	Hexagonalidad área central	Hexagonalida área superior	Hexagonalidad área nasal	Hexagonalidad área inferior	Hexagonali área temporal
Evaluador 1	52.048	50.231	53.195	53.402	52
Evaluador 2	49.487	46.878	50.573	50.626	48.378

TABLA III. Reproducibilidad Interevaluador de Hexagonalidad analizada en cada area corneal. Centro de referencia oftalmológica, Bucaramanga 2009.

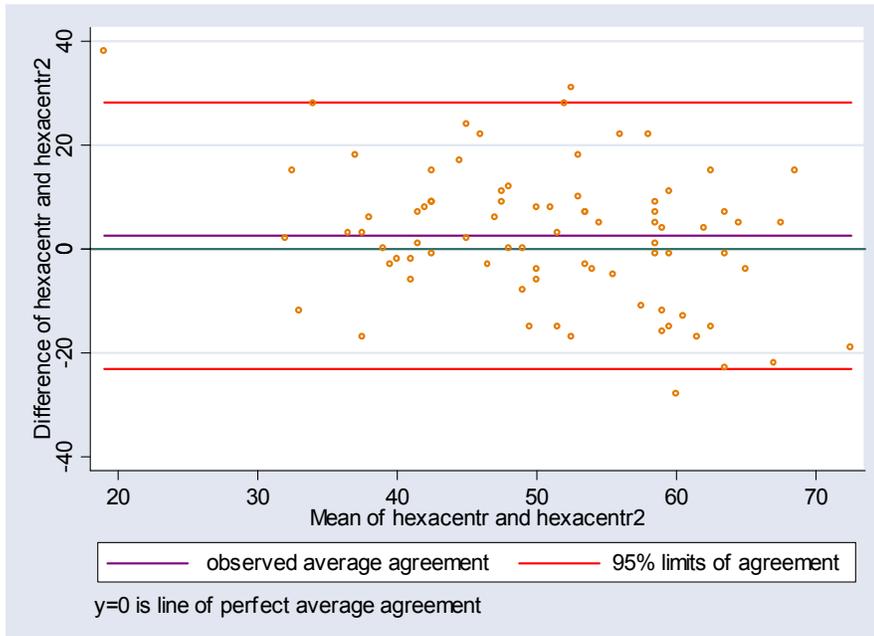
Variable	r Pearson	CCI	Promedio diferencias	Desviación estándar	Limites de Acuerdo 95%
Hexagonalidad Centro	0.43	0.27	2.5	13.08	(-23.1- 28.1)
Hexagonalidad Superior	0.4	0.16	3.4	12.3	(-20.8- 27.5)
Hexagonalidad Nasal	0.3	0.26	2.6	15.9	(-28.5- 33.8)
Hexagonalidad Inferior	0.4	0.18	2.7	13.8	(-24.4- 29.9)
Hexagonalidad Temporal	0.3	0.31	3.6	13.9	(-23.6- 30.9)

8.1.2.1 MEDIDAS AREA CORNEAL CENTRAL

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Hexagonalidad en el area corneal central fue de **2.5** entre el Examinador 1 y Examinador 2. Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por encima 2.5 puntos más que el evaluador 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas de los examinadores estuvo entre el Índice de Confianza del 95% de -23.1 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite inferior y 28.1 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite superior con una desviación estándar de 13.08. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 1.1**)

Figura 1.1 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador.

Promedio HEXAGONALIDAD analizada área corneal CENTRAL



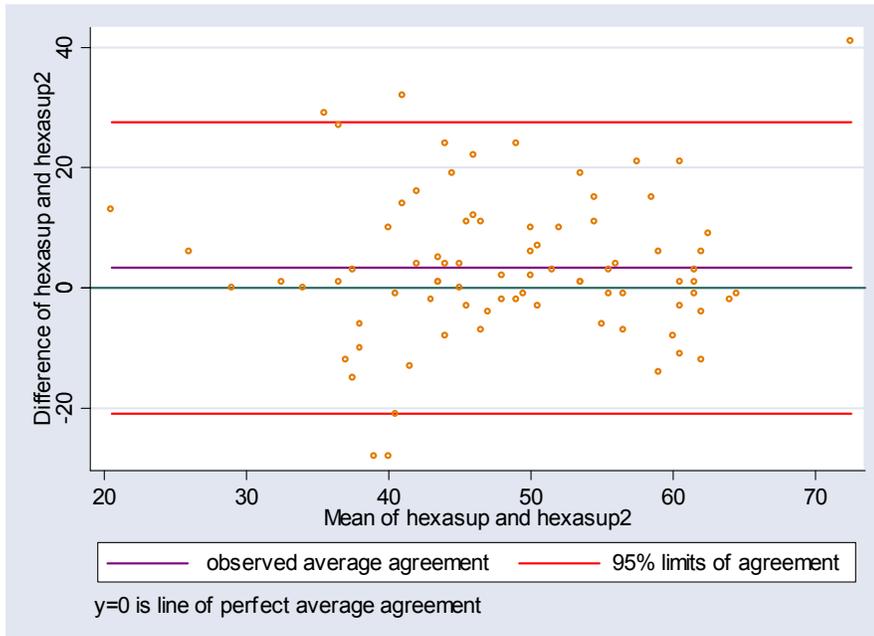
En la grafica observamos que el Promedio de las diferencias es pequeño entre el Examinador 1 y Examinador 2 para el porcentaje de Hexagonalidad analizado en el Area central (2.5), a pesar de que existe gran variabilidad de los puntos con respecto a la línea promedio la distancia entre los Limites de Confianza del 95% es baja por lo tanto hay un acuerdo mayor entre los examinadores para esta toma. Hay 3 puntos de sesgo por fuera del 95% de límites de acuerdo.

8.1.2.2 MEDIDAS AREA CORNEAL SUPERIOR

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Hexagonalidad en el area corneal superior fue de **3.4** entre el Examinador 1 y Examinador 2. Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por encima 3.4 puntos mas que el evaluador 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas de los examinadores estuvo entre

-20.8 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite inferior y 27.5 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite superior con una desviación estándar de 12.3. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 1.2**)

Figura 1.2 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. Promedio HEXAGONALIDAD analizada área corneal SUPERIOR.

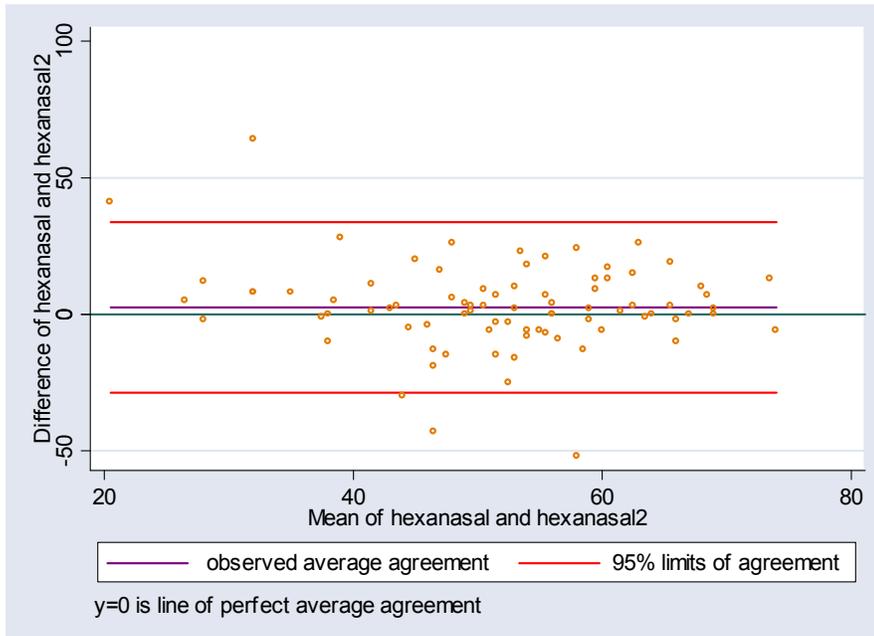


En la grafica observamos que el Promedio de las diferencias es pequeño entre el Examinador 1 y Examinador 2 para el porcentaje de Hexagonalidad analizado en el Area superior (3.4) a pesar de que existe gran variabilidad de los puntos con respecto a la línea promedio la distancia entre los Limites de Confianza del 95% es baja por lo tanto hay un acuerdo mayor entre los examinadores. Hay 4 puntos de sesgo por fuera del 95% de limites de acuerdo.

8.1.2.3 MEDIDAS AREA CORNEAL NASAL

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Hexagonalidad en el area corneal nasal fue de **2.6** entre el Examinador 1 y Examinador 2. Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por encima 2.6 puntos mas que el evaluador 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas de los examinadores estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de -28.5 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite inferior y 33.8 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite superior con una desviación estándar de 15.9. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 1.3**)

Figura 1.3 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. Promedio HEXAGONALIDAD analizada área corneal NASAL.



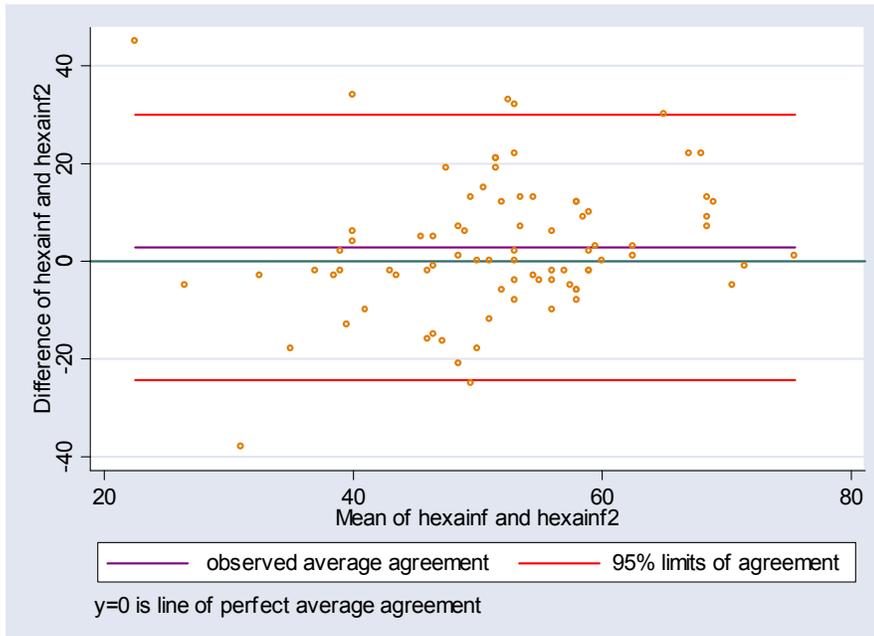
8.1.2.4 MEDIDAS AREA CORNEAL INFERIOR

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Hexagonalidad en el area corneal inferior fue de **2.7**

Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por encima 2.7 puntos más que el evaluador 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas de los examinadores estuvo entre el Índice de Confianza del 95% de

-24.4 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite inferior y 29.9 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite superior con una desviación estándar de 13.8. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 1.4**)

Figura 1.4 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. Promedio HEXAGONALIDAD analizada área corneal INFERIOR.



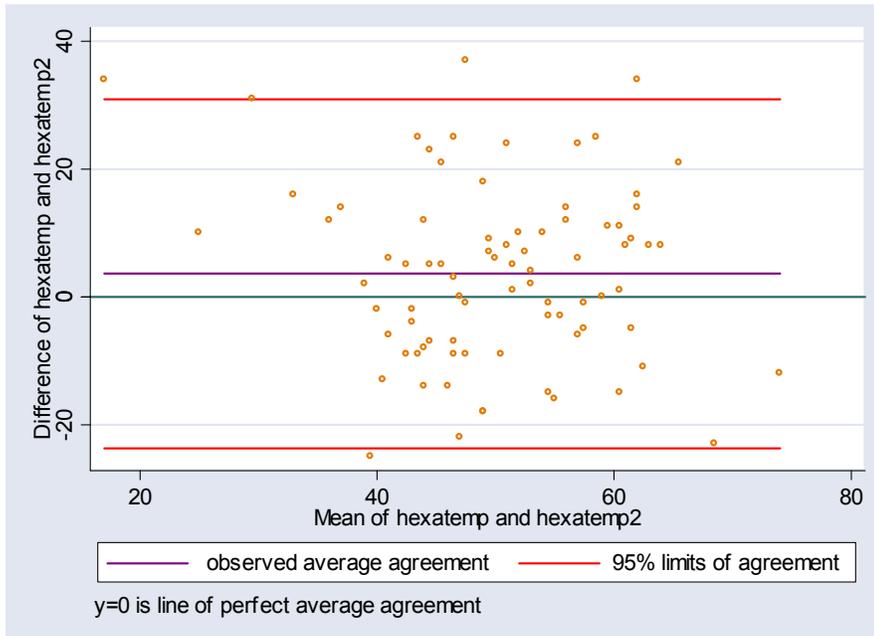
8.1.2.5 MEDIDAS AREA CORNEAL TEMPORAL

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Hexagonalidad en el area corneal temporal fue de **3.6**

Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por encima 3.6 puntos mas que el evaluador 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas de los examinadores estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de

-23.6 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite inferior y 30.9 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite superior con una desviación estándar de 13.9. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 1.5**)

Figura 1.5 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. Promedio HEXAGONALIDAD analizada área corneal TEMPORAL.



El promedio de diferencias más bajo comparándolo con las otras medidas de Hexagonalidad fue el del área corneal central, se encontró que la medida en el área temporal fue la que mayor promedio pero en general los valores de la diferencia de promedios en todas las áreas fueron muy cercanos, en cuanto a los límites de acuerdo fue la medida corneal superior la de menor diferencia entre sus límites del 95% con una desviación estándar menor y una correlación de r de 0.4. Se encontró además un Coeficiente de Correlacion Intraclase bajo (menor a 0.7) en todas las medidas encontrando baja reproducibilidad para esta variable interexaminador.

8.1.3 REPRODUCIBILIDAD INTEREVALUADOR DENSIDAD CELULAR ENDOTELIAL

Se realizo el Promedio de Densidad Celular Endotelial por cada Evaluador de cada area corneal **TABLA IV** asi como el promedio de las diferencias interevaluador **TABLA V** encontrándose lo siguiente:

TABLA IV. Promedio medidas de Densidad Celular Endotelial de cada área corneal por evaluador.

PROMEDIO	Densidad área central	Densidad área superior	Densidad área nasal	Densidad área inferior	Densidad área temporal
Evaluador 1	2770.4	3110.5	2866.3	2886.4	2909.3
Evaluador 2	2762	3032.9	2839.5	2842.1	2888.3

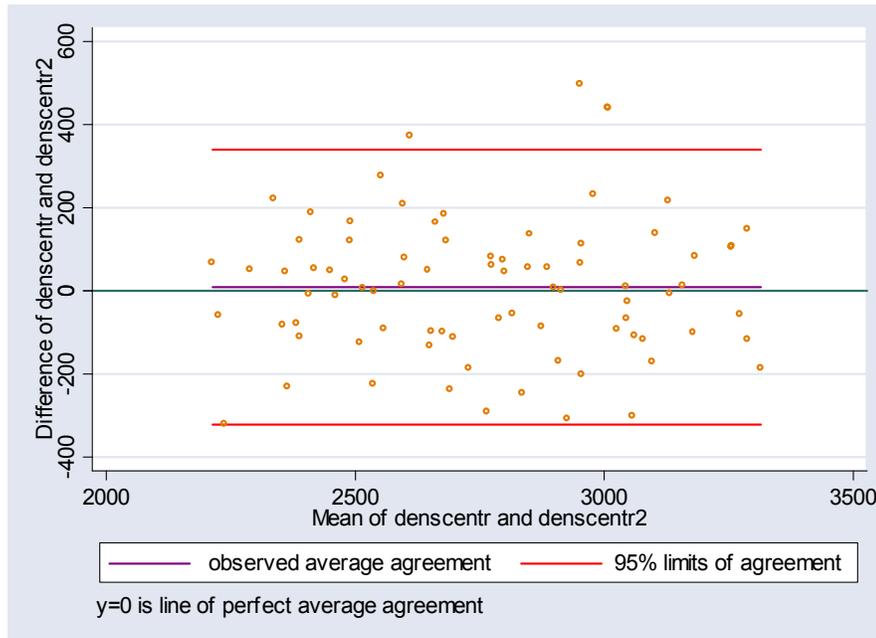
TABLA V. Reproducibilidad Interevaluador de Densidad Endotelial Celular de cada area corneal. Centro de referencia oftalmológica, Bucaramanga 2009.

Variable	r Pearson	ICC	Promedio diferencias	Desviación estándar	Limites de Acuerdo 95%
Densidad Centro	0.85	0.99	8.3	168.9	(-322.6, 339.5)
Densidad Superior	0.6	0.99	77.6	390.5	(-687.6, 842.8)
Densidad Nasal	0.78	1	26.8	257.1	(-477, 530)
Densidad Inferior	0.7	1	44.3	274.9	(-494.4, 583)
Densidad temporal	0.71	0.99	20.9	285.4	(-538, 580)

8.1.3.1 MEDIDAS AREA CORNEAL CENTRAL

El promedio de diferencias entre evaluadores para Densidad Endotelial Celular en el area corneal central fue de **8.3** entre el Examinador 1 y Examinador 2. Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por encima 8.3 puntos mas que el evaluador 2 y que el Indice de Confianza del 95% para esta medida estuvo entre -322.6 células/ mm² en el limite inferior y 339.5 células/ mm² en el limite superior con una desviación estándar de 168.9 células/ mm². Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 2.1**)

Figura 2.1 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. Promedio DENSIDAD CELULAR analizada área corneal CENTRAL.



En la grafica observamos que el Promedio de las diferencias es tan solo de 8.3 células/ mm² incluso el menor entre todas las medidas de Densidad Celular Endotelial de las áreas corneales entre el Examinador 1 y Examinador 2, a pesar de que existe gran variabilidad de los puntos con respecto a la línea promedio tan solo hay 3 puntos de sesgo por fuera del 95% de limites de acuerdo y se encontró que la medida de correlación de Pearson fue de 0.85 la mas alta de todas las medidas de densidad corneal interevaluador en cuanto a correlación en el estudio, lo que nos indica que hay una correlación del 85% entre las tomas del Examinador 1 y Examinador 2 en cuanto a Densidad Corneal Endotelial en la medida central

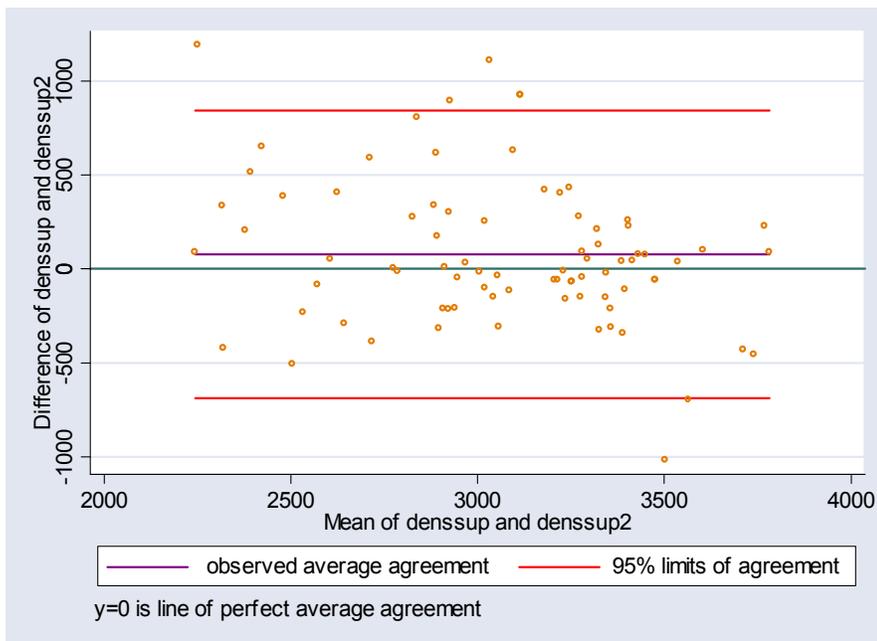
8.1.3.2 MEDIDAS AREA CORNEAL SUPERIOR

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Densidad Endotelial Celular en el area corneal superior fue de **77.6**

Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por encima 77.6 puntos mas que el evaluador 2 y que el Indice de Confianza del 95% para esta medida estuvo entre -687.6 células/ mm² en el limite inferior y 842.8 células/ mm² en el limite

superior con una desviación estándar de 390.5 células/ mm². Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 2.2**)

Figura 2.2 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. Promedio DENSIDAD CELULAR analizada área corneal SUPERIOR.



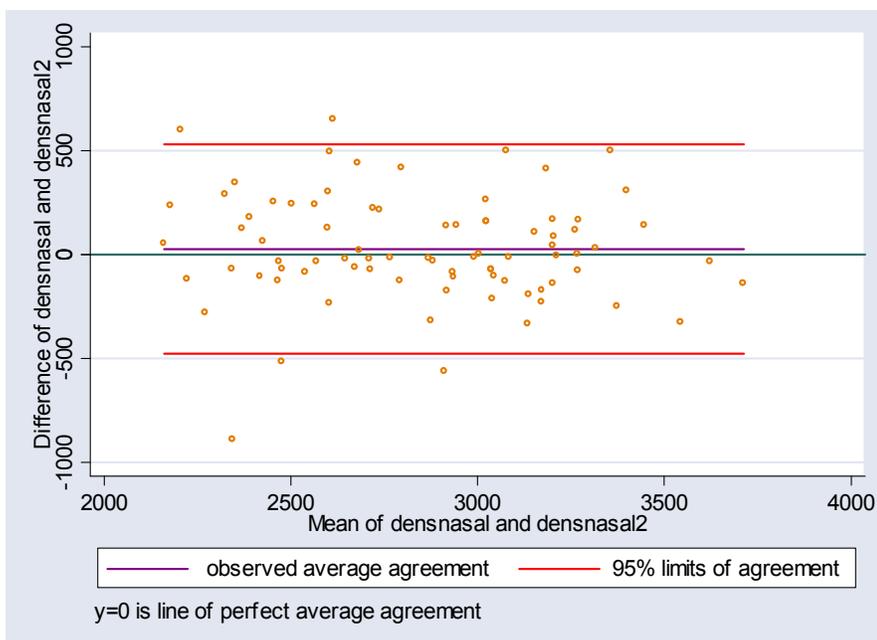
En la grafica observamos que el Promedio de las diferencias es bastante amplio 77.6 células/ mm² entre el Examinador 1 y Examinador 2, incluso el mayor entre todas las medidas de Densidad Celular Endotelial de las áreas corneales. Existe un limite de acuerdo mayor entre las tomas para esta medida así como la desviación estándar con una *r* de 0.6

8.1.3.3 MEDIDAS AREA CORNEAL NASAL

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Densidad Endotelial Celular en el area corneal nasal fue de **26.8**

Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por encima 26.8 puntos mas que el evaluador 2 y que el Indice de Confianza del 95% para esta medida estuvo entre -477 células/ mm² en el limite inferior y 530 células/ mm² en el limite superior con una desviación estándar de 257.1 células/ mm². Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 2.3**)

Figura 2.3 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. Promedio DENSIDAD CELULAR analizada área corneal NASAL.



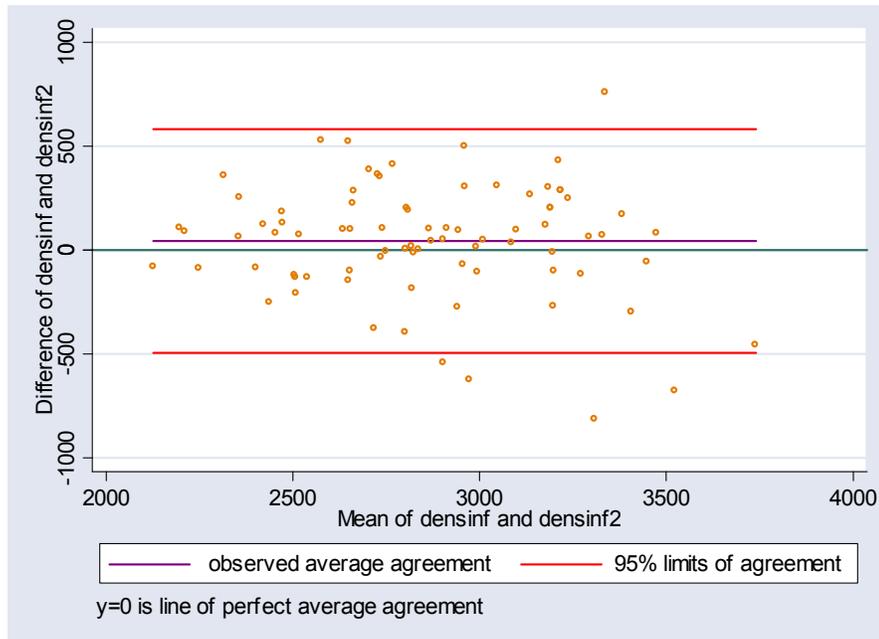
En esta medida de densidad nasal se encontró que fue la segunda medida con límites de acuerdo más bajos en cuanto a Densidad Corneal, con un valor de r de 0.78 lo que nos indica que hay una correlación casi del 80% entre las tomas del Examinador 1 y Examinador 2 en cuanto a Densidad Corneal Endotelial en la medida nasal

6.1.3.4 MEDIDAS AREA CORNEAL INFERIOR

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Densidad Endotelial Celular en el área corneal inferior fue de **44.3**

Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por encima 44.3 puntos más que el evaluador 2 y que el Índice de Confianza del 95% para esta medida estuvo entre -494.4 células/ mm² en el límite inferior y 583 células/ mm² en el límite superior con una desviación estándar de 274.9 células/ mm². Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 2.4**)

Figura 2.4 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. Promedio DENSIDAD CELULAR analizada área corneal INFERIOR.

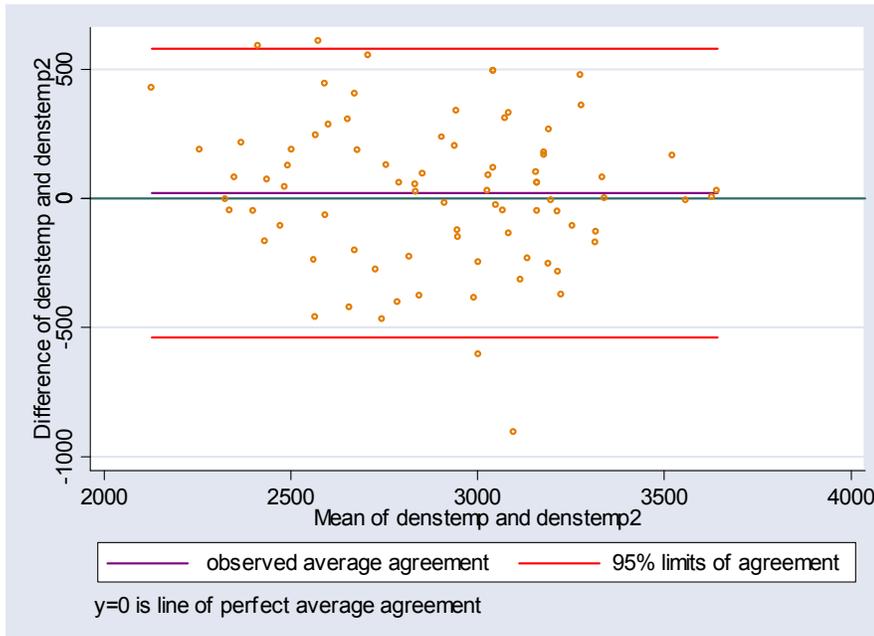


8.1.3.5 MEDIDAS AREA CORNEAL TEMPORAL

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Densidad Endotelial Celular en el area corneal temporal fue de **20.9**

Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por encima 20.9 puntos mas que el evaluador 2 y que el Indice de Confianza del 95% para esta medida estuvo entre -538 células/ mm² en el limite inferior y 580 células/ mm² en el limite superior con una desviación estándar de 285.4 células/ mm². Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 2.5**)

Figura 2.5 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. Promedio DENSIDAD CELULAR analizada área corneal TEMPORAL.



El promedio de las diferencias de la Densidad Endotelial Celular en el área corneal central fue el más bajo de todas las tomas, tan solo 8.3 unidades/ mm² fue la diferencia entre evaluador uno y evaluador dos. En la grafica de Límites de acuerdo en la medida de densidad central hay mayor acuerdo entre los examinadores que en las otras áreas con una desviación estándar menor por lo tanto entre las medidas de densidad, fue la central la que mejor limites de acuerdo tuvo entre los evaluadores. Encontramos también que el coeficiente de correlacion intraclase es mayor a 0.90 en todas las tomas de densidad haciendo las tomas reproducibles para esta variable en todas las areas corneales, además el coeficiente de pearson de 0.85 entre evaluadores para esta medida de densidad central, lo que nos indica que hay un 85% de correlación entre las tomas.

8.1.4 REPRODUCIBILIDAD INTEREVALUADOR TAMAÑO CELULAR PROMEDIO

Se realizo el Promedio del Tamaño celular endotelial por cada Evaluador de cada area corneal **TABLA VI** asi como el promedio de las diferencias intraevaluador **TABLA VII** encontrándose lo siguiente:

TABLA VI. Tamaño celular promedio de cada área corneal por evaluador.

PROMEDIO	Tamaño Celular prom área central	Tamaño Celular prom área superior	Tamaño Celular prom área nasal	Tamaño Celular prom área inferior	Tamaño Celular prom
----------	----------------------------------	-----------------------------------	--------------------------------	-----------------------------------	---------------------

					área temporal
Evaluador 1	365.5	325.9	354.3	347.3	348.4
Evaluador 2	366.5	340.8	360.9	356.3	351.8

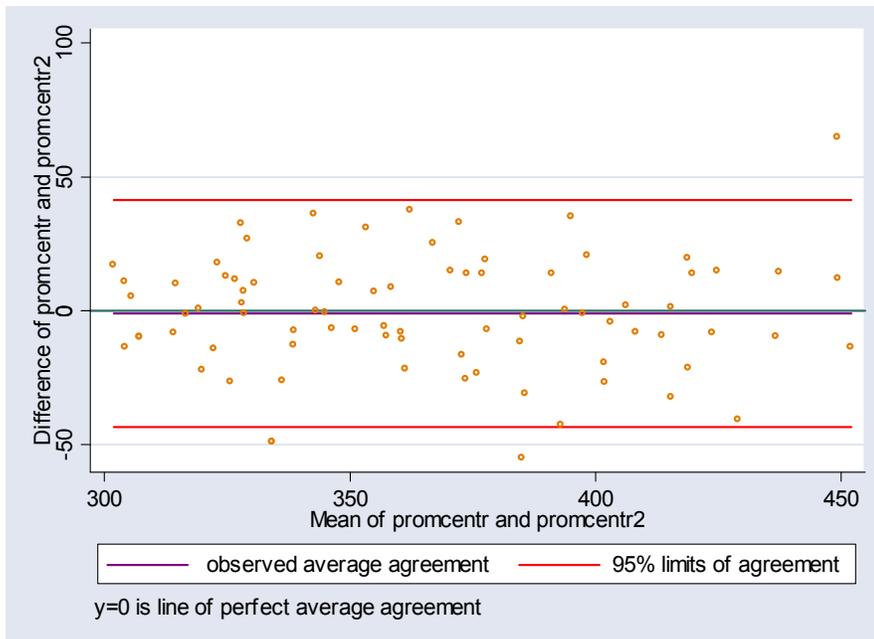
TABLA VII. Reproducibilidad Tamaño Celular Promedio interevaluador Centro de referencia oftalmológica, Bucaramanga 2009.

Variable	r Pearson	ICC	Promedio diferencias	Desviación estándar	Limites de Acuerdo 95%
Tamaño promedio Central	0.86	0.99	(-0.99)	21.6	(-43.4 - 41.4)
Tamaño Promedio superior	0.5	0.87	(-14.9)	53.6	(-120.1 - 90.3)
Tamaño Promedio Nasal	0.7	0.99	(-6.6)	39.5	(-84 - 70.8)
Tamaño Promedio Inferior	0.4	0.99	(-8.6)	62.7	(-131.6- 114.4)
Tamaño Promedio Temporal	0.7	0.99	(-3.3)	36.6	(-75.1 - 68.3)

8.1.4.1 MEDIDAS AREA CORNEAL CENTRAL

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Tamaño Celular Promedio en el area corneal central fue de **-0.99** entre el Examinador 1 y Examinador 2. Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por debajo $-0.99\mu\text{m}^2$ en promedio menos que el evaluador 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas de los examinadores estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de $-43.4\mu\text{m}^2$ en el limite inferior y $41.4\mu\text{m}^2$ en el limite superior con desviación estándar de $21.6\mu\text{m}^2$. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 3.1**)

Figura 3.1 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. TAMAÑO PROMEDIO CELULAR en el área corneal CENTRAL.

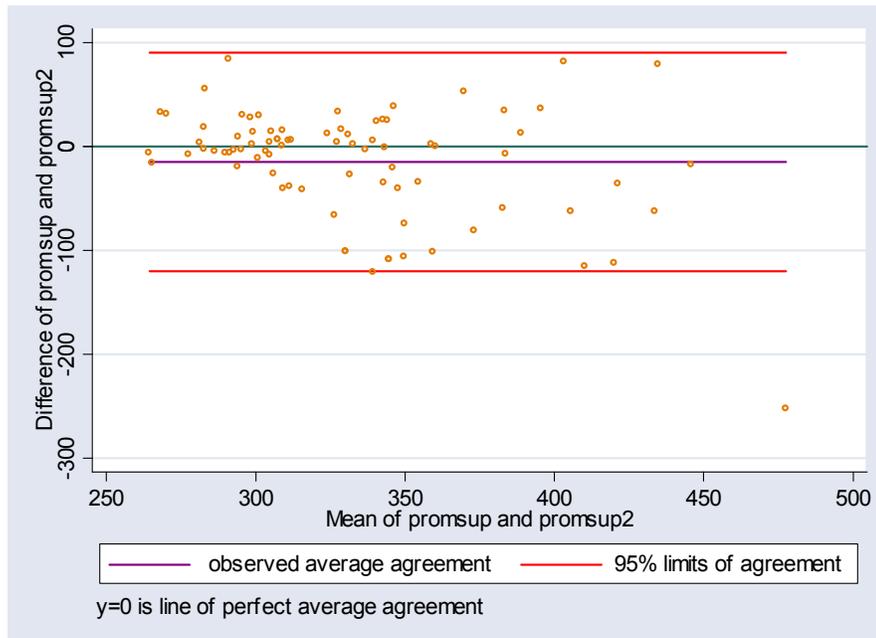


En la grafica observamos que el Promedio de las diferencias es tan solo de $-0.99 \mu\text{m}^2$. Incluso el menor Limite de Acuerdo del 95% entre todas las medidas de Tamaño Celular Promedio de las areas corneales entre el Examinador 1 y Examinador 2, a pesar de que existe gran variabilidad de los puntos con respecto a la línea promedio tan solo hay 3 puntos de sesgo por fuera del 95% de limites de acuerdo. La medida de correlacion de Pearson fue de 0.86 la mas alta de todas las medidas en cuanto a correlacion en el estudio lo que nos indica que hay una correlacion del 86% entre las tomas del Examinador 1 y Examinador 2 en cuanto a Tamaño Celular Promedio.

8.1.4.2 MEDIDAS AREA CORNEAL SUPERIOR

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Tamaño Celular Promedio en el area corneal superior fue de -14.9 entre el Examinador 1 y Examinador 2. Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por debajo $-14.9 \mu\text{m}^2$ en promedio menos que el evaluador 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas de los examinadores estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de $-120.1 \mu\text{m}^2$ en el limite inferior y $90.3 \mu\text{m}^2$ en el limite superior con una desviación estándar de $53.6 \mu\text{m}^2$. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 3.2**)

Figura 3.2 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. TAMAÑO PROMEDIO CELULAR en el área corneal SUPERIOR.



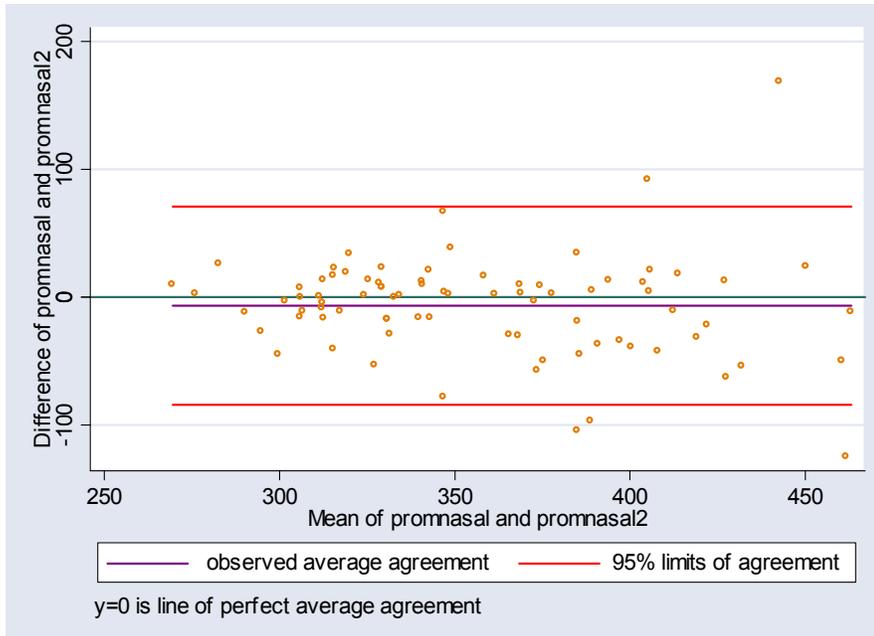
En la grafica observamos que el Promedio de las diferencias fue de $-14.9\mu\text{m}^2$ el resultado mayor en el promedio entre todas las medidas de Tamaño Celular Promedio de las areas corneales entre el Examinador 1 y Examinador 2, asi mismo los Limites de acuerdo son mayores en esta toma que en las otras areas.

8.1.4.3 MEDIDAS AREA CORNEAL NASAL

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Tamaño Celular Promedio en el area corneal nasal fue de -6.6 entre el Examinador 1 y Examinador 2. Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por debajo $-6.6\mu\text{m}^2$ en promedio menos que el evaluador 2.

El 95% de esas diferencias entre las tomas de los examinadores estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de $-84\mu\text{m}^2$ en el limite inferior y $70.8\mu\text{m}^2$ en el limite superior con una desviación estándar de $39.5\mu\text{m}^2$. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 3.3**)

Figura 3.3 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. TAMAÑO PROMEDIO CELULAR en el área corneal NASAL.

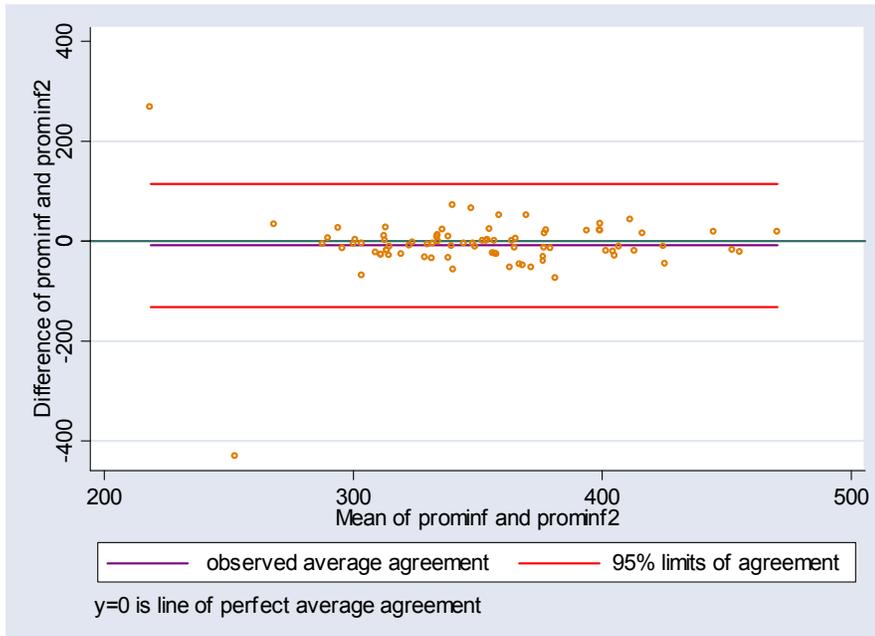


8.1.4.4 MEDIDAS AREA CORNEAL INFERIOR

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Tamaño Celular Promedio en el area corneal inferior fue de **-8.6** entre el Examinador 1 y Examinador 2. Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por debajo $-8.6\mu\text{m}^2$ en Tamaño Celular Promedio menos que el evaluador 2.

El 95% de esas diferencias entre las tomas de los examinadores estuvo entre el Índice de Confianza del 95% de $-131.6\mu\text{m}^2$ en el limite inferior y $114.4\mu\text{m}^2$ en el limite superior con una desviación estándar de $62.7\mu\text{m}^2$. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 3.4**)

Figura 3.4 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. **TAMAÑO PROMEDIO CELULAR** en el área corneal INFERIOR.

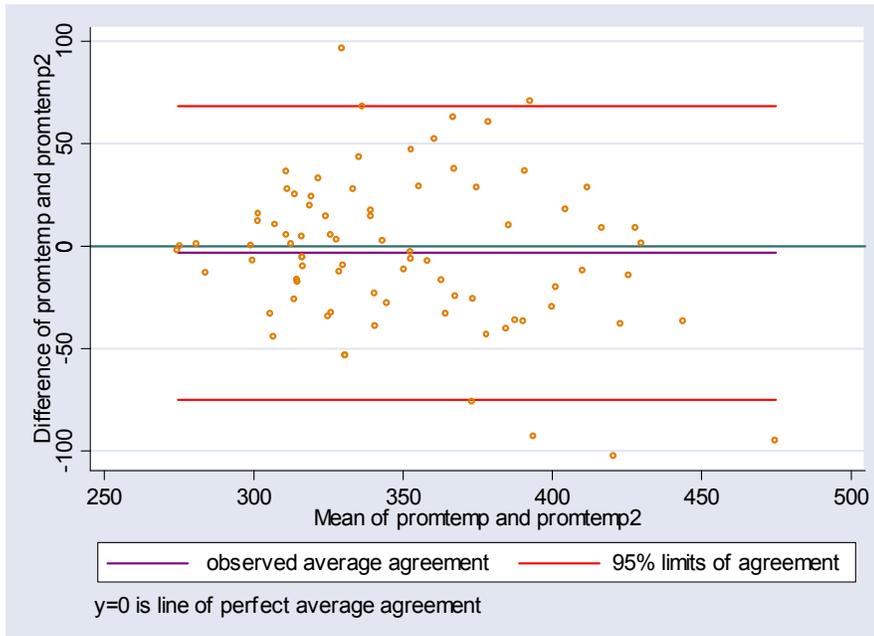


6.1.4.5 MEDIDAS AREA CORNEAL TEMPORAL

El promedio de diferencias entre evaluadores para la medida de Tamaño Celular Promedio en el area corneal temporal fue de **-3.3** entre el Examinador 1 y Examinador 2. Lo que quiere decir que el Examinador 1 estuvo por debajo $-3.3\mu\text{m}^2$ en Tamaño Celular Promedio menos que el evaluador 2.

El 95% de esas diferencias entre las tomas de los examinadores estuvo entre el Índice de Confianza del 95% de $-75.1\mu\text{m}^2$ en el limite inferior y $68.3\mu\text{m}^2$ en el limite superior con una desviación estándar de $36.6\mu\text{m}^2$. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 3.5**)

Figura 3.5 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad interevaluador. **TAMAÑO PROMEDIO CELULAR** en el área corneal **TEMPORAL**.



Teniendo en cuenta que el Tamaño promedio celular es el Área promedio de las células analizadas en micras cuadradas, podemos decir que el promedio de las diferencias de tamaño promedio celular a nivel central fue el más bajo, casi Cero de diferencia entre evaluador uno y dos. El Coeficiente de correlacion Intraclase fue mayor o igual a 90 en todas las tomas para esta variable.

En cuanto a Límites de Acuerdo fue la medida central del Tamaño promedio celular la que presento menos diferencia entre los límites.

Por lo tanto el mejor valor en términos de acuerdo para Tamaño promedio celular entre evaluador 1 y 2 corresponde al área corneal central. Encontramos también una medida de correlación alta de 0.86 entre evaluadores para esta medida de densidad central, lo que nos indica que hay un 86% de correlación entre las tomas

8.2 REPRODUCIBILIDAD INTRAEVALUADOR

Para evaluar la reproducibilidad Intraevaluador se realizaron 82 tomas a los 41 ojos realizadas por el Examinador 1 realizando dos tomas de las diferentes áreas de la cornea con un intervalo de cinco minutos entre tomas: dos del área central, dos del área nasal, dos del área temporal, dos del área superior y dos del área inferior para evaluar la reproducibilidad del instrumento intraobservador.

8.2.1 PROMEDIO DE NÚMERO DE CELULAS ENTRE TOMA 1 Y TOMA 2

Se realizo el Promedio del Número de Células analizadas por el Evaluador de cada area corneal (Central y 4 Paracentrales) en dos diferentes tomas **TABLA VIII**

TABLA VIII. Promedio Número de células analizadas de cada área corneal. Entre Toma 1 y Toma 2.

PROMEDIO	Numero células analizadas área central	Numero células analizadas área superior	Numero células analizadas área nasal	Numero células analizadas área inferior	Numero células analizadas área temporal
Evaluador TOMA 1	107.29	110.58	106.60	108.561	105.63
Evaluador TOMA 2	106.85	109.22	105.58	117.33	109.31
Diferencias Promedio	0.44	1.36	1.02	-8.76	-3.68
<i>P Value</i>	<i>0.05</i>	<i>0.08</i>	<i>0.11</i>	<i>0.009</i>	<i>0.1751</i>

Lo mas importante en este parámetro es que el numero de células sea mayor a 60 células y como lo evidenciamos por los resultados el promedio del examinador 1 en la **toma uno fue 107.29 células** y de la **toma 2 de 106.85 células** en el área central que es la mas importante pues es donde clínicamente se hace el calculo para las otras variables de un examen de recuento endotelial.

8.2.2 REPRODUCIBILIDAD INTRAEVALUADOR DE HEXAGONALIDAD CELULAR ENDOTELIAL

Se realizo el Promedio de Hexagonalidad Celular Endotelial analizado por el Evaluador de cada area corneal (Central y 4 Paracentrales) en dos diferentes tomas **TABLA IX** asi como el promedio de las diferencias entre la toma uno y dos Intraevaluador **TABLA X** encontrándose lo siguiente:

TABLA IX. Promedio Hexagonalidad Celular Endotelial de cada área corneal. Entre Toma 1 y Toma 2.

PROMEDIO	Hexagonalidad Área central	Hexagonalidad Área superior	Hexagonalidad Área nasal	Hexagonalidad Área inferior	Hexagonalidad Área temporal
Evaluador TOMA 1	52.12	47.07	50.48	54.56	51.14
Evaluador	51.97	53.39	55.90	52.24	52.85

TOMA 2					
--------	--	--	--	--	--

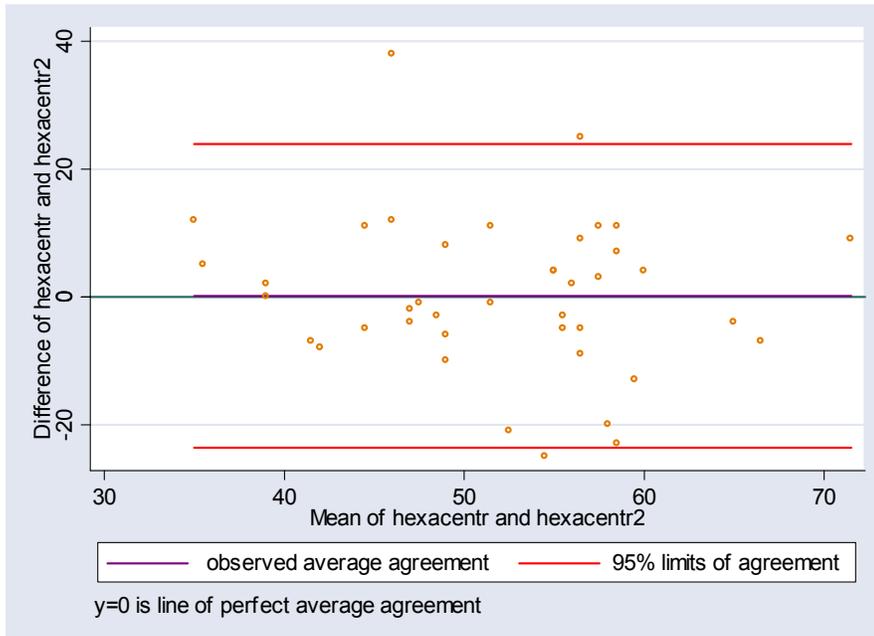
TABLA X. Reproducibilidad Hexagonalidad intraevaluador Topcon, Centro de referencia oftalmológica, Bucaramanga 2009.

Variable	r Pearson	CCI	Promedio diferencias	Desviación estándar	Limites de Acuerdo 95%
Hexagonalidad centro	0.3	0.39	0.15	12.1	(-23.6-23.9)
Hexagonalidad superior	0.26	0.35	(-6.32)	14.1	(-33.9-21.3)
Hexagonalidad nasal	0.65	0.27	(-5.41)	10.6	(-26.2-15.4)
Hexagonalidad inferior	0.62	0.31	2.31	11.7	(-20.7-25.3)
Hexagonalidad temporal	0.40	0.17	(-1.71)	12.3	(-25.7-22.3)

8.2.2.1 MEDIDAS AREA CORNEAL CENTRAL

El Promedio de las diferencias para Hexagonalidad Endotelial para el Area central fue de **0.15** puntos entre las dos diferentes tomas del mismo evaluador. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por encima 0.15 puntos sobre la toma 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas del mismo examinador estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de -23.6 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite inferior y 23.9 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite superior con una desviación estándar de 12.1. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 4.1**)

Figura 4.1 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. Promedio HEXAGONALIDAD analizada área corneal CENTRAL.

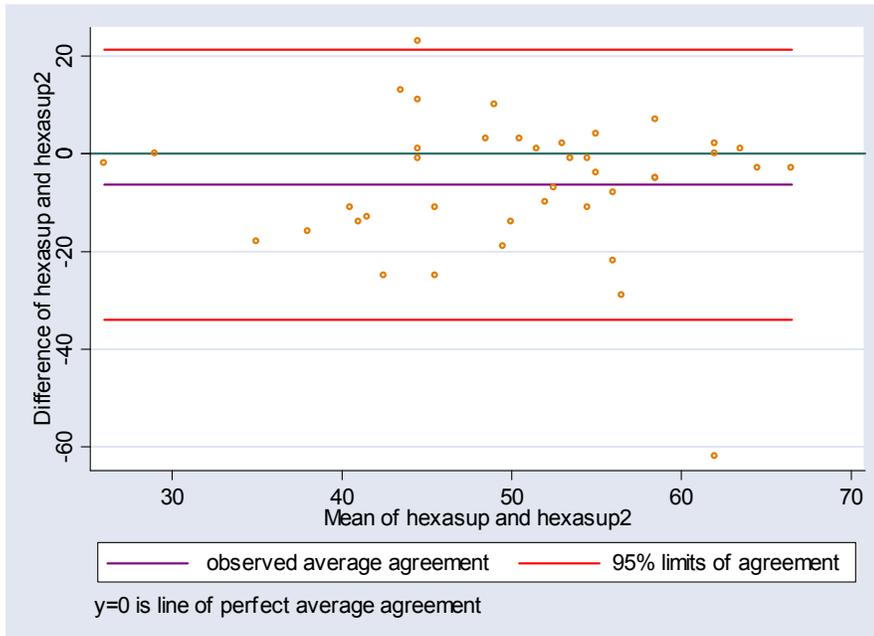


En la grafica observamos que el Promedio de las diferencias es pequeño entre la Toma 1 y Toma 2 para el porcentaje de Hexagonalidad analizado en el Área central, casi 0 a pesar de que existe gran variabilidad de los puntos con respecto a la línea promedio la distancia entre los Limites de Confianza del 95% es baja por lo tanto hay un acuerdo mayor intraevaluador para esta toma en cuanto a Hexagonalidad. *r* de 0.3

8.2.2.3 MEDIDAS AREA CORNEAL SUPERIOR

El Promedio de las diferencias para Hexagonalidad Endotelial para el Area superior fue de **-6.32** puntos entre las dos diferentes tomas del mismo evaluador. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por debajo 6.32 puntos sobre la toma 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas del mismo examinador estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de **-33.9** de porcentaje de Hexagonalidad en el limite inferior y **21.3** de porcentaje de Hexagonalidad en el limite superior con una desviación estándar de 14.1. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 4.2**)

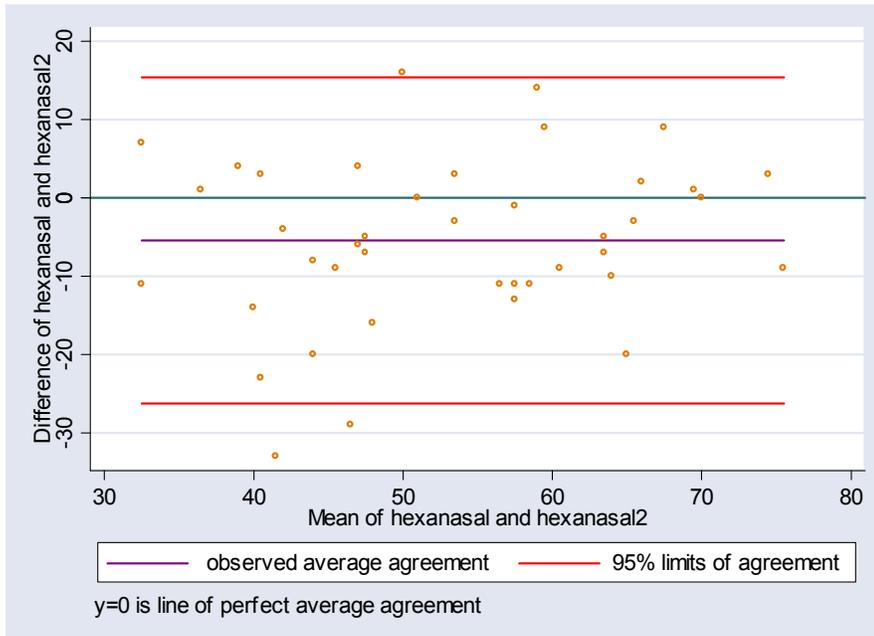
Figura 4.2 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. Promedio HEXAGONALIDAD analizada área corneal SUPERIOR



8.2.2.3 MEDIDAS AREA CORNEAL NASAL

El Promedio de las diferencias para Hexagonalidad Endotelial para el Area nasal fue de **-5.41** puntos entre las dos diferentes tomas del mismo evaluador. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por debajo 5.41 puntos sobre la toma 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas del mismo examinador estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de -26.2 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite inferior y 15.4 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite superior con una desviación estándar de 10.6. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 4.3**)

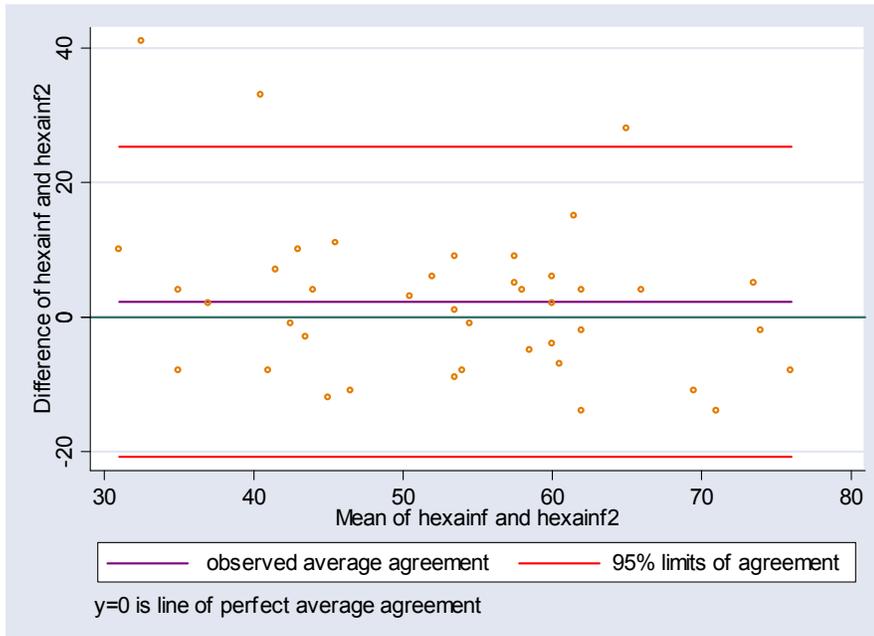
Figura 4.3 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. Promedio HEXAGONALIDAD analizada área corneal NASAL



8.2.2.4 MEDIDAS AREA CORNEAL INFERIOR

El Promedio de las diferencias para Hexagonalidad Endotelial para el Area inferior fue de **2.31** puntos entre las dos diferentes tomas del mismo evaluador. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por encima 2.31 puntos sobre la toma 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas del mismo examinador estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de -20.7 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite inferior y 25.3 de porcentaje de Hexagonalidad en el limite superior con una desviación estándar de 11.7. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 4.4**)

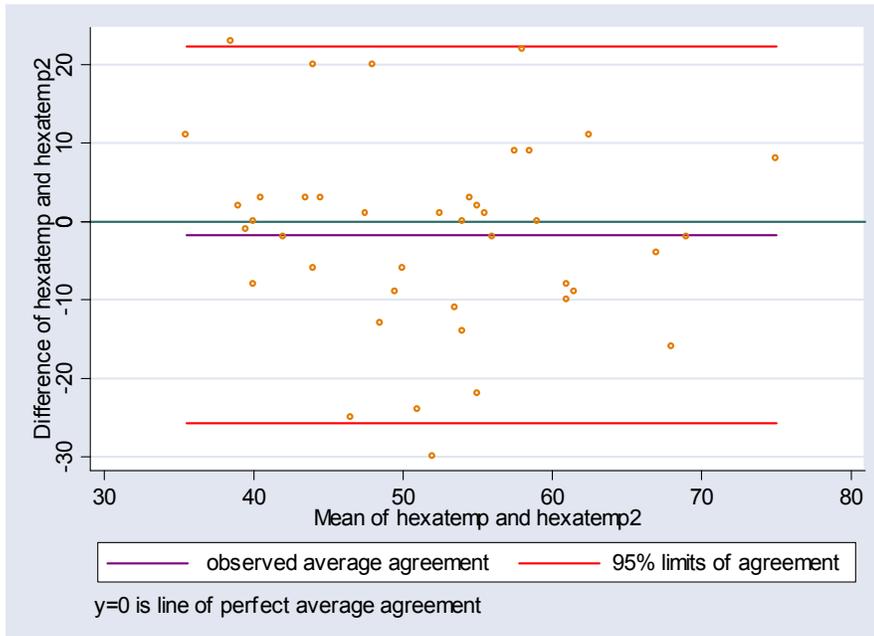
Figura 4.4 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. Promedio HEXAGONALIDAD analizada área corneal INFERIOR



6.2.2.5 MEDIDAS AREA CORNEAL TEMPORAL

El Promedio de las diferencias para Hexagonalidad Endotelial para el Area Temporal fue de **-1.71** puntos entre las dos diferentes tomas del mismo evaluador. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por debajo 1.71 puntos sobre la toma 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas del mismo examinador estuvo entre el Índice de Confianza del 95% de **-25.7** de porcentaje de Hexagonalidad en el limite inferior y **22.3** de porcentaje de Hexagonalidad en el limite superior con una desviación estándar de 12.3. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 4.5**)

Figura 4.5 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. Promedio HEXAGONALIDAD analizada área corneal TEMPORAL



A pesar de que el promedio de las diferencias en cuanto a Hexagonalidad fue bajo en todas las áreas corneales y el promedio de diferencias más bajo comparándolo con las otras medidas de Hexagonalidad fue el del área corneal central, casi cero se encontró en cuanto a los límites de acuerdo fue la medida corneal nasal la de menor diferencia entre sus límites del 95% con una desviación estándar menor y una correlación de r de 0.65 que fue la más alta con respecto a las otras medidas, pero el coeficiente de correlación intraclase para esta variable fue menor a 0.70 en todas las áreas corneales lo que nos da una reproducibilidad débil intraevaluador para HEXAGONALIDAD.

8.2.3 REPRODUCIBILIDAD INTRAEVALUADOR DENSIDAD CELULAR ENDOTELIAL

Se realizó el Promedio de Densidad Celular Endotelial analizado por el Evaluador de cada área corneal (Central y 4 Paracentrales) en dos diferentes tomas **TABLA XI** así como el promedio de las diferencias entre la toma uno y dos Intraevaluador **TABLA XII** encontrándose lo siguiente:

TABLA XI. Promedio Densidad Celular Endotelial de cada área corneal. Entre Toma 1 y Toma 2.

PROMEDIO	Densidad Endotelial Celular área central	Densidad Endotelial Celular área superior	Densidad Endotelial Celular área nasal	Densidad Endotelial Celular área inferior	Densidad Endotelial Celular área temporal
Evaluador TOMA 1	2764	3097.6	2844.1	2873.0	2872.2
Evaluador TOMA 2	2776.8	3123.3	2888.5	2899.9	2946.3

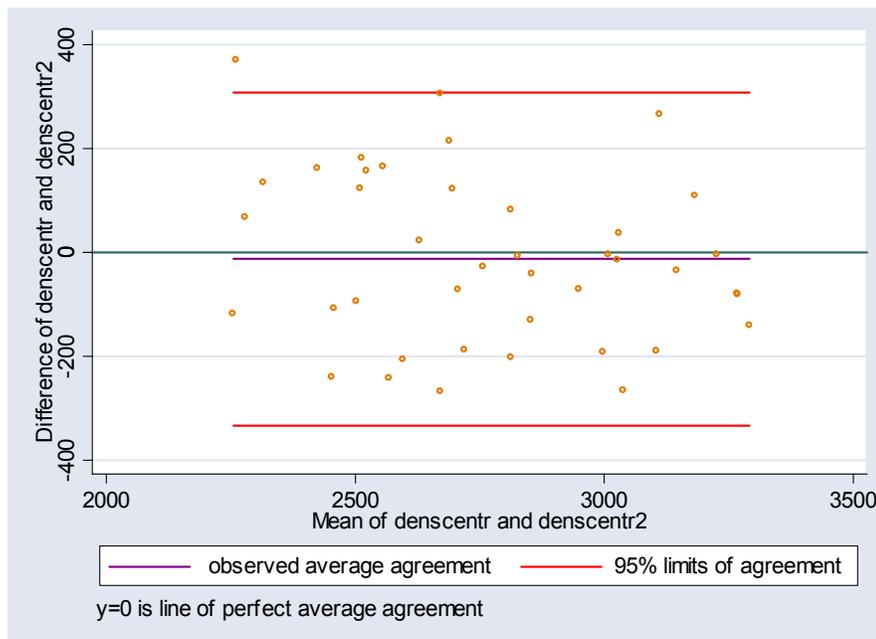
TABLA XII. Reproducibilidad Densidad intraevaluador Topcon, Centro de referencia oftalmológica, Bucaramanga 2009.

Variable	r Pearson	ICC	Promedio diferencias	Desviación estándar	Limites de Acuerdo 95%
Densidad centro	0.86	0.99	(-12.7)	163.8	(-333.9-308.4)
Densidad superior	0.80	0.99	(-25.67)	236.8	(-489.7-438.4)
Densidad nasal	0.84	1.0	(-44.42)	221.7	(-479.1-390.2)
Densidad inferior	0.75	1.0	(-26.9)	254.9	(-526.7-472.8)
Densidad temporal	0.79	0.90	(-74.1)	227.2	(-519.4-371.3)

8.2.3.1 MEDIDAS AREA CORNEAL CENTRAL

El promedio de diferencias entre las tomas 1 y 2 realizadas por el mismo examinador de Densidad Endotelial Celular en el area corneal central fue de -12.7. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por debajo 12.7 puntos menos que la toma 2. El Índice de Confianza del 95% para esta medida estuvo entre -333.9 células/ mm² en el limite inferior y 308.4 células/ mm² en el limite superior con una desviación estándar de 163.8 células/ mm². Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 5.1**)

Figura 5.1 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. Promedio DENSIDAD CELULAR analizada área corneal CENTRAL.



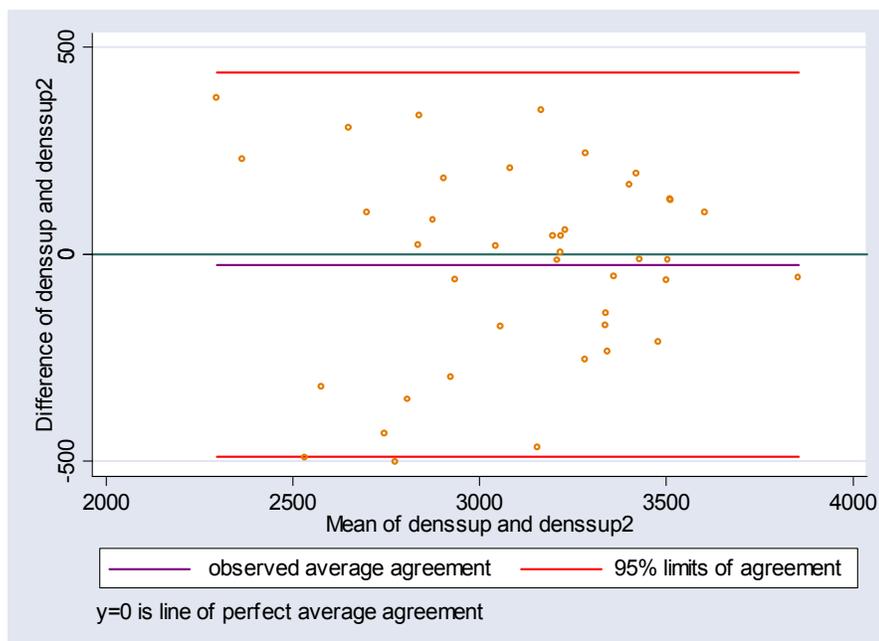
En la grafica observamos que el Promedio de las diferencias es de -12.7 células/ mm^2 el menor entre todas las medidas de Densidad Celular Endotelial de las áreas corneales entre la Toma 1 y Toma 2, a pesar de que existe gran variabilidad de los puntos con respecto a la línea promedio tan solo hay 1 puntos de sesgo por fuera del 95% de limites de acuerdo. Es esta medida de densidad Central donde se encontraron los limites de Acuerdo entre las tomas del evaluador mas pequeños, además se encontró que la medida de correlación de Pearson fue de 0.86 la mas alta de todas las medidas de densidad corneal intraevaluador en cuanto a correlación en el estudio, lo que nos indica que hay una correlación del 86% entre las tomas del Examinador en cuanto a Densidad Corneal Endotelial. Coeficiente de Correlacion intraclase de 0.99 .

8.2.3.2 MEDIDAS AREA CORNEAL SUPERIOR

El promedio de diferencias entre las tomas 1 y 2 realizadas por el mismo examinador de Densidad Endotelial Celular en el area corneal superior fue de **-25.67**. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por debajo **25.67** puntos menos que la toma 2. El Indice de Confianza del 95% para esta medida estuvo entre **-489.7**células/ mm^2 en el limite inferior y **438.4** células/ mm^2 en el limite superior

con una desviación estándar de 236.8 células/ mm². Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 5.2**)

Figura 5.2 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. Promedio DENSIDAD CELULAR analizada área corneal SUPERIOR.



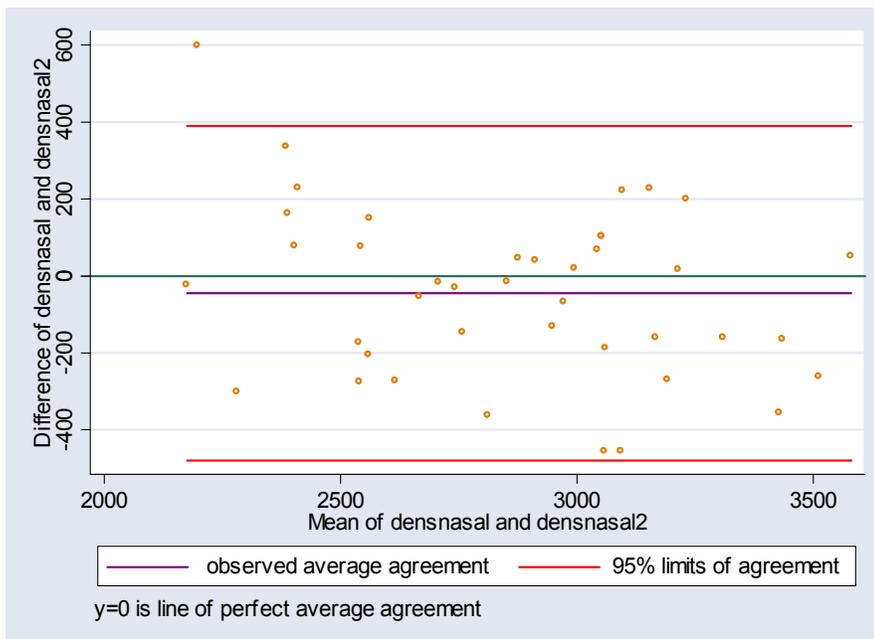
En la grafica observamos que el Promedio de las diferencias es de -25.67células/ mm² entre la Toma 1 y Toma 2, Observamos que existe gran variabilidad de los puntos con respecto a la línea promedio tan. El limite inferior y superior del 95% de limites de acuerdo es amplio con respecto a la medida central a pesar de esto se encontró que la medida de correlacion de Pearson fue de 0.80 lo que nos indica que hay una correlacion del 80% entre las tomas del Examinador en cuanto a Densidad Corneal Endotelial en esta area superior.

8.2.3.3 MEDIDAS AREA CORNEAL NASAL

El promedio de diferencias entre las tomas 1 y 2 realizadas por el mismo examinador de Densidad Endotelial Celular en el area corneal nasal fue de -**44.42**. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por debajo 44.42 puntos menos que la toma 2. El Indice de Confianza del 95% para esta medida estuvo entre -479.1células/ mm² en el limite inferior y 390.2 células/ mm² en el limite superior

con una desviación estándar de 221.7 células/ mm². Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 5.3**)

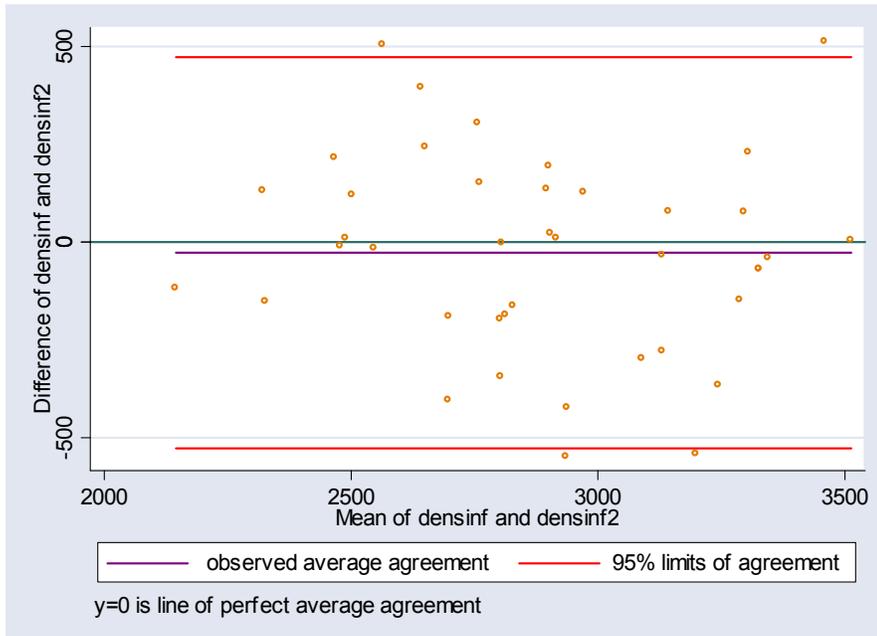
Figura 5.3 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. Promedio DENSIDAD CELULAR analizada área corneal NASAL.



8.2.3.4 MEDIDAS AREA CORNEAL INFERIOR

El promedio de diferencias entre las tomas 1 y 2 realizadas por el mismo examinador de Densidad Endotelial Celular en el area corneal inferior fue de - **26.9**. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por debajo 26.9 puntos menos que la toma 2. El Índice de Confianza del 95% para esta medida estuvo entre - 526.7 células/ mm² en el limite inferior y 472.8 células/ mm² en el limite superior con una desviación estándar de 254.9 células/ mm². Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 5.4**)

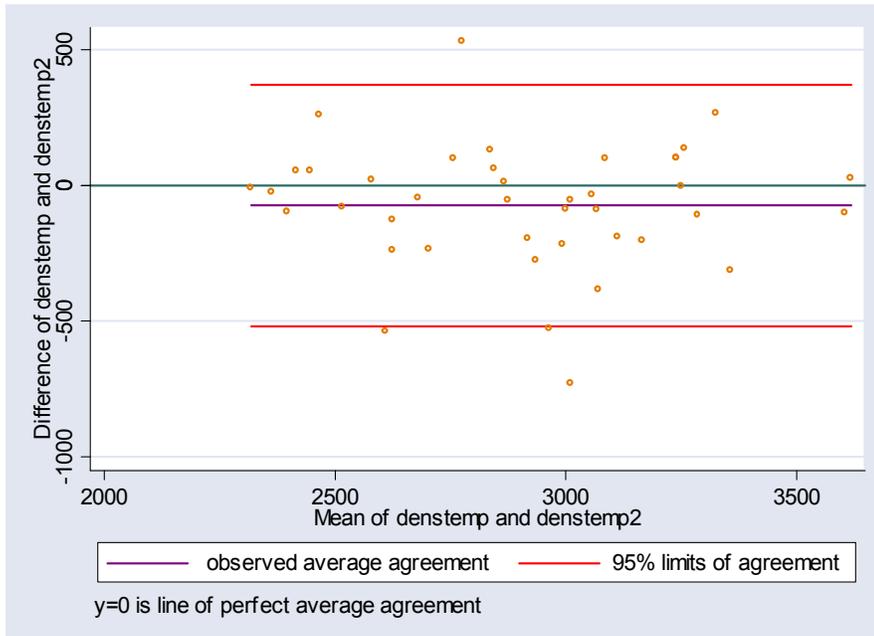
Figura 5.4 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. Promedio DENSIDAD CELULAR analizada área corneal INFERIOR.



8.2.3.5 MEDIDAS AREA CORNEAL TEMPORAL

El promedio de diferencias entre las tomas 1 y 2 realizadas por el mismo examinador de Densidad Endotelial Celular en el area corneal temporal fue de - **74.1**. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por debajo 74.1 puntos menos que la toma 2. El Índice de Confianza del 95% para esta medida estuvo entre - 519.4 células/ mm² en el limite inferior y 371.3 células/ mm² en el limite superior con una desviación estándar de 227.2 células/ mm². Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 5.5**)

Figura 5.5 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. Promedio DENSIDAD CELULAR analizada área corneal TEMPORAL



El coeficiente de correlacion intraclase fue mayor a 0.90 en todas las areas corneales entre la toma 1 y toma 2. El promedio de las diferencias de la Densidad Endotelial Celular en el área corneal central fue el más bajo de todas las tomas, tan solo -12.7 unidades/ mm² fue la diferencia entre la toma uno y la toma dos. En la grafica de Limites de acuerdo en la medida de densidad central hay mayor acuerdo entre las tomas de densidad central que en las otras áreas con una desviación estándar menor. Por lo tanto entre las medidas de densidad, fue la central la que mejor limites de acuerdo tuvo intraevaluador. Encontramos también una medida de correlación alta de 0.86 entre las dos tomas para esta medida de densidad central, lo que nos indica que hay un 85% de correlación entre las tomas intraevaluador.

8.2.4 REPRODUCIBILIDAD INTRAEVALUADOR TAMAÑO CELULAR PROMEDIO

Se realizo el Promedio de Tamaño Celular Endotelial analizado por el Evaluador de cada area corneal (Central y 4 Paracentrales) en dos diferentes tomas **TABLA XIII** asi como el promedio de las diferencias entre la toma uno y dos Intraevaluador **TABLA XIV** encontrándose lo siguiente:

TABLA XIII.. Tamaño Celular Promedio de cada área corneal. Entre Toma 1 y Toma 2.

PROMEDIO	Tamaño Celular prom área central	Tamaño Celular prom área superior	Tamaño Celular prom área nasal	Tamaño Celular prom área inferior	Tamaño Celular prom área Temporal
Evaluador TOMA 1	365.8	327.3	354.8	344.0	352.4
Evaluador TOMA 2	365.3	324.5	353.8	351.4	344.5

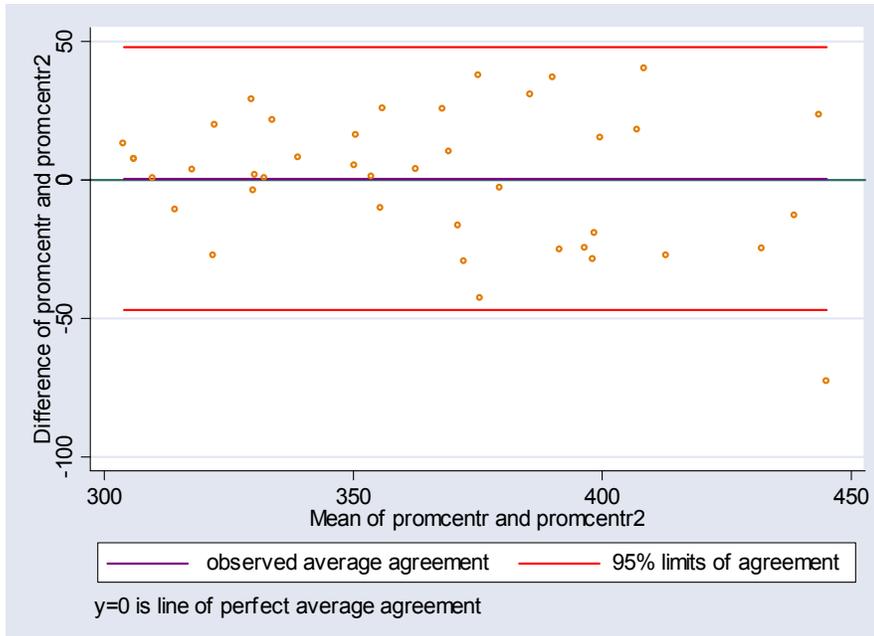
TABLA XIV. Reproducibilidad Tamaño Celular Promedio intraevaluador Topcon, Centro de referencia oftalmológica, Bucaramanga 2009.

Variable	r Pearson	ICC	Promedio diferencias	Desviación estándar	Limites de Acuerdo 95%
Tamaño Promedio centro	0.84	0.96	0.49	24.2	(-47-47.9)
Tamaño promedio superior	0.75	0.96	2.78	30.5	(-57-62.6)
Tamaño promedio nasal	0.81	1.0	1.05	32.1	(-61.9-64)
Tamaño Promedio inferior	0.36	0.98	(-7.34)	65.1	(-134.9-120.2)
Tamaño Promedio temporal	0.79	0.98	7.86	27.5	(-46.2-61.8)

8.2.4.1 MEDIDAS AREA CORNEAL CENTRAL

El promedio de diferencias Intraevaluador para la medida de Tamaño Celular Promedio en el area corneal central fue de **0.49** entre la Toma 1 y 2. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por encima $0.49\mu\text{m}^2$ en promedio mas que la toma 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas del examinador estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de $-47\mu\text{m}^2$ en el limite inferior y $47.9\mu\text{m}^2$ en el limite superior con desviación estándar de $24.2\mu\text{m}^2$. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 6.1**)

Figura 6.1 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. TAMAÑO PROMEDIO CELULAR en el área corneal CENTRAL.

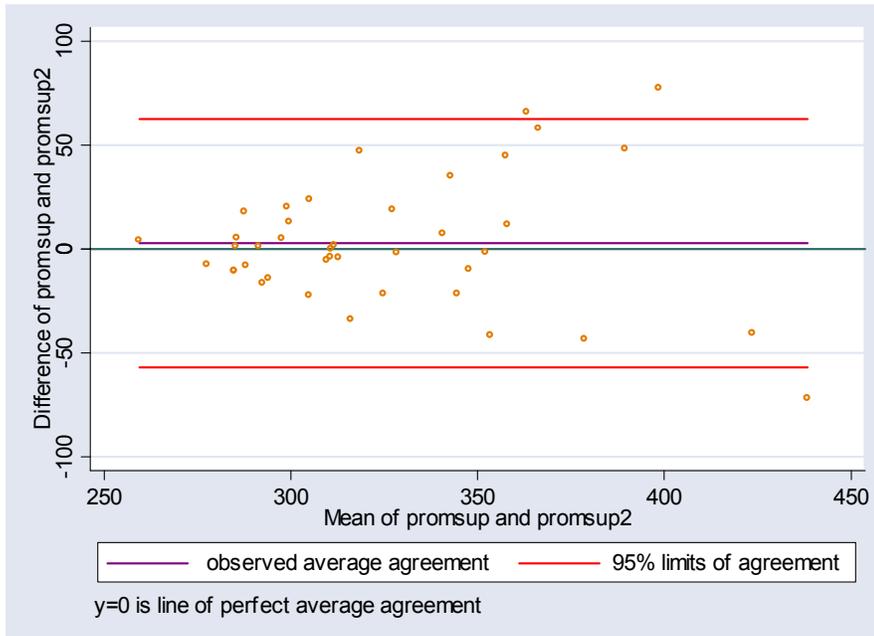


En la grafica observamos que el Promedio de las diferencias es tan solo de $-0.49 \mu\text{m}^2$ casi Cero incluso el menor entre todas las medidas de Tamaño Celular Promedio de las areas corneales intraevaluador entre las tomas 1 y 2, a pesar de que existe gran variabilidad de los puntos con respecto a la línea promedio tan solo hay 1 puntos de sesgo por fuera del 95% de limites de acuerdo y se encontró que la medida de correlacion de Pearson fue de 0.84 lo que nos indica que hay una correlacion del 84% entre las tomas 1 y 2 del Examinador.

8.2.4.2 MEDIDAS AREA CORNEAL SUPERIOR

El promedio de diferencias Intraevaluador para la medida de Tamaño Celular Promedio en el area corneal superior fue de 2.78 entre la Toma 1 y 2. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por encima $2.78 \mu\text{m}^2$ en promedio mas que la toma 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas del examinador estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de $-57 \mu\text{m}^2$ en el limite inferior y $62.9 \mu\text{m}^2$ en el limite superior con desviación estándar de $30.5 \mu\text{m}^2$. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 6.2**)

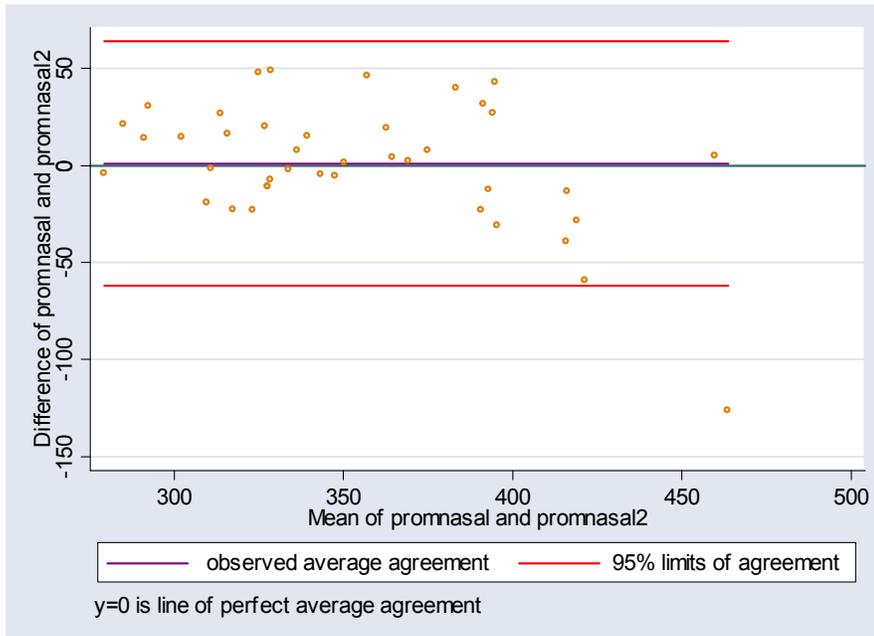
Figura 6.2 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. TAMAÑO PROMEDIO CELULAR en el área corneal SUPERIOR



8.2.4.3. MEDIDAS AREA CORNEAL NASAL

El promedio de diferencias Intraevaluador para la medida de Tamaño Celular Promedio en el area corneal Nasal fue de **1.05** entre la Toma 1 y 2. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por encima $1.05\mu\text{m}^2$ en promedio mas que la toma 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas del examinador estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de $-61.9\mu\text{m}^2$ en el limite inferior y $64\mu\text{m}^2$ en el limite superior con desviación estándar de $32.1\mu\text{m}^2$. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 6.3**)

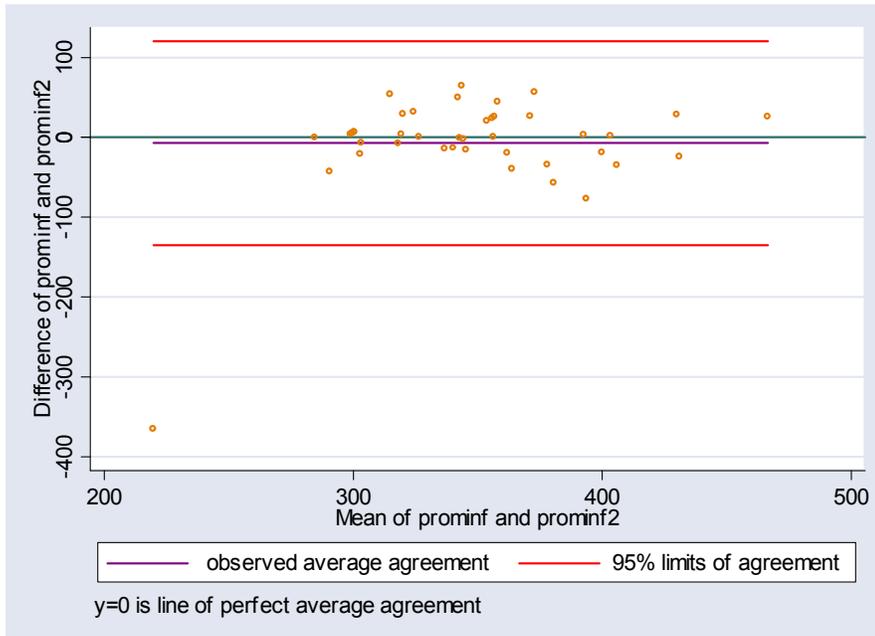
Figura 6.3 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. TAMAÑO PROMEDIO CELULAR en el área corneal NASAL



8.2.4.4. MEDIDAS AREA CORNEAL INFERIOR

El promedio de diferencias Intraevaluador para la medida de Tamaño Celular Promedio en el area corneal Inferior fue de **-7.34** entre la Toma 1 y 2. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por debajo $7.34\mu\text{m}^2$ en promedio menos que la toma 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas del examinador estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de $-134.9\mu\text{m}^2$ en el limite inferior y $120.2\mu\text{m}^2$ en el limite superior con desviación estándar de $65.1\mu\text{m}^2$. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 6.4**)

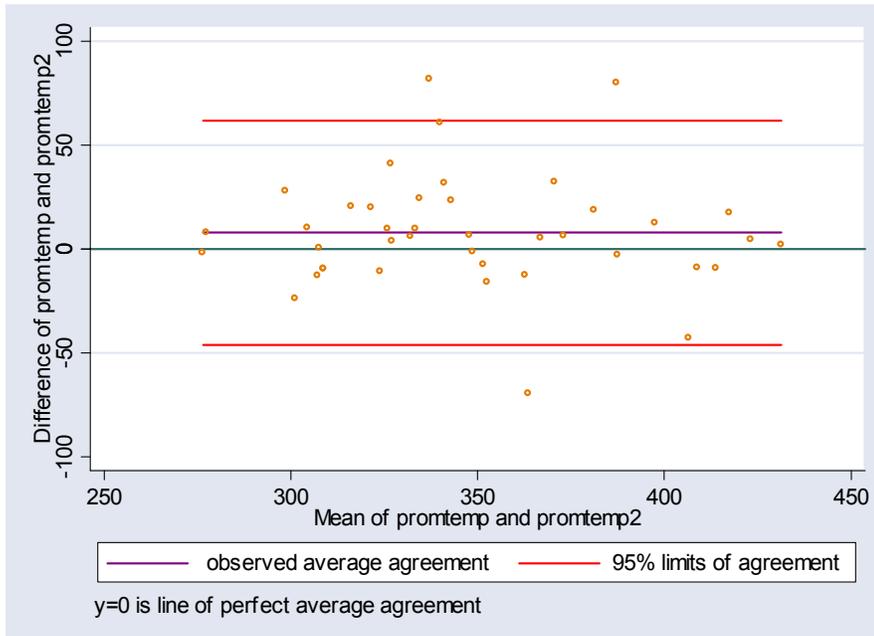
Figura 6.4 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. **TAMAÑO PROMEDIO CELULAR** en el área corneal INFERIOR



8.2.4.5 MEDIDAS AREA CORNEAL TEMPORAL

El promedio de diferencias Intraevaluador para la medida de Tamaño Celular Promedio en el area corneal Temporal fue de **7.86** entre la Toma 1 y 2. Lo que quiere decir que la Toma 1 estuvo por encima $7.86\mu\text{m}^2$ en promedio mas que la toma 2. El 95% de esas diferencias entre las tomas del examinador estuvo entre el Indice de Confianza del 95% de $-46.2\mu\text{m}^2$ en el limite inferior y $61.8\mu\text{m}^2$ en el limite superior con desviación estándar de $27.5\mu\text{m}^2$. Esto lo vemos reflejado en los límites de acuerdo de Bland y Altman (**Figura 6.5**)

Figura 6.5 Gráfica de niveles de acuerdo de Bland y Altman para la reproducibilidad intraevaluador. TAMAÑO PROMEDIO CELULAR en el área corneal TEMPORAL



Teniendo en cuenta que el Tamaño promedio celular es el tamaño de las células analizadas en micras cuadradas, podemos decir que el promedio de las diferencias de tamaño promedio celular a nivel central fue el más bajo, casi Cero de diferencia Intraevaluador entre la toma 1 y 2. El coeficiente de correlación intraclase (CCI) entre la toma 1 y 2 para esta variable fue mayor a 0.90 en todas las áreas corneales. En cuanto a Límites de Acuerdo fue la medida central del Tamaño promedio central la que presento menos diferencia entre los límites y con una desviación estándar menor.

Por lo tanto el mejor valor en términos de acuerdo para Tamaño promedio celular Intraevaluador entre las tomas fue el área corneal central.

Encontramos también una medida de correlación alta de 0.86 entre evaluadores para esta medida de densidad central, lo que nos indica que hay un 86% de correlación entre las tomas

9. DISCUSIÓN

Con el incremento de la popularidad de las diferentes técnicas quirúrgicas para cirugía de catarata, cirugía refractiva y el uso de lentes faquicos intraoculares en personas jóvenes, la necesidad de un examen en vivo de la morfología del endotelio corneal ha tomado importancia como método de monitorizar la densidad celular endotelial³⁹. Es sabido que la técnica de la medición del endotelio corneal a través de la microscopía especular de no contacto tiene ventajas y desventajas. Entre las ventajas que tiene este procedimiento se encuentra el hecho de proveer una fotografía detallada de la densidad celular y de la morfología del endotelio corneal.³⁰ La microscopía especular es apreciada por médicos oftalmólogos, aceptada por los pacientes, principalmente porque la evaluación puede ser llevada a cabo sin la necesidad de anestésicos y no hay riesgo de trauma corneal o transmisión de infección⁴⁰. Permite la toma de imágenes del endotelio sin tener contacto directo con el ojo y las imágenes se adquieren rápidamente³². La desventaja de la microscopía especular radica principalmente en la resolución de la imagen quieta, la cual es limitada por la dispersión de la luz rodeando el tejido corneal³⁰. Otra desventaja de esta técnica es el costo del equipo, la disponibilidad y la necesidad para la interpretación de imágenes por un observador experimentado³⁰.

Como sabemos y discutimos en el marco teórico el endotelio corneal es incapaz de proliferar y compensar una pérdida celular, con el riesgo de sufrir una descompensación corneal causada por la carencia de una regulación del flujo de pérdida celular en las corneas de ojos con un porcentaje de pérdida mayor. Estudios pasados han mostrado que, en el nacimiento, la densidad celular endotelial es de aproximadamente 5,000 células/mm² y que hay un rápido desgaste hacia la edad de los 20 años nivelándose hacia un lento, y estable decrecimiento de 0,6% por año en corneas normales a través de la vida adulta, con un aumento gradual de la variabilidad en el tamaño celular (polimegatismo) y en la forma celular (pleomorfismo)⁴¹. Esta disminución de la densidad celular endotelial (DCE) tiende a ser mayor en estadios postoperatorios, ya que hay daño celular durante la cirugía intraocular. En ojos con enfermedades como cornea guttata, la tasa de pérdida celular postoperatoria incrementa hasta ser mayor de 7% por año⁴².

Basado en la densidad celular endotelial adulta, la córnea humana tiene el vasto potencial fisiológico de reserva para poseer suficientes células endoteliales para durar una vida >100 años⁴³. Un estudio reciente demostró que las células endoteliales de la córnea humana de donantes jóvenes (<30 años de edad) proliferan más fácilmente que aquella de donantes de mayor edad (>50 años de

edad)⁴³, pero en ese estudio, no se hizo una comparación de la capacidad proliferativa de las células endoteliales corneales del área central versus la periférica.⁴⁴

Este estudio comparo las diferentes medidas centrales y cuatro paracentrales con un microscopio especular de no contacto Topcon SP-3000, para evaluar la reproducibilidad Interevaluador e Intraevaluador, utilizado en modo automático en corneas sanas. Este microscopio especular de no contacto es capaz de reproducir las imágenes del endotelio corneal con alta calidad, lo que hace fácil para los examinadores evaluar los límites celulares y marcar su centro. El análisis es rápido tomando 2-3 minutos por imagen.

REPRODUCIBILIDAD INTEREXAMINADOR-INTRAEVALUADOR

La reproducibilidad Interexaminador/Intraevaluador fue buena para las medidas de Tamaño Promedio Celular y Densidad Endotelial en las medida corneal central y 4 paracentrales.

Sabemos que la Densidad Central Corneal Endotelial es el parámetro mas utilizado en la práctica clínica sus valores preoperatorios y postoperatorios son críticos para el mantenimiento de la transparencia corneal/

Los límites de Acuerdo para estas dos medidas de Tamaño Promedio Celular y de Densidad Endotelial en el area corneal central fueron los más angostos.

El límite de Acuerdo indica que el rango esperado de las diferencias de las medidas de Densidad Endotelial Central entre los dos examinadores esta en un 95% entre (-322.6 a 339.5 células/mm²) que fue el rango menor encontrado entre los examinadores en las diferentes áreas corneales evaluadas para esta medida de Densidad Endotelial Corneal.

El límite de Acuerdo de Densidad Endotelial Central intraevaluador fue de LoA (-333.9 a 308.4 células/mm²) entre las tomas.

El límite de Acuerdo para Tamaño Promedio Celular entre los dos evaluadores fue menor en el area central LoA 95% (-43.4 a 41.4). Intraevaluador fue de LoA95% (-47 a 47.9)

Nuestros hallazgos son comparables con algunos reportados por otros investigadores⁴⁵⁻⁴⁶, quienes evaluaron la reproducibilidad en sistemas individuales, con el Topcon Image-NET, Cheung y Cho⁴⁵ reportaron 95% LoA de -155 a +103 células/mm².

Con el método de Centro de Konan, Nichols⁴⁶ reporto 95% LoA of -497 a +378 células/mm², en una primera sesión y de -355 a +397 células/mm² en una segunda sesión.

A pesar de que los datos son similares con nuestro estudio, la reproducibilidad del método de Konan fue menor seguramente porque el número de células contadas fue menor (40 a 50 células) entre ambos examinadores.

En un estudio de microfotografías de corneas normales con un microscopio especular de no contacto (Topcon SP-1000) Doughty y colegas⁴⁷, encontraron que la exactitud de la densidad central no es mejor de 10% si solamente se toman 25 células y son medidas pero mejora la exactitud a $\pm 2\%$ si se toman 75 células, es decir a mayor número de células más exactitud, en nuestro estudio hubo un promedio de 100 células por examinador.

Si las células examinadas fueran precisamente siempre las mismas, la variabilidad interexaminador probablemente sería menor para la medida de Densidad Endotelial Central³¹⁻⁴⁸.

Para la medida de reproducibilidad interevaluador para la variable de Hexagonalidad muestra una reproducibilidad débil, la Hexagonalidad que nos da parámetros morfo métricos, el cual expresa variabilidad del tamaño celular (polimegatismo) y su proporción de células hexagonales (poligonalidad) está más influenciado por presentaciones subjetivas del análisis del equipo³¹.

Las diferencias entre los examinadores en corregir los bordes celulares o marcar el centro celular pueden resultar en una diferente reconstrucción del mosaico endotelial, lo cual se puede manifestar en variaciones estimadas en tamaño o forma celular y dar baja reproducibilidad en el parámetro de Hexagonalidad.

CONCLUSIONES

El examen de Recuento Endotelial con el microscopio especular de No contacto Topcon SP-3000 es reproducible Intraevaluador e Interexaminador para las medidas de Densidad endotelial Celular y Tamaño promedio Celular.

Los límites de Acuerdo intraevaluador/interevaluador fueron menores para las medidas centrales de Densidad Endotelial y Tamaño promedio Celular.

La reproducibilidad Intraevaluador e Interexaminador para la variable Hexagonalidad es débil.

Gracias a los nuevos dispositivos de alineamiento y sistemas de autofocus, los recientes instrumentos de no contacto son capaces de adquirir imágenes que pueden ser grabadas fácilmente y con la asistencia de sistemas de computación estos métodos se pueden aplicar directamente a la microfotografía endotelial original y son medidos los parámetros morfo métricos y de Densidad Endotelial celular.

RECOMENDACIONES

- La correlación de los valores de Hexagonalidad medidos con el microscopio de No contacto Topcon SP 3000 fue limitada seguramente por diferentes algoritmos empleados para la determinación de los límites celulares, cuando los bordes celulares no están perfectamente delimitados y contrastados, el computador algunas veces realiza errores en el trazado de los límites celulares. El examinador puede corregir ciertas falsas lecturas pero no todas las imperfecciones pueden ser corregidas en la práctica porque si muchos cambios son realizados el método se torna más largo de lo que debe tardar incluso en un procedimiento manual.
- Si las células examinadas fueran precisamente siempre las mismas, la variabilidad interexaminador probablemente sería menor para la medida de Densidad Endotelial
- Si el mosaico endotelial a medir fuera siempre el mismo probablemente sería mejor la reproducibilidad incluso de Hexagonalidad

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Visual impairment and blindness www.who.int/mediacentre/factsheets/fs282/en/index.html
2. Dawson Daniel G, Watsky Mitchell A. Chapter 4. Cornea and Sclera. Duane's Ophthalmology 2011
3. *Bloom and Fawcett. Chapter 34, Eye and Cornea TEXTBOOK OF HISTOLOGY, 11 Ed 1990.*
4. Edelhauser HF: Castroviejo Lecture: The resiliency of the corneal endothelium to refractive and intraocular surgery. *Cornea* 19:263, 2000
5. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF: Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res* 4:671, 1985
6. Joyce NC, Meklir B, Joyce SJ, Zieske J. Cell cycle protein expression and proliferative status in human corneal cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996; 37:645–655.
7. Joyce NC, Navon SE, Roy S, Zieske J. Expression of cell cycle associated proteins in human and rabbit corneal endothelium in situ. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996; 37:1566–1575.
8. Wilson SE, Weng J, Blair S, et al. Expression of E6/E7 or SV40 large T antigen-coding oncogenes in human corneal endothelial cells indicates regulated high-proliferative capacity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995; 36:32–40.
9. Senoo T, Joyce NC. Cell cycle kinetics in corneal endothelium

from old and young donors. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:660–667.

10. Nancy C. Joyce, Deshea L. Harris, Mechanism of Mitotic inhibition in Corneal Endothelium. Contact inhibition and TGF-B2. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002; 43: 2152-58
11. Egan CA, Savre-Train I, Shay JW, et al. Analysis of telomere lengths in human corneal endothelial cells from donors of different ages. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39:648–653
12. Amann J, et al. Increased endothelial cell density in the paracentral and peripheral regions of the human cornea. *Am J Ophthalmol* 135:584, 2003
13. Maurice DM: The cornea and sclera. In *The Eye*, 3rd ed. : Davson H, Ed. Orlando: Academic Press, 1984:85
14. Thoft RA, Friend J: The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24:1442, 1983
15. Lim JJ, Ussing HH: Analysis of presteady-state Na⁺ fluxes across the rabbit corneal endothelium. *J Membrane Biol* 65:197, 1982
16. Geroski DH, Matsuda M, Yee RW, Edelhauser HF: Pump function of the human corneal endothelium. Effects of age and corneal guttata. *Ophthalmol* 92:759, 1984
17. Bonanno, JA: Identity and regulation of ion transport mechanisms in the corneal endothelium. *Prog Retinal Eye Res* 22:69, 2003
18. Stiemke MM, Roman RJ, Palmer M, Edelhauser HF: Na⁺ activity in the aqueous humor and corneal stroma of the rabbit. *Exp Eye Res* 55:425, 1992
19. Edelhauser HF: Castroviejo Lecture: The resiliency of the corneal endothelium to refractive and intraocular surgery. *Cornea* 19:263, 2000

20. Bourne RR, Minnassian DC, Dart JK, et al: Effect of cataract surgery on the corneal endothelium. *Ophthalmol* 111:679, 2004
21. Bourne WM: Biology of the corneal endothelium in health and disease. *Eye* 17:912, 2003
22. Whikehart DR, Parikh CH, Lowe AV, Edelhauser HF: Evidence of stem-like cells for the human corneal endothelium. Submitted
23. Bourne WM: Cellular changes in transplanted human corneas. *Cornea* 20:560, 2001
24. Johnson DH, Bourne WM, Campbell RJ: The ultrastructure of Descmet's membrane. I. Changes with age in normal corneas. *Arch Ophthalmol* 100:1942, 1982
25. Waring III GO: Posterior collagenous layer of the cornea. Ultrastructural classification of abnormal collagenous tissue posterior to Descemet's membrane in 30 cases. *Arch Ophthalmol* 100:122, 1982
26. Koester CJ. Scanning mirror microscope with optical sectioning characteristics: applications in ophthalmology. *Appl Opt.* 1980;19:1749-1757.
27. Masters BR. David Maurice's contributions to ophthalmic instrumentation: roots of the scanning slit confocal microscope. *Exp Eye Res.* 2004;78:315-326.
28. Laing RA, Oak SS, Leibowitz HA. Specialized microscopy of the cornea. In: Leibowitz HM, Waring GO, eds. *Corneal Disorders*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1998:83-122.
29. Masters BR, Bohnke M. Three-dimensional confocal microscopy of the living human eye. *Annu Rev Biomed Eng.* 2002;4:69-91.

30. Jurkunas U, Colby K. Evaluation of the Corneal Endothelium. *Techniques in Ophthalmology* 3(1):19-26, 2005.
31. De Sanctis U, Machetta F, Razzano L, Dalmaso P, Grignolo FM. Corneal Endothelium evaluation with 2 Noncontact Specular Microscopes and their semiautomated methods of Analysis. *Cornea* 2006; 25:501-506.
32. Hara M, Morishige N, Chikama T, Nishida T. Comparison of Confocal Biomicroscopy and Noncontact Specular Microscopy for Evaluation of the Corneal Endothelium. *Cornea* 22(6): 512-515, 2003.
33. Cavanagh HD, El-Agha MS, Petroll WM, et al. Specular microscopy, confocal microscopy, and ultrasound biomicroscopy. *Cornea* 2000; 19:712-722.
34. Borboli S, Colby K. Mechanisms of disease: Fuch's endothelial dystrophy. *Ophthalmol Clin North Am.* 2002;15:17-25.
35. Laule A, Cable MK, Hoffman CE, et al. Endothelial cell population changes of human cornea during life. *Arch Ophthalmol* 1978;96:2031-5
36. Hoffer KJ, Kraff MC. Normal endothelial cell count range. *Ophthalmology* 1980; 87:861-6.
37. Müller A, Doughty MJ, Wright L. Reassessment of the corneal endothelial cell organisation in children. *Br J Ophthalmol* 2000;84:692-69
38. Ruiz Y., Capote A., Perez E., Study of the corneal endothelium in high myopia correction with Artisan phakic intraocular lens. *Rev Cubana Oftalmol* vol.22 no.1 Jan.-June 2009
39. Prinz A, Varga J, Findl O. Reliability of a Video-Based Noncontact Specular Microscope for Assessing the Corneal Endothelium (*Cornea* 2007;26:924-929)

40. De Sanctis U, Machetta F, Razzano L, Dalmaso P, Grignolo FM. Corneal Endothelium evaluation with 2 Noncontact Specular Microscopes and their semiautomated methods of Analysis. *Cornea* 2006; 25:501-506.
41. Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO. Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38:779–782
42. Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO. Continued endothelial cell loss ten years after lens implantation. *Ophthalmology*. 1994; 101:1014–10.
43. Joyce NC. Proliferative response of corneal endothelial cells from young and older donors. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45:1743-1751.
44. Konomi K, Zhu C, Harris D, Joyce NC. Comparison of the proliferative capacity of human corneal endothelial cells from the central and peripheral areas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:4086-4091
45. Cheung SW, Cho P. Endothelial cells analysis with the TOPCON specular microscope SP-2000P and IMAGEnet system. *Curr Eye Res*. 2000;21:788-798.
46. Nichols JJ, Kosunick GM, Bullimore MA. Reliability of corneal thickness and endothelial cell density measures. *J Refract Surg*. 2003; 19:344- 352.
47. Doughty MJ, Muller A, Zaman ML. Assessment of the reliability of human corneal endothelial cell-density estimates using a noncontact specular microscope. *Cornea*. 2000;19:148-150
48. Ohno K, Nelson LR, McLaren JW, et al. Comparison of recording systems and analysis methods in specular microscopy. *Cornea*. 1999;18:416-423
49. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1986;1:307-310.

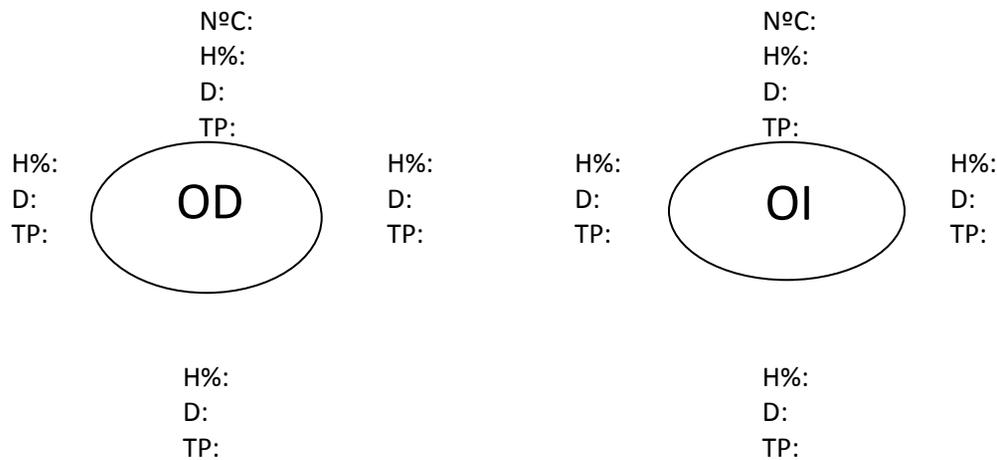
50.Lee J, Koh D, Ong CN. Statistical evaluation of agreement between two methods for measuring a quantitative variable. Comput Biol Med.1989;19:61Y70.

ANEXOS

Ficha del estudio

1. Tipo de QX: (1) LASIK (2) PRK con MMC
2. Ficha: _____ 3. Fecha (dd/mm/aa): __/__/__ 4. HHCC: _____
5. Nombre y apellidos: _____ 6. Edad ___ años
7. Sexo (1) M (2) F 8. Observador (1) CM (2) CJ 9. Toma 1 _ Toma2 _

ANEXO 1



N°C: Numero de células analizadas **H%:** Porcentaje de hexagonalidad **D:** Densidad celular

TP: Tamaño promedio (AVG size)



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

ANEXO 2

Variabilidad inter e intraobservadores para medir la reproducibilidad de los resultados de recuento endotelial con microscopía especular de No Contacto Topcon SP-3000P®.

Fecha: _____ Bucaramanga, Santander

Yo, _____ identificado(a) con la cédula de ciudadanía número _____ de _____ autorizo a los autores y demás personas involucradas en este estudio, a hacer uso de los resultados que se obtengan en el proceso de la toma de datos de recuento endotelial. Soy consciente de que para este procedimiento cada examinador (en total 2 examinadores) me realizará dos (2) tomas de cada uno de los campos de cada ojo; es decir se me realizarán en total cuatro (4) tomas de cada uno de los campos de mis ojos.

He entendido claramente el procedimiento y se me han aclarado las dudas al respecto. Me fue explicado que el procedimiento se considera de riesgo mínimo para mi salud y que no tendrá costo adicional, y si llegase a existir algún tipo de complicación causada por este, se me realizarán los procedimientos necesarios para volver al estado normal. Si en algún momento durante las tomas realizadas por el examinador, decido no ser objeto de estudio, se me permitirá retirarme sin ningún problema y seré excluido(a) del mismo.

Firma y Cédula de Ciudadanía

