

Um estudo de correlação entre a contagem endotelial da córnea em pacientes com diferentes estágios de ceratocone usando a microscopia especular

A correlation study between a corneal endothelial count in patients with different stages of keratoconus using specular microscopy

Beatriz de Abreu Fiuza Gomes¹ <https://orcid.org/0000-0001-9173-3557>
Georgia Veloso Parente Lobo¹ <https://orcid.org/0000-0001-5259-9607>

RESUMO

Objetivo: Avaliar a contagem endotelial da córnea em pacientes com ceratocone (KCN) por microscopia especular e correlacionar com o estágio do ceratocone. **Métodos:** Noventa e três olhos de 61 pacientes com KCN foram incluídos neste estudo transversal. Os olhos foram classificados nos estágios 1 a 4 de KCN de acordo com a classificação de Amsler-Krumeich utilizando ceratometria obtida pela topografia de córnea e leituras de paquimetria obtidas pela microscopia especular. **Resultados:** A idade variou de 12 a 43 anos, média \pm (desvio padrão) $22,1 \pm 6,7$ anos. A ceratometria média variou de 42,25 a 71,4 D ($53,0 \pm 6,1$ D). A paquimetria variou de 350 a 606 μm , ($461,7 \pm 47,1$ μm). Em relação a classificação, 23 pacientes (24,7%) apresentavam estágio 1, 24 (25,8%) estágio 2, 5 (6,5%) estágio 3 e 41 pacientes (44,1%) estágio 4. Não foi observada correlação linear entre ceratometria média e contagem de células endoteliais (Coeficiente de correlação de Pearson = -0,05). Nos estágios iniciais a moderados de KCN, a média da contagem de células endoteliais foi $2738,3 \pm 285,4$ cel/mm², enquanto no grupo de KCN avançado (estágios 3 e 4) foi $2670,6 \pm 262,7$ cel/mm², $p = 0,24$. **Conclusões:** Não há correlação entre a contagem de células endoteliais e o estágio do KCN.

Descritores: Endotélio da córnea; ceratocone; microscopia especular; densidade celular endotelial; Ceratometria

ABSTRACT

Objective: To evaluate the corneal endothelial count in patients with keratoconus (KCN) by specular microscopy and correlate with the stage of keratoconus. **Methods:** Ninety-three eyes from 61 patients with KCN were included in this cross-sectional study. The eyes were classified into KCN stages 1 to 4 according to the Amsler-Krumeich classification using keratometry obtained by corneal topography and pachymetry readings obtained by specular microscopy. **Results:** Age ranged from 12 to 43 years, mean \pm (standard deviation) 22.1 ± 6.7 years. The average keratometry ranged from 42.25 to 71.4 D, (53.0 ± 6.1 D). Pachymetry ranged from 350 to 606 μm , (461.7 ± 47.1 μm). Regarding the Amsler classification, 23 patients (24.7%) had stage 1, 24 (25.8%) stage 2, 5 (6.5%) stage 3 and 41 patients (44.1%) stage 4. No linear correlation was observed between mean keratometry and endothelial cell count (Pearson's correlation coefficient = -0.05). In the early to moderate stages of KCN, the mean endothelial cell count was 2738.3 ± 285.4 cell / mm², while in the advanced KCN group (stages 3 and 4) it was 2670.6 ± 262.7 cell / mm², $p = 0.24$. **Conclusions:** No correlation was found between the endothelial cell count and the KCN stage.

Keywords: Corneal endothelium; Keratoconus; Specular microscopy; Endothelial cell density; Keratometry

¹Hospital Federal de Bonsucesso, Bonsucesso, RJ, Brasil.

Pesquisa realizada no Hospital Federal de Bonsucesso, RJ, Brasil.

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Recebido para publicação em 31/7/2020 - Aceito para publicação em 13/12/2020

INTRODUÇÃO

Ceratocone (kCN) é uma desordem progressiva em que ocorre afinamento do estroma corneano central ou paracentral (geralmente inferior), acompanhado de protusão apical e astigmatismo irregular.⁽¹⁾ A estimativa da incidência (casos novos) anual de KCN com base em estudos epidemiológicos varia de 1:3000 a 1:80000 por ano.^(1,2) Essa variação pode ser atribuída a diferentes critérios de definição de caso, à maior sensibilidade dos modernos dispositivos de diagnóstico, diferenças no desenho do estudo e diferenças étnicas e outras diferenças relacionadas a amostra estudada. Um estudo recente estimou a prevalência do KCN na população geral em 1:375 (265 por 100 000) baseado na incidência anual, idade média ao diagnóstico e expectativa de vida.⁽²⁾

A literatura sobre KCN é rica em pesquisas sobre a parte anterior do córnea, investigando o epitélio, camada de Bowman e o estroma, com poucos estudos avaliando o endotélio e membrana de Descemet.⁽¹⁾ No entanto, sabe-se que alterações na microestrutura da córnea em pacientes com KCN podem levar a mudanças na camada endotelial da córnea.^(3,4)

O endotélio corneano apresenta papel primordial para fisiologia e transparência da córnea. Seus dados morfológicos como densidade endotelial, área celular média, percentual de células hexagonais, coeficiente de variação são importantes ferramentas para avaliação da fisiologia da córnea.⁽⁵⁾ A microscopia especular tem aplicação no KCN é útil no estudo de mudanças transitórias e crônicas da morfologia celular endotelial nos usuários de lentes de contato, nos procedimentos cirúrgicos pré e pós-operatório de crosslinking corneano e nos transplantes de córnea.^(6,7) Existem relatos na literatura de associação entre KCN e distrofia endotelial de Fuchs.^(8,9)

O presente estudo visou estudar a contagem endotelial da córnea em pacientes com ceratocone (KCN) por microscopia especular e correlacionar com o estágio do ceratocone.

MÉTODOS

Após aprovação no Comitê de Ética do Hospital Federal de Bonsucesso -número: 57.557.8166.5253, foi realizado estudo transversal de revisão dos prontuários com a inclusão consecutiva de todos os pacientes com ceratocone encaminhados para o setor de Lente de Contato do Hospital Federal de Bonsucesso durante o período de janeiro a dezembro de 2019, que haviam sido submetidos aos exames de topografia corneana e microscopia especular da córnea anterior ao primeiro teste e adaptação de lente de contato. Foram excluídos os casos com cicatriz corneana, hidropsia, cirurgias oculares prévias, usuários de lente de contato, presença de córnea guttata ou distrofia endotelial de Fuchs.

Foram coletados do prontuário os seguintes dados: sexo, idade, k1 e k2 obtidos pela topografia corneana (Aladdin, Topcon Medical Systems, Inc. Oakland), contagem endotelial e paquimetria da córnea obtidas pela microscopia especular de não contato (Tomey Corporation, Nagoya, Japão). Com esse aparelho de microscopia especular, uma sequência de 15 imagens é capturada automaticamente durante cada medição e até 300 células por imagem são contadas na região de interesse por um processamento automatizado de imagens. A imagem com a mais alta qualidade em termos de contraste e iluminação é automaticamente selecionada pelo instrumento e posteriormente verificado manualmente pelo examinador. Usamos a detecção e contagem celular automatizada implementadas no software do fabricante.

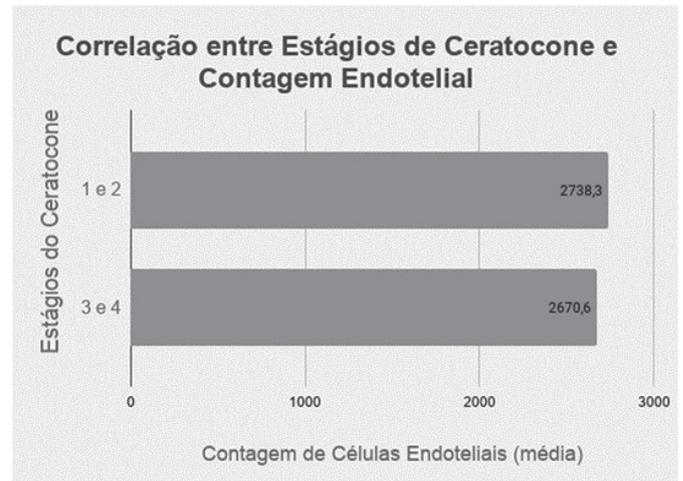


Figura 1: Comparação entre a contagem endotelial (células/mm²)

Os olhos foram classificados nos estágios 1 a 4 de KCN de acordo com a classificação de Amsler-Krumeich utilizando ceratometria obtida pela topografia de córnea e leituras de paquimetria obtidas pela microscopia especular.

As análises estatísticas foram realizadas usando o software SPSS (SPSS version 19.0, IBM, Nova Iorque). As variáveis contínuas foram expressas como média \pm desvio padrão, enquanto as variáveis categóricas foram expressas como frequências e suas porcentagens. O teste t de Student foi utilizado para comparar as variáveis contínuas com distribuição normal entre os estágios 1 e 2 versus grupo avançado (estágios 3 e 4). A correlação entre contagem endotelial e ceratometria média foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Pearson. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADOS

Foram incluídos 93 olhos de 61 pacientes, sendo 46 olhos de pacientes (49,5%) do sexo feminino e 47 olhos de pacientes (51,0%) do sexo masculino. A amostra foi composta por 46 (49,5%) olhos direitos e 47 (51,0%) esquerdos. A idade variou de 12 a 43 anos, média \pm (desvio padrão) 22,1 \pm 6,7 anos.

A ceratometria média variou de 42,25 a 71,4 D, média 53,0 \pm 6,1 D. A paquimetria variou de 350 a 606 μ m, com média de 461,7 \pm 47,1 μ m. Em relação a classificação de Amsler, 23 pacientes (24,7%) apresentavam estágio 1, 24 (25,8%) estágio 2, 5 (6,5%) estágio 3 e 41 pacientes (44,1%) estágio 4.

Não foi observada correlação linear entre ceratometria média e contagem de células endoteliais (Coeficiente de correlação de Pearson = -0,05, $p < 0,05$). Não foi observada correlação entre ceratometria mais curva (k2) com contagem endotelial (Coeficiente de correlação de Pearson : -0,08, $p < 0,05$). Nos estágios iniciais a moderados de ceratocone (estágios 1 e 2), a média da contagem de células endoteliais foi 2738,3 \pm 285,4 cel/mm², enquanto no grupo de ceratocone avançado (estágios 3 e 4) foi 2670,6 \pm 262,7 cel/mm², $p = 0,24$. (Figura 1)

DISCUSSÃO

A microscopia especular é uma técnica não invasiva, de fácil realização, baseada na reflexão do endotélio da córnea, na qual uma parte reflete de forma especular e é captada pelo microscópio

Tabela 1
Comparação entre estudos de contagem endotelial em diferentes estágios de ceratocone usando microscopia especular

	Estudo atual	Uçakhan et al.⁽¹⁴⁾	Niederer et al.⁽¹¹⁾	Timucin et al.⁽⁶⁾	El-Agha et al.⁽¹⁰⁾	Goebels et al.⁽¹³⁾
Tamanho da Amostra com KCN (olhos)	93	48	52	65	90	712
Idade (média) em anos	22	22,8	27,9	20,9	27	38
Classificação Adotada	Asmler-Krumeich estágio 1: 24,7% estágio 2: 25,8% estágio 3: 0,5% estágio 4: 44,1%	Principal Ceratometria Leve(<47D) 10,4% Moderada (47-55D) 35,4% Severa (>55D) 54,2%	Maior Ceratometria Leve(<45D) / Moderada (45-52D): 40,3% Severa (>52D) 61,5%	Maior Ceratometria Leve(<45D) 29,2% Moderada (45-52D):: 32,3% Severa (>52D): 38,4%	Asmler-Krumeich Estágio 1: 27,5% Estágio 2: 42,5% Estágio 3: 30% Não captada Estágio 4	Amsler-Krumeich Estágio 0 23,7% Estágio 1: 13,2% Estágio 2: 28,9% Estágio 3: 23,3% Estágio 4: 10,8%
Contagem Endotelial (média) células/mm ² de Acordo com o Estágio	Iniciais a Moderados: 2738,3 Severo (estágios 3 e 4): 2670,6	Não Mencionado	Leve/ Moderado: 2510,6 Severo: 2345,5	Leve: 2759 Moderado: 2747 Severo: 2698	Estágio 1: 2404,5 Estágio 2: 2455,4 Estágio 3: 2214,8	Estágio 0: 2611 Estágio 1: 2624 Estágio 2: 2557 Estágio 3: 2487 Estágio 4: 2401
Conclusão	Não foi encontrada relação entre estágios de KCN e CE	Diferença significativa na CE quando comparado KCN severo com KCN leve a moderado (p<0,05)	Não houve diferença significativa na CE entre estágios de KCN	Não houve diferença significativa na CE entre estágios de KCN	Não houve diferença significativa na CE entre estágios de KCN	Diferença significativa na CE, com estágio 3 com menor CE (p<0,05)

KCN = ceratocone; CE= contagem endotelial

especular, que apresenta uma imagem endotelial magnificada por um conjunto eletrônico.⁽⁵⁾

Durante a vida do indivíduo, há um declínio natural da densidade endotelial, que pode ser potencializada por doenças na córnea.⁽⁵⁾ Pode-se observar que a idade média do grupo estudado foi de 22 anos, o que é compatível com faixa de idade de maior prevalência de ceratocone e é uma idade associada a boa reserva de células endoteliais.^(1,5) A amostra foi dividida em estágios de acordo com a Classificação de Asmler-Krumeich e buscou-se relacionar a densidade endotelial com diferentes estágios do KCN.

Poucos estudos na literatura visaram comparar as mudanças endoteliais em diferentes estágios de ceratocone e eles obtiveram resultados conflitantes.⁽¹⁰⁻¹⁴⁾ Caso ficasse comprovado na literatura que há uma correlação entre anormalidade endotelial em pacientes com KCN e o estágio do KCN, isso poderia afetar os critérios de seleção para o transplante penetrante ou lamelar anterior.

Nesse estudo não foi encontrada correlação entre densidade endotelial e o estágio do KCN, corroborando os achados de estudo prévio que avaliou 40 olhos de 29 pacientes egípcios e encontrou média de 2404 ± 345 cel/mm² no estágio 1, 2455 ± 331 cel/mm² no estágio 2 e 2214 ± 748 cel/mm² no estágio 3, coeficiente

de correlação 0,018, p=0,9.⁽¹⁰⁾

Da mesma forma, o estudo de Niederer et al., utilizando microscopia confocal, também não encontrou diferença significativa entre estágio do KCN e a contagem endotelial reportando contagem de 2510,6 ± 334,4 cel/mm² nos estágios leve e moderado (1 e 2) e de 2345,5 ± 331,8 cel/mm² nos estágios avançados (com k>52D), p = 0,09.⁽¹¹⁾

Timucin et al. reportaram que as alterações observadas na contagem endotelial em KCN não dependiam da paquimetria central e não apresentavam correlação com os estágios do KCN.⁽⁶⁾

Ostadi-Moghaddam et al. realizaram um estudo para avaliar a microscopia especular nos olhos contralaterais de pacientes com estrias de Vogt e não encontraram diferença significativa.⁽¹²⁾ Por outro lado, o estudo conduzido por Goebels et al. com 712 pacientes, cuja média de idade foi de 38 anos, reportou uma contagem endotelial significativamente menor em estágios mais avançados de KCN, sendo 2624 ± 300 cel/mm² no estágio 1 e 2401 ± 464 cel/mm² no estágio 4 (p<0,01).⁽¹³⁾ Cabe ressaltar que a maioria dos pacientes incluídos no estudo eram usuários de lentes de contato. Como casos mais avançados de KCN podem estar associados ao uso de lente de contato prolongado e durante

mais tempo ao longo da vida e isso pode acarretar alterações endoteliais, a inclusão de pacientes usuários de lente de contato pode ter influenciado o resultado. No entanto, mesmo avaliando apenas o subgrupo sem histórico atual de uso de lente de contato, a diferença na densidade endotelial entre os estágios 1 e 4 de KCN continuou significativa.⁽¹³⁾

A avaliação da contagem endotelial de córneas com KCN através de diferentes dispositivos evidenciou resultados conflitantes em diferentes estudos, o que pode ser resultado das diversas formas de captação dos dados. A tabela 1 mostra a comparação entre artigos já publicados com este atual estudo.

Houve como limitação à abrangência desta análise a não captação da imagem pela microscopia especular em córneas muito curvas e/ou muito finas. Isso ocorre, pois a área da superfície especular é dependente da curvatura da superfície refletora. Quanto mais curva a córnea, menor a imagem obtida pelos aparelhos de microscopia especular. Há uma restrição adicional na área do reflexo da luz causada pela proximidade das 2 superfícies concêntricas (isto é, epitélio e endotélio). A superfície epitelial é altamente reflexiva devido à grande diferença do índice de refração entre o ar e o epitélio. Como o raio de luz passa pela córnea, é refletida na interface do epitélio e na interface endotelial. A área especular visível é dada por essa relação entre a largura do feixe e a espessura da córnea. Por causa dessa restrição, a área viável do endotélio é um retângulo, e o raio da curvatura da córnea domina a altura do retângulo.⁽⁵⁾ Portanto, córneas muito curvas e muito finas podem diminuir a confiabilidade do exame por reduzir a área visível do reflexo especular ou até mesmo inviabilizar a captação de sua imagem.

Por ser um estudo de revisão de prontuários, não tivemos acesso a todos os dados do exame de microscopia especular, como a fotografia do mosaico endotelial e outros índices importantes que não são anotados de rotina em todos os prontuários no nosso serviço, como o coeficiente de variação, a percentagem de células hexagonais e a área celular média.

CONCLUSÃO

O uso da microscopia especular é importante no acompanhamento de pacientes com ceratocone. Mesmo com a evidência de que não há correlação direta entre estágios de classificação da doença e contagem endotelial, percebida neste trabalho, sua avaliação é útil tanto em acompanhamento quanto em planejamentos cirúrgicos.

REFERÊNCIAS

1. Mas Tur V, MacGregor C, Jayaswal R, O'Brart D, Maycock N. A review of keratoconus: Diagnosis, pathophysiology, and genetics. *Surv Ophthalmol.* 2017;62(6):770–83.
2. Daniel A, Godefrooij, G Ardine de Wit, Cuno S Uiterwaal, Saskia M Imhof, Robert P L Wisse. Age-specific Incidence and Prevalence of Keratoconus: A Nationwide Registration Study. *Am J Ophthalmol.* 2017;175:169–72.
3. Piñero DP, Nieto JC, Lopez-Miguel A. Characterization of corneal structure in keratoconus. *J Cataract Refract Surg.* 2012;38(12):2167–83.
4. Hollingsworth JG, Efron N. Observations of banding patterns (Vogt striae) in keratoconus: a confocal microscopy study. *Cornea.* 2005;24(2):162–6.
5. McCarey BE, Edelhauser HF, Lynn MJ. Review of corneal endothelial specular microscopy for FDA clinical trials of refractive procedures, surgical devices, and new intraocular drugs and solutions. *Cornea.* 2008;27(1):1–16.
6. Timucin OB, Karadag MF, Cinal A, Asker M, Asker S, Timucin D. Assessment of corneal endothelial cell density in patients with keratoconus not using contact lenses. *Cont Lens Anterior Eye.* 2013;36(2):80–5.
7. Razmjoo H, Ghoreishi SM, Mohammadi Z, Salam H, Nasrollahi K, Peyman A. Comparison of the findings of endothelial specular microscopy before and after corneal cross-linking. *Adv Biomed Res.* 2015;4:52.
8. Badaro RM, Trindade FC. Ceratocone associado à distrofia endotelial de Fuchs: relato de um caso. *Arq Bras Oftalmol.* 1995;58(3):182–5.
9. Mylona I, Tsinopoulos I, Ziakas N. Comorbidity of Keratoconus and Fuchs' corneal endothelial dystrophy: a review of the literature. *Ophthalmic Res.* 2020;63(4):369–74.
10. El-Agha MS, El Sayed YM, Harhara RM, Essam HM. Correlation of corneal endothelial changes with different stages of keratoconus. *Cornea.* 2014;33(7):707–11.
11. Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee CN. *Cont Lens Anterior Eye.* 2013;36:80–85. Laser scanning in vivo confocal microscopy reveals reduced innervation and reduction in cell density in all layers of the keratoconic cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(7):2964–70.
12. Ostadi-Moghaddam H, Sedaghat MR, Rakhshandadi T, Rajabi S, Narooie-Noori F, Askarizadeh F. A contralateral eye study comparing characteristics of corneal endothelial cells in bilateral keratoconus patients with unilateral corneal Vogt's striae. *J Curr Ophthalmol.* 2018;30(3):228–33.
13. Goebels S, Eppig T, Seitz B, Szentmáry N, Cayless A, Langenbucher A. Endothelial alterations in 712 keratoconus patients. *Acta Ophthalmol.* 2018;96(2):e134–9.
14. Uçakhan OO, Kanpolat A, Yılmaz N, Ozkan M. In vivo confocal microscopy findings in keratoconus. *Eye Contact Lens.* 2006;32(4):183–91.

Autor correspondente:

Beatriz de Abreu Fiuza Gomes
e-mail: beatriz.exopina@gmail.com