

# Contagem eletrônica das células endoteliais da córnea

## Uma adaptação nacional simplificada e de baixo custo

Walter Turra Bocchese \* & Dairton Miranda \*\*

A estimativa da densidade das células endoteliais corneanas faz-se necessária em várias situações clínicas como um método de avaliação da viabilidade de córneas doadoras ou, em casos experimentais, onde são estudados os efeitos de certos procedimentos ou uso de substâncias nocivas ao endotélio.

Essa mesma estimativa pode ser realizada basicamente em duas formas: dentro de uma área previamente estabelecida, ou através de uma área variável. Na primeira, delimitamos uma área de dimensões conhecidas e contamos todas as células nela contidas, com exceção das que tocam dois lados perpendiculares do retângulo (por exemplo: o lado inferior e lateral direito). Isso é feito para evitar a possibilidade de se superestimar a densidade endotelial, através do seu efeito de borda ("edge effect"), estudo inicialmente por Gundersen em 1977 (2). Após a contagem, divide-se o número de células obtidas pela área conhecida, conseguindo-se assim a densidade endotelial. Na segunda, ao contrário de pré-estabelecer uma área, vamos incluir um maior número possível de células cujos bordos estejam nítidos em nosso campo de observação, calculando-se então, a seguir, a área que estas ocupam, o que pode ser feito ainda por diversos métodos (5).

A análise endotelial por área pré-estabelecida mostraria uma imagem mais fidedigna da densidade endotelial da córnea (4), pois o método de análise por área variável tenderia a subestimar a população endotelial, especialmente em amostras pequenas, como é o caso das fotografias obtidas por microscópio especular.

Aliado a este fato, a análise por área variável utiliza-se de equipamentos mais dispendiosos, sendo mais trabalhosa e necessitando de pessoal técnico especializado.

A análise endotelial por área fixa ou pré-estabelecida seria, além de mais acurada, mais barata e rápida, de procedimento mais simples e, portanto, mais acessível a um número maior de pesquisadores.

O procedimento de contagem manual do número de células, dependendo de uma menor magnificação da fotografia e, portanto, de um maior número de células englobadas,

torna-se cansativo, moroso e sujeito a erros freqüentes. Por outro lado, se ampliamos a fotografia, diminuimos o número de células, correndo o risco de tornar a amostra menos representativa do endotélio corneano, trazendo a necessidade de um maior número de fotografias.

Procuramos então um aparelho que facilitasse a contagem desse grande número de células que se apresenta, principalmente em situações de pequeno aumento. Assim, na inexistência de aparato nacional disponível adaptamos no projeto técnico, com a colaboração da Trinduz Eletrônica \*, um aparelho simples para a contagem endotelial, baseados em uma descrição semelhante de Alanko e Airaknensen (1), procurando adaptar aos materiais disponíveis no parque nacional e de baixo custo.

Utilizamo-nos de uma calculadora de memória permanente, sem constante, e de baixo consumo (uso de duas pilhas pequenas de vida média de 1 ano), um fio condutor duplo flexível, uma caneta "hidrocor", um micro interruptor e um tubo de alumínio (Figura A).

O fio foi conectado no módulo padrão da calculadora e a um micro-interruptor que se adapta em lugar da tampa da carga da caneta. Na base do interruptor há uma rosca, na qual é finalmente enroscado um tubo de alumínio (manguito) que envolve a caneta e lhe dá o suporte. Isso possibilita, além do seu baixo custo, a troca por diferentes cores, permitindo marcar diferentes tipos de células (lesadas, não lesadas etc.). A cada leve toque da caneta sobre a célula, corresponde a um impulso que vai adicioná-la no visor da calculadora.

O procedimento de contagem é o seguinte:

1. Ligar a calculadora (tecla ON) e limpar a memória (tecla MC).
2. Introduzir a área do retângulo em  $\text{mm}^2$  de tecido fotografado a ser contatado (teclar a área no visor e após M+, 0 (zero), +, 1 (um)).
3. Inicie a marcação com a caneta, sempre verificando, nesta etapa, se no toque da

\* TRINDUZ INDÚSTRIA ELETRÔNICA — Rua Olavo Bilac, 332 — 95.100 — Caxias do Sul — RS.

\* Pós Graduando do Curso de Doutorado em Oftalmologia da UFMG — Hospital São Geraldo.

\*\* Professor Adjunto do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da UFMG. Chefe do Serviço de Patologia Ocular da Clínica Oftalmológica da UFMG (Hospital São Geraldo) e do Instituto Hilton Rocha



Fig. A: (1) Máquina calculadora; (2) Micro-interruptor com cabo conectado a este e à rosca onde vai ser enrolcado o manguito (4); (3) Caneta "hidrocor" que se adapta no interior do manguito, ajustada em contato com o interruptor.

caneta o visor aumenta a contagem. Caso contrário, reinicie no item 1.

4. Terminada a contagem, diminua uma unidade pela célula que não foi contatada ao se entrar 1 no visor para se iniciar a operação; teclar  $\div$ , MR,  $=$ , e o visor apresentará o número de células contadas por  $\text{mm}^2$ .

O procedimento de contagem pode ser realizado em fotografias, slides projetados na parede, ou numa tela de ampliação.

Quando não em operação, a calculadora pode ser utilizada para outras finalidades, sem alteração de suas funções.

O método descrito acima é de baixo custo, não cansativo e pode ser usado para contagem de células de outros tipos de tecidos ou outras finalidades que necessitem de contagem numérica com controle visual simultâneo.

#### RESUMO

Baseando-se em descrição original anterior foi feita uma adaptação destinada a facilitar a contagem de células endoteliais da córnea em preparação plana, utilizando materiais mais baratos e facilmente disponíveis em nosso país. Foi usada basicamente uma máquina

calculadora aritmética simples, um micro-interruptor e uma caneta 'hidrocor'. O aparelho pode ser utilizado também em qualquer outro procedimento que necessite de contagem numérica com controle visual.

#### SUMMARY

Based on a previous original description we adapted a device to facilitate the corneal endothelial cells counting, utilizing cheaper materials and easily found in our country. Basically made out of a simple arithmetic calculator, a microinterruptor and a soft point pen. It can also be used for any other counting procedure that needs numerical counting with visual control.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ALANKO, H. I. & AIRAKNENSEN, J. P. — A counter for fixed frame endothelial analysis. *Am. J. Ophthalmol.* 91: 401-3, 1981.
2. GUNDERSEN, H. J. G. — Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles. The edge effect. *J. Microsc.* 111: 219-23, 1977.
3. HOOVER, G. S. & McAULIFFE, K. M. — A system for counting endothelial cells from transparencies and negatives. *Am. J. Ophthalmol.* 88: 260-1, 1979.
4. OLSEN, T. — Sampling problems associated with quantitative morphometry of endothelial cells. *Acta Ophthalmol.* 58: 654-61, 1981.
5. WARING, G. O. et al. — Four methods of measuring human corneal endothelial cells from specular photomicrographs. *Arch. Ophthalmol.* 98: 838-55, 1980