

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**USO DE ADESIVO DE CIANOACRILATO PARA A  
FIXAÇÃO DE BOTÃO CORNEAL AUTÓGENO OU  
ALÓGENO CONSERVADO EM GLICERINA A 98% NA  
CERATOPLASTIA PENETRANTE EM COELHOS.**

**TESE DE DOUTORADO**

**Fabício de Vargas Arigony Braga**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2007**

**USO DE ADESIVO DE CIANOACRILATO PARA A  
FIXAÇÃO DE BOTÃO CORNEAL AUTÓGENO OU  
ALÓGENO CONSERVADO EM GLICERINA A 98% NA  
CERATOPLASTIA PENETRANTE EM COELHOS.**

**por:**

**Fabício de Vargas Arigony Braga**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Medicina Veterinária.**

**Orientador: Prof. Dr. Ney Luis Pippi**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2007**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Tese de Doutorado

**USO DE ADESIVO DE CIANOACRILATO PARA A FIXAÇÃO DE  
BOTÃO CORNEAL AUTÓGENO OU ALÓGENO CONSERVADO EM  
GLICERINA A 98% NA CERATOPLASTIA  
PENETRANTE EM COELHOS.**

elaborada por  
**Fabício de Vargas Arigony Braga**

Como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Medicina Veterinária**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**Ney Luis Pippi, Phd. (UFSM)  
(Presidente/Orientador)**

**Alexandre Mazzanti, Dr. (UFSM)**

**Álvaro Rossi, Dr. (UFSM)**

**João Antônio Tadeu Pigatto, Dr. (UFRGS)**

**Antônio de Pádua Ferreira da Silva Filho, Dr. (UFRGS)**

Santa Maria, 02 de novembro de 2007.

## **Dedicatória**

À minha família.  
Sem vocês não teria  
chegado até aqui.  
Obrigado.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proporcionar a família que tenho. A eles, por terem me ensinado e ainda estarem ensinando.

Ao Dr. Ney Pippi. Mostrou-me os caminhos da oftalmologia. Por eles tracei minha carreira. E, assim, só tenho a agradecer a pessoa ímpar que és. Obrigado!

À Paula por me aguentar nestes dias. Que possamos conviver por muitos anos felizes sem os estresses de uma defesa de doutorado!

Às minhas estagiárias Deise (agora Dra. Deise) e Paula. Obrigado pela dedicação de vocês com os pacientes de nosso trabalho.

A minha equipe de trabalho, Dra. Josaine Rappeti, Dr. Guilherme Tognoli e Dr. Eduardo Bastos. Obrigado pelas horas de dedicação e pela seriedade despendida.

Ao Dr. Álvaro Rossi, pela forma com que prontamente se disponibilizou à participação neste experimento, acrescentando dados de inestimável valor.

Ao Dr. João Tadeu Pigatto, que me recebeu na UFRGS, orientando e conduzindo as avaliações de microscopia eletrônica por varredura. Quando achei que estava perdido, este profissional conduziu-me de forma fantástica pelos caminhos daquelas avaliações. Também a sua mestranda, Dra. Carol pela ajuda no processamento das amostras.

Ao pessoal incrível do Biotério: Silvandro, Darci e Elton. Estes profissionais tornaram possível a realização deste trabalho criando, mantendo e promovendo meios para que os obstáculos sempre fossem superados.

À Elaine, que sacrificou dias de folga em prol de realizar os exames de Ceratografia computadorizada. É, Elaine...e em coelhos...!

Às enfermeiras de nosso Bloco de Cirurgia Experimental Nelci e Anita. Quando eu precisei de vocês, vocês me corresponderam. Obrigado!

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Laboratório de Cirurgia Experimental, pela oportunidade de realizar mais uma etapa.

À 3M do Brasil, pelo fornecimento da Vetbond.

A todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para o meu crescimento.

E finalmente, porém não menos importante, aos animais.

## **RESUMO**

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

### **USO DE ADESIVO DE CIANOACRILATO PARA A FIXAÇÃO DE BOTÃO CORNEAL AUTÓGENO OU ALÓGENO CONSERVADO EM GLICERINA A 98% NA CERATOPLASTIA PENETRANTE EM COELHOS.**

AUTOR: FABRÍCIO DE VARGAS ARIGONY BRAGA  
ORIENTADOR: NEY LUIS PIPPI  
Local e Data da Defesa: Santa Maria, 02 de novembro de 2007.

A procura de alternativas para a fixação dos enxertos utilizados em defeitos corneais é realizada de forma incessante. Os cianoacrilatos são monômeros líquidos que em contato com a umidade polimerizam-se e solidificam-se rapidamente ocasionando a adesão nos tecidos. São utilizados em diversas situações clínicas na oftalmologia humana e veterinária. O presente trabalho teve como objetivo, avaliar o uso de um adesivo a base de n-butil cianoacrilato na fixação e manutenção de botões corneais autógenos e alógenos na ceratoplastia penetrante. Para tanto foram usados 16 coelhos divididos em dois grupos: O grupo I – adesivo (GI – 8 animais) e grupo II – sutura (GII – 8 animais). No GI, foi realizada, no olho esquerdo, uma ceratoplastia penetrante de 5 mm utilizando-se córnea alógena conservada em glicerina de 6 mm de diâmetro e fixando-a com 4 pontos isolados simples e adesivo de cianoacrilato sobre as bordas. No olho direito também foi realizada uma ceratoplastia penetrante, porém de 4 mm de diâmetro utilizando-se o botão que foi removido da córnea esquerda (5 mm) com o mesmo método de fixação. No GII procedimentos semelhantes foram realizados, porém, a fixação dos botões constou de 8 pontos isolados simples. Avaliações oftálmicas pós-operatórias (PO) foram realizadas. Aos 0 (antes dos procedimentos) 60 e 90 dias PO foram realizadas a videoceratoscopia computadorizada e a paquimetria ultra-sônica. Ao final do período de avaliação, as córneas foram avaliadas à microscopia eletrônica por varredura. Foi verificada a integração de ambos os transplantes em ambos os grupos. Houve um maior grau de astigmatismo visto nos transplantes autógenos do GI e, neste grupo a densidade endotelial foi menor. À paquimetria, foi verificada a diminuição da espessura conforme aumentavam os tempos. Em todos os animais houve a completa progressão do endotélio corneal sobre o aloimplante. Conclui-se que o adesivo de cianoacrilato pode ser usado como método de fixação de autotransplantes bem como alotransplantes de córnea em coelhos.

Palavras-chaves: cola; implante; enxerto; transplante; medicina veterinária

## **ABSTRACT**

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

### **THE USE OF CYANOACRYLATE ADHESIVE FOR FIXATION OF CORNEAL AUTO E ALOIMPLANTS PRESERVED IN 98% GLYCERIN IN THE PENETRATING KERATOPLASTY IN RABBITS**

AUTHOR: FABRÍCIO DE VARGAS ARIGONY BRAGA  
ADVISER: NEY LUIS PIPPI

Date and place: Santa Maria, Brazil, november, 2<sup>th</sup> , 2007.

The present research had the objective to evaluate the use of an n-butyl cyanoacrylate in the fixation and maintenance of corneal autografts and aloimplants in the penetrating keratoplasty. There were used eight adult rabbits divided in two groups: the group I – adhesive (GI – 4 animals) and group II – suture (GII – 4 animals). In the GI, performed in the left eye, a penetrating keratoplasty with 5 mm in diameter received a 6 mm in diameter alogenous corneal button preserved in glycerin 98%, fixed with 4 simple interrupted stitches and with cyanoacrylate adhesive. In the right eye, the same procedure were done, but with a 4 mm in diameter defect with corneal left button that was removed (5 mm). In the GII, a similar procedure were done, but the corneal buttons were fixed with 8 simple interrupted stitches with mononylon 10-0. The pos-operative (PO) ophthalmic evaluation were used the computer videoceratotomy, ultrasound pachimetry and scanning electronic microscopy. It was verified the integration of both transplants in both grafts. A bigger astigmatism grade were observed in the autotransplants from GI, and also with a lesser endothelial density. The pachimetry, were verified the decrease of the corneal thickness as the time elapsed. In all animals it was noted a complete endothelial progressive over the grafst and implants. It was concluded that the cyanoacrylate adhesive can be used as a fixative method in corneal autotransplants and also in corneal alografts in rabbits.

Keywords: glue; implant; graft; transplant; veterinary medicine

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\mu\text{m}$  - micrômetro

$\mu\text{m}^2$  - micrômetro quadrado

ACI – astigmatismo cirurgicamente induzido

cm – centímetro

et al. – e outros

GI – grupo I – grupo em que o botão lamelar foi fixado com adesivo

GII – grupo II – grupo em que o botão lamelar foi fixado somente com pontos

h – hora

IM – intramuscular

IV – intravenoso

kg – quilograma

Kv – quilovolt

M – molar

mg – miligrama

$\text{mg}/\text{kg}^{-1}$  – miligrama por quilograma

min – minuto

ml – mililitro

mm – milímetro



mm<sup>2</sup> – milímetro quadrado

n<sup>o</sup> – número

OD – olho direito

OE – olho esquerdo

pH – potencial hidrogeniônico

PO – pós-operatório

PU – paquimetria ultra-sônica

PVPI – polivinilpirrolidona iodo

UFSM – Universidade Federal de Santa Maria

VCC – videoceratoscopia computadorizada

## LISTA DE SÍMBOLOS

% - percentual

° - graus

+ - leve

++ - moderado

+++ - severo

& - e

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>09</b>
<b>1.1 Anatomia.....</b>	<b>09</b>
<b>1.2 Ceratoplastia ou transplante de córnea.....</b>	<b>10</b>
1.2.1 Indicações.....	12
1.2.2 Materiais alternativos.....	13
<b>1.3 Meios de conservação.....</b>	<b>14</b>
<b>1.4 Adesivos teciduais.....</b>	<b>16</b>
<b>1.5 Videoceratoscopia computadorizada.....</b>	<b>19</b>
<b>1.6 Endotélio e a espessura corneal.....</b>	<b>21</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>24</b>
<b>2.1 Geral.....</b>	<b>24</b>
<b>2.2 Específicos.....</b>	<b>24</b>
<b>3 ARTIGOS CIENTÍFICOS.....</b>	<b>25</b>
3.1 USO DE ADESIVO DE CIANOACRILATO PARA A FIXAÇÃO DE BOTÃO CORNEAL AUTÓGENO OU ALÓGENO NA CERATOPLASTIA PENETRANTE EM COELHOS.....	24
3.2 - USO DO AUTO E ALOIMPLANTE DE CÓRNEA CONSERVADO EM GLICERINA A 98% NA CERATOPLASTIA PENETRANTE EM COELHOS.....	40
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>55</b>
<b>5 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>56</b>

# 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

## 1.1 Anatomia

A córnea pode ser amplamente descrita como servindo a dois papéis importantes: um mecânico e um óptico. Sua função mecânica em conjunto com a esclera é manter a integridade física do olho. Sua função óptica é permitir a passagem da luz até a retina e atuar na função de foco. Os procedimentos cirúrgicos são quase sempre no sentido de preservar ou restaurar uma destas funções (HERRING, 2003).

Segundo SLATTER (2005), a córnea é composta por cinco camadas, sejam elas: o filme lacrimal pré-corneal, o epitélio e sua membrana basal, o estroma, a membrana de Descemet e o endotélio.

O epitélio corneal é estratificado, não-ceratinizado e com espessura variável. Possui pequenas projeções vilosas que ancoram a camada mucóide profunda do filme lacrimal. O estroma constitui aproximadamente 90% da espessura total e as fibrilas colágenas tipo 1 desta camada, formam lamelas paralelas de organização precisa e regular (BANKS, 1991; FEATHERSTONE et al., 2001; SLATTER, 2005).

Em condições de saúde, a transparência característica da córnea é mantida pela cobertura com o filme lacrimal, por seu epitélio não-ceratinizado, pela ausência de vascularização e pigmentação, pela forma com que são organizadas as camadas do estroma e por sua relativa desidratação, que é mantida tanto pelo endotélio quanto pelo epitélio (BANKS, 1991; GELLAT, 2003; MORREALE, 2003).

Durante a cicatrização estromal normal, colágeno tipo 3 é depositado e arranjado de uma forma menos regular, resultando em cicatriz e possível prejuízo a visão (FEATHERSTONE et al., 2001).

Finalmente, o endotélio é uma camada única de células localizada na porção mais interna da córnea, em contato com o humor aquoso, separando este do estroma corneal, que é extremamente hidrofílico. A membrana de Descemet é a membrana basal do endotélio e é secretada por este (SLATTER, 2005; RODRIGUES et al., 2006)

## 1.2 Ceratoplastia ou transplante de córnea

A ceratoplastia é utilizada na substituição da córnea enferma. Existem basicamente dois tipos de transplantes de córnea: os transplantes lamelares, nos quais existe a substituição parcial de sua espessura, e os transplantes de espessura total, também conhecidos como penetrantes nos quais o tecido afetado é removido em toda a sua espessura e substituído por um “botão” doador, com as mesmas características, porém sadio, revestido com endotélio viável (ACEDO, 1992; SLATTER; HAKANSON, 1996).

Segundo KING Jr. (1957) a ceratoplastia é freqüentemente empregada em condições que diminuam ou impeçam a visão e seus resultados visuais são, frequentemente, dramáticos. Ainda segundo este autor, a técnica é precisa e demanda experiência e precisão por parte do cirurgião.

A ceratoplastia lamelar pode ser realizada principalmente com efeito óptico ou tectônico. O reparo de pequenas perfurações ou de úlceras não perfuradas, sua aplicação em degenerações corneais e a restauração da espessura corneal são algumas das indicações desta técnica (WILKIE; WHITTAKER, 1997). COOK e PEIFFER Jr. (1985) ainda citam como uma indicação importante os casos onde a ceratectomia profunda no eixo visual é necessária, prevenindo-se assim uma opacificação pós-operatória significativa.

O transplante de córnea é o mais antigo, mais comum e, com certeza, o procedimento de maior sucesso entre os transplantes de tecidos. Devido ao privilégio imunológico da câmara anterior, a taxa de reações relacionadas à rejeição é notadamente menor que reações ao enxerto após o transplante cardíaco e renal (JONAS et al., 2002).

O primeiro oftalmologista a sugerir a possibilidade de substituir a córnea opaca por um material transparente (lâmina de cristal), foi Pellier De Quensgsy, em 1789 na França. Ainda em 1796, Erasmus Darwin, sugeriu que a remoção da porção opaca da córnea daria lugar a formação de uma cicatriz transparente. Entretanto, o transplante de córnea não aconteceu até o século 19, quando Himly, em 1813 concebeu a idéia da substituição da córnea enferma de um animal por uma transparente e seu pupilo, Frans Reisinger, em 1818, realizou este procedimento.

Reisinger também cunhou o termo ceratoplastia para os procedimentos de transplante corneal e, em 1824, sugeriu que as córneas de animais talvez pudessem ser usadas em humanos. Esta idéia, talvez muito avançada para a época, foi considerada como “uma das mais audaciosas fantasias” (FORSTOT; KAUFMAN, 1977; ACEDO, 1992).

No ano de 1837, Bigger realizou o primeiro alotransplante animal utilizando coelhos e, em 1844 Kissan relatou o primeiro transplante em humanos, utilizando córnea suína como doadora, porém, com resultados insatisfatórios. Devido as dificuldades encontradas na época, von Hippel sugeriu que fossem utilizados apenas os transplantes das camadas anteriores da córnea, a ceratoplastia lamelar. Este pesquisador, em 1888 publicou o uso do trépano e algumas outras técnicas que são usadas até hoje nas ceratoplastias (FORSTOT; KAUFMAN, 1977; ACEDO, 1992).

Embora muitos procedimentos tenham sido relatados, apenas no século vinte, em 1906, Zirm publicou um caso de ceratoplastia penetrante em que houve sucesso. Após a enucleação de um olho de um garoto de 11 anos, ele realizou o transplante em um homem cuja córnea apresentava uma cicatriz devido a uma queimadura (FORSTOT; KAUFMAN, 1977; ACEDO, 1992).

Dentre as complicações deste procedimento, a reação imunológica ao enxerto corneal continua sendo a complicação pós-operatória mais importante (JONAS et al., 2002), porém, as incompatibilidades biológicas não foram relacionadas aos xenoenxertos até 1911, com um artigo publicado por Magitot. Este autor recomendou o uso de aloenxertos nas ceratoplastias (FORSTOT; KAUFMAN, 1977).

Após estas publicações, entre outras, foram introduzidos métodos de preservação (Szymanowsky em 1913) e os olhos de cadáveres começaram a ser empregados amplamente. Em 1945, Filatov publicou uma série de 842 ceratoplastias utilizando olhos de cadáveres. Também convém destacar o trabalho de Castroviejo que, desde 1931, empregava animais em seus experimentos. Este autor utilizava, primeiramente, córneas saudáveis, depois córneas opacas e, finalmente, passava para a espécie humana, acrescentando grande contribuição para o desenvolvimento da ceratoplastia (FORSTOT; KAUFMAN, 1977; ACEDO, 1992).

No Brasil, o pioneiro na realização da ceratoplastia em pessoas foi o Dr. Hilton Rocha, no ano de 1962 (ROCHA, 1962). Já em Medicina Veterinária, o primeiro pesquisador a utilizar este procedimento em cães foi o Dr. Walter Bernis, em Belo

Horizonte, já na década de 1960 (BERNIS, 1960/1).

A utilização da ceratoplastia na rotina cirúrgica ainda está longe da realidade da maioria das clínicas veterinárias no Brasil. Apesar dos avanços na pesquisa e no treinamento de pessoal capacitado para sua realização, o grande fator limitante ainda são os custos do instrumental e, principalmente, dos aparelhos de magnificação. O desenvolvimento de alternativas que minimizem os custos pode acelerar a popularização do uso destas técnicas, o que irá contribuir para a recuperação de algumas centenas de olhos em todo o país (GONÇALVES, 2000).

### **1.2.1 Indicações**

De forma geral, o transplante de córnea está indicado para melhorar a visão, aliviar a dor, manter a integridade estrutural do olho e ocasionalmente para deter ou controlar processos infecciosos (LANGSTON, 1993).

Tanto para humanos quanto para animais, as indicações para a realização de uma ceratoplastia penetrante são semelhantes: úlceras corneais profundas, descemetoceloses, abscessos estromais, perfurações corneais, distrofias endoteliais, neoplasias e opacidades severas no eixo visual (ACEDO, 1991; HACKER, 1991; WILKIE; WHITTAKER, 1997; van der WOERDT et al., 1998; ANDREW, 1999; LASSALINE et al., 2002). Estas indicações podem ser agrupadas em cinco grandes classificações: ópticas (devolvem a transparência e regularidade da córnea), tectônicas (promovem a reconstituição do bulbo do olho), terapêuticas (realizadas para a remoção de infecções ou em distrofias), estéticas (atuam no melhoramento do aspecto visual, mas sem melhorias à visão) e reparadoras (com a função de preparar o olho para futuros transplantes – mais utilizadas em medicina humana) (ACEDO, 1991; WILKIE; WHITTAKER, 1997).

Dentro das indicações citadas, a ceratite ulcerativa ocupa grande destaque sendo uma doença ocular comum que é potencialmente séria, quando a visão e o bulbo do olho por si próprio são atingidos (FEATHERSTONE et al., 2001).

Após a revisão de 92 transplantes de córneas consecutivos por motivos relacionados à ceratite infecciosa em grau severo, TI et al. (2007) concluíram que, embora o tratamento inicial desta afecção continue sendo a terapia antimicrobiana agressiva, o papel da intervenção cirúrgica oportuna na forma de ceratoplastia terapêutica deve ser considerado. O momento da cirurgia é crítico para que

resultados terapêuticos satisfatórios sejam obtidos. Os autores acreditam que quanto antes o procedimento for realizado, melhor, levando em consideração que intervenções mais tardias com a infecção tendo atingido a esclera ou lente podem resultar em resultados insatisfatórios.

### **1.2.2 Materiais alternativos**

A literatura apresenta vasta quantidade de tratamentos disponíveis para as ulcerações corneais. As condutas terapêuticas fundamentam-se no alívio dos sinais clínicos e, sobretudo, na profilaxia de descemetoceloses e perfurações totais da córnea (LAUS et al., 2000). Para a escolha do tratamento, devem-se observar as causas e o estágio das ulcerações. Os tratamentos medicamentosos podem ser implementados isoladamente (SLATTER; HAKANSON, 1998) ou concomitante a alguns procedimentos cirúrgicos como tarsorrafias (NASSISE, 1985) e flapes de terceira pálpebra (HELPER; BLOGG, 1983) em ulcerações superficiais. Podem também ser auxiliares no tratamento de úlceras profundas onde o objetivo é o suporte mecânico e o cessamento da destruição corneana (SEVERIN, 1976). Neste caso, os procedimentos cirúrgicos são imperativos, onde se aplicam a sutura direta de defeitos corneais (SEVERIN, 1976; GIONFRIDO; POWELL, 2006), enxertos livres (MORALES et al., 1996) e pediculados de conjuntiva (HAKANSON; MERIDETH, 1987), uso de membranas sintéticas (PIPPI; SAMPAIO, 1990), enxertos corneais autógenos (BRIGHTMAN et al., 1989; LAUS et al., 1996) e conservados (GONÇALVES, 2000).

As técnicas que utilizam enxerto corneal com resultados tectônicos fornecem pronto acesso aos materiais para enxertia, restauração da espessura corneal e resultado visual aceitável. A principal vantagem destas técnicas está na fácil disponibilidade de material para preencher e reforçar o defeito estromal. Se somente os resultados terapêuticos são considerados, estas técnicas são seguras e resultam em rápida cicatrização. Já se os resultados esperados são tectônicos e ópticos, pode ser que muitas delas não cumpram ambas as funções (HANSEN; GUANDALINI, 1999).

GALERA et al. (2000) utilizaram a túnica vaginal autógena na ceratoplastia lamelar em cães. Os autores relataram a ocorrência de baixo grau de opacidade e pigmentação próximo à área de enxertia.



O uso de uma preparação comercial da submucosa do intestino delgado de suínos em gatos afetados com sequestros corneais, ulcerações, ou descemetoceloses foi demonstrado por FEATHERSTON et al. (2001) com resultados favoráveis em oito de dez animais afetados. Em um caso, devido a continuação da destruição corneal devido a ulceração complicada, houve a necessidade de enucleação do bulbo do olho.

ANDRADE et al. (1999) pesquisaram o uso da cápsula renal de equinos e BARROS et al. (1995), o pericárdio desta espécie. Estes autores realizaram úlceras experimentais e aplicaram estas membranas em ceratoplastias lamelares. A análise dos resultados demonstrou a possibilidade de aplicação clínica destes tecidos. Outros materiais já foram pesquisados com esta finalidade. São eles a escama de sardinha (LAUS et al., 2000), a córnea homóloga (HACKER, 1991; GONÇALVES, 2000), a cápsula esplênica de bovinos (PRIETO et al., 2002), a membrana amniótica (BARROS et al., 1998) entre outros.

A ceratoplastia penetrante, em Medicina Veterinária, já foi realizada em cães, gatos (HACKER, 1991), cavalos (van der WOERDT et al., 1998; ANDREW, 1999), corujas (ANDREW et al., 2002) e búfalos (PANCHBAI; KULKARNI, 1987).

BROOKS et al. (2004) afirmou que o transplante corneal a fresco é uma técnica viável no cavalo com um resultado em termos de acuidade visual de 83,2%, porém afirma que o tratamento medicamentoso para minimizar a rejeição e opacidade do enxerto é necessário.

Alguns aspectos devem ser considerados quando da realização do transplante de córnea. São eles: a espécie animal a qual se está tratando, o tamanho do defeito a ser substituído e sua profundidade, o tipo de tecido que irá ser usado para a substituição e, finalmente, o tipo de resultado esperado após o transplante.

### **1.3 Meios de conservação**

Em alguns casos, os materiais biológicos utilizados para implantes em cirurgias reconstrutivas, necessitam de conservação a fim de preservar a sua viabilidade. Esta preservação, nem sempre precisa manter a vitalidade celular, pois a eficiência da cirurgia reparadora com material implantado geralmente independe da sobrevivência dos elementos celulares do implante e sim da reação biológica de

reparação (MAZZANTI et al., 2001).

Para a conservação da vitalidade celular, soluções a base de antibióticos e soluções comerciais já foram usadas (ANDREW et al., 1999). ARNDT et al. (2001) utilizaram o Optisol GS, uma solução a base de sulfato de condroitina e dextrano para a preservação de córneas felinas e caninas. Estes autores verificaram que esta solução mantém uma vitalidade celular aceitável somente até os 15 dias de preservação. WILKIE e WHITTAKER (1997) afirmaram que os enxertos alógenos frescos, quando usados, devem ter como objetivo principal o restabelecimento óptico e não somente reconstrutivo e terapêutico. Segundo HERRING (2003) em Medicina Veterinária, a manutenção da transparência da córnea obviamente é importante, porém, está relegada a segundo plano, sendo o principal objetivo a manutenção da integridade física deste órgão. Levando-se em consideração o exposto por estes autores, é permitido concluir que para muitas clínicas veterinárias o curto espaço de tempo que se consegue manter uma córnea com vitalidade pode não ser economicamente viável, recorrendo-se a soluções de conservação que promovam apenas a viabilidade tecidual e, muitas vezes, com a obtenção de resultados apenas tectônicos.

Existem, descritos na literatura, diversos meios, assim como técnicas utilizadas na conservação de tecidos utilizados para a ceratoplastia.

MOHAN et al. (1980) avaliou o uso do mel na conservação de córneas de cães concluindo que este meio era eficiente para este propósito e ABRAMOV e MARKICHEVA (1983) realizaram ceratoplastia lamelar usando córnea conservada em solução contendo 100% desta substância. A intervenção com propósitos curativos foi realizada em 43 humanos acometidos de queimaduras oculares, úlceras corneanas e ceratites. Os resultados obtidos foram satisfatórios, sendo que na maioria dos casos a córnea tornou-se transparente. Os autores recomendaram esse material para o uso em pacientes clínicos.

Segundo PIGOSSI (1971), vários métodos de enxertias e implantes são realizados cirurgicamente, contudo, existem diversos procedimentos de conservação destes materiais biológicos. Dos métodos de conservação já preconizados, muitos são complexos, por procurarem manter a viabilidade dos segmentos a serem transplantados, ou por exigirem trabalhosos processos de preservação e conservação, como os de congelamento em baixa temperatura e o da liofilização. Além disso, é preciso que o método de preservação seja viável, de fácil

utilização, baixo custo e que seja acessível a clínicas e ambulatórios cirúrgicos (GIOSO et al., 2002).

HOLLINGSWORTH (2003) relata que os implantes coletados e mantidos em recipientes com solução de neomicina, polimixina B e gramicidina no interior do congelador de um refrigerador podem ser mantidos quase que indefinidamente. No momento de sua utilização, os implantes são retirados e aquecidos a temperatura ambiente.

O uso de glicerina a 98% para a conservação de materiais biológicos por períodos acima de 30 dias é bem descrita e permite a disposição de material para uso em procedimentos de ceratoplastias lamelares e penetrantes por longos períodos de tempo sendo um material de fácil acesso e baixo custo (ANDRADE et al., 1999)

KING Jr. (1957) utilizou a glicerina para a conservação de córneas para a utilização tanto em animais quanto em pessoas. Este autor utilizou um método complexo para este fim. Após a coleta da córnea de forma asséptica, as desidratava em glicerina a 98% em um sistema de vácuo. Este processo levava várias horas para ser completado. Após, as córneas eram mantidas em recipientes hermeticamente selados. Os procedimentos realizados foram tanto a ceratoplastia lamelar quanto a penetrante. No momento da utilização, as córneas eram hidratadas em solução salina com antibióticos. Os resultados observados variaram quanto ao tipo de procedimento, porém foram semelhantes entre as espécies. Nos transplantes lamelares, o autor relata sucesso em sua utilização, porém, nos penetrantes, verificou a presença de opacidades e menor acuidade visual.

GONÇALVES (2000) utilizou córnea alógena conservada em duas soluções para a ceratoplastia lamelar em cães: a glicerina a 98% e o açúcar a 300%. Após a avaliação de 90 dias, concluiu que os dois meios de conservação são eficientes em manter a viabilidade do tecido sendo de aquisição de baixo custo, fácil manipulação e pronta disponibilidade obtendo resultado visual e estético satisfatório, com pequeno grau de opacidade corneal no local do implante.

#### **1.4 Adesivos teciduais**

Os cianoacrilatos são adesivos líquidos, transparentes, com alguma atividade

antimicrobiana (AWE et al., 1963; EIFERMAN; SNYDER, 1983; QUINN et al., 1995) que quando em contato com superfícies úmidas polimerizam (endurecem) em relativamente pouco tempo (4 a 15 segundos) estabelecendo o processo adesivo (DELLEVIGNE et al., 1971; SILVER, 1976) e tornando alguns procedimentos que por padrão envolvem sutura, significativamente mais rápidos (TORIUMI et al., 1998).

São sintetizados pela reação de formaldeído com alquilcianoacetato, obtendo-se um pré-polímero. Este sofre despolimerização por aquecimento resultando em um monômero líquido, que contém um grupo alcóxicarbonil ou alquil (-COOR). A alteração deste grupo resulta na formação de componentes de tamanhos e cadeias diferentes (ISHIZAKI et al., 2005). O monômero líquido solidifica por polimerização aniônica a temperatura ambiente após o contato com bases fracas liberando mínima quantidade de calor. Durante a polimerização, uma ligação é criada com os tecidos (WATTÉ et al., 2004)

Sintetizados em 1949, não foram usados em ensaios clínicos até o final dos anos 50 (OLLIVIER et al., 2001). São denominados de acordo com o número de carbonos presentes na cadeia lateral da fórmula (radical alquila), e podem ser encontrados como metil, etil, propil, butil e outros cianoacrilatos. LEONARD et al. (1967) afirmaram que os adesivos de cadeia mais longa exibem menor toxicidade tecidual. Isto se deve ao acúmulo dos subprodutos tóxicos liberados durante sua degradação: formaldeído e cianoacetato.

Os primeiros compostos de cianoacrilato tinham poucos carbonos em seu radical alquila (metil cianoacrilato). Estes adesivos foram rapidamente abandonados para o uso biológico devido a sua tendência a elicitar uma intensa reação no tecido corneal. A adição de radicais com maior número de carbonos demonstrou menor toxicidade tecidual com polimerização mais rápida (WATTÉ et al., 2004)

Nestes radicais com menor número de carbonos, a liberação destes compostos é mais rápida, resultando em seu maior acúmulo. Já nos derivados de cadeia longa, como o butil cianoacrilato, a taxa de degradação é mais lenta e o tecido receptor tem maior habilidade para lidar com menores quantidades dos subprodutos por vez (KULKARNI et al., 1967; TORIUMI et al., 1990). VOTE e ELDER (2000) ainda acrescentaram que a toxicidade é dependente da vascularização dos tecidos, sendo maior em tecidos moles mais bem vascularizados.

O primeiro relato do uso do cianoacrilato em cirurgia oftálmica foi em 1963,

com o uso do metil-2-cianoacrilato por ELLIS e LEVINE (1963). Estes autores o utilizaram em diversos procedimentos realizados tanto no bulbo do olho (córnea, esclera) quanto nos anexos oculares (pálpebras). Verificaram graus variados de reações na dependência do tecido que foi avaliado. Este adesivo foi logo descartado devido a sua histotoxicidade (LEONARD et al., 1967). Outros compostos de cadeia mais longa, como o butil e o octil também foram usados, porém, com alto grau de sucesso, principalmente em perfurações corneais (VOTE; ELDER, 2000; TARAVELLA; CHANG, 2001).

A procura de alternativas para a fixação dos enxertos utilizados em defeitos corneais é realizada de forma incessante. Diversos tipos de fios e técnicas de sutura já foram experimentados como sutura cruzada, de limbo a limbo (BERNIS, 1980), isolado simples com seda (LAUS et al., 1996), polidioxanone, poliglactina 910 ou náilon (BRIGHTMAN et al., 1989), ou de padrão contínuo com os mesmos materiais (HAKANSON; MERIDETH, 1987; BRIGHTMAN et al., 1989).

Os cianoacrilatos já foram usados em oftalmologia humana para: a oclusão de perfurações corneais; o fechamento de pele em oculoplastias; a fixação de lentes de contato terapêuticas; a remoção de corpos estranhos não-magnéticos profundos e a tarsorrafia temporária em casos de exposição corneal (VOTE; ELDER, 2000; FELBERG et al., 2003). A aplicação destes adesivos visa manter a integridade ocular, principalmente isolando o conteúdo intra-ocular do meio extra-ocular, prevenindo desta forma o desenvolvimento de endoftalmite e outras complicações como catarata, glaucoma, etc. Uma segunda intervenção pode ser realizada oportunamente com o objetivo de restabelecer a capacidade funcional, embora em alguns casos apenas a aplicação do adesivo pode ser suficiente para atingir esta finalidade, dispensando procedimentos adicionais (FELBERG et al., 2003).

Outros tipos de adesivos já foram testados para o uso em oftalmologia como adesivo de fibrina (VALERO et al., 2001), silicone (REFOJO et al., 1968) e uma associação de plaquetas, fibrinogênio e trombina (ROSENTHAL et al., 1975). Esta última associação foi usada por ROSENTHAL et al. (1975) para a fixação de enxertos lamelares autógenos em coelhos. Após a retirada de um botão lamelar de 6 mm de diâmetro, a mistura era colocada no leito e o botão reposicionado sobre ele. Como controle, no olho contra-lateral, estes autores apenas recolocavam o botão lamelar sem qualquer método de fixação. Até o término do período de avaliação de 21 dias, 50% dos enxertos fixados com o adesivo permaneceram aderidos.

Entretanto, nos olhos controles não houve a permanência de nenhum botão lamelar.

CARDARELLI e BASU (1969) descreveram uma série de 49 ceratoplastias lamelares autógenas e alógenas em coelhos com o botão corneal fixado de diversas maneiras com o uso do cianoacrilato. Apenas dez procedimentos foram considerados como sucesso, porém resultaram em opacidade moderada do enxerto.

Em oftalmologia veterinária os cianoacrilatos não têm seu uso bem estabelecido, tendo sido indicados para alguns procedimentos como tratamento de ulcerações corneais refratárias (BROMBERG, 2002), tratamento de pequenas descemetoceloses ou pequenas perfurações corneais (WILKIE & WHITTAKER, 1997).

BRAGA et al. (2004), utilizaram o adesivo de n-butil cianoacrilato para a fixação de enxertos autógenos lamelares em úlceras experimentais em cães e obtiveram 100% de fixação aos 30 dias de pós-operatório sem opacificação corneal visível.

ZAGERLBAUM et al. (1999) relataram a instilação acidental de cianoacrilato na câmara anterior de um paciente após a tentativa de corrigir uma perfuração corneal. O adesivo causou um bloqueio pupilar e teve que ser removido cirurgicamente.

### **1.5 Videoceratoscopia computadorizada (VCC)**

O astigmatismo cirurgicamente induzido (ACI) é a mais freqüente complicação da cirurgia de catarata e é um importante fator na determinação da acuidade visual pós-operatória. Ele pode ser afetado por muitos fatores incluindo o tamanho, localização, forma e distância da incisão do limbo e também a técnica e o material empregado na sutura (BELTRAME et al, 2001). Nos procedimentos de transplante corneal, esta alteração também tem grande importância e segundo LANGENBUCHER et al. (2005) não somente durante a fase de pós-operatório na qual as suturas permanecem na córnea, mas também em uma fase mais tardia na qual a córnea tende a continuar seu procedimento de cicatrização podendo resultar em diferentes alterações nas funções ópticas. Estes autores também esclarecem que quando as suturas ainda estão aplicadas, a topografia corneal é determinada principalmente pela tensão de sua aplicação e quando ocorre a sua remoção, a configuração da ferida e a adaptação entre o botão doador e a córnea receptora é que determinam alterações ópticas. Além disto, o grande espectro de padrões

topográficos vistos após a ceratoplastia penetrante pode ser explicado por variações na hidratação corneal e mudanças nas forças que se desenvolvem na interface enxerto-hospedeiro em virtude da cicatrização do epitélio e estroma (KARABATSAS et al., 1999).

Em 1880, o português A. Plácido desenvolveu um sistema para análise qualitativa da córnea cujo princípio é utilizado até os dias de hoje. O anteparo era uma cartolina preta com discos brancos concêntricos pintados na superfície. Havia um pequeno furo ao centro por onde o observador poderia analisar os reflexos da córnea do paciente. Quando o paciente fixava o olhar no centro dos discos o médico observava a projeção destes na córnea, verificando os padrões do reflexo. Se o padrão da imagem virtual formada fosse o de discos aproximadamente circulares e concêntricos, a córnea poderia ser interpretada como aproximadamente esférica; do contrário, a topografia seria de uma superfície distorcida. O processo era conhecido como ceratoscopia (MERLIN, 1996; CARVALHO; BRUNO, 2005). Em 1896, Gullstrand, aplicou a fotografia junto a ceratoscopia. Isto permitiu ao clínico medir o tamanho dos anéis devido a fixação das imagens. Mesmo assim, o processo era lento (RABINOWITZ, 1998).

Com o barateamento e compactação de sistemas computacionais a partir da década de 80, a possibilidade de análises da topografia da córnea com auxílio de instrumentos computadorizados começou a tornar-se uma realidade. Uma série de benefícios foi implementada. As medidas são realizadas com maior rapidez e dependiam cada vez menos da habilidade do oftalmologista. As imagens eram processadas computacionalmente em um tempo muito menor do que nos fotoceratoscópios. A disposição da curvatura em milhares de pontos sobre a córnea podia ser feita na tela do computador, facilitando o diagnóstico. Além da "explosão" computacional, outros fatores favoreciam o desenvolvimento de instrumentos dessa natureza. O crescente desenvolvimento de técnicas de cirurgias refrativas necessitava de sistemas que pudessem avaliar o sucesso das cirurgias, com análises precisas pré e pós-cirúrgicas. A estes novos instrumentos computadorizados deu-se o nome de topógrafos de córnea ou mais formalmente videoceratógrafos (CARVALHO, 2005).

O sistema de projeção de anéis é geralmente cônico. O cone é normalmente feito em acrílico translúcido com anéis circulares concêntricos pintados em preto por onde não se deseja que a luz passe. A iluminação é feita por uma lâmpada acoplada

na parte traseira do cone. Por trás do projetor, ao longo do eixo deste, existe um sistema óptico de magnificação das imagens refletidas pela córnea que são focalizadas em uma câmara. O sinal obtido é enviado a uma placa de aquisição instalada no micro-computador. Desta maneira imagens extremamente nítidas e com alta magnificação podem ser digitalizadas e processadas para a detecção das bordas internas e externas dos discos. Os valores obtidos nesta etapa são inseridos em algoritmos de reconstrução da topografia da córnea, cujo resultado é geralmente impresso na tela do computador em forma de mapas topográficos com códigos de cores. Cada cor da escala representa uma curvatura determinada, ou seja, certo poder de refração (dioptria). Cores quentes (vermelho, laranja e amarelo) representam altos graus de curvatura. Os tons em verde representam valores médios enquanto cores frias (azul, azul escuro) estão associadas a curvaturas menores (KLYCE, 1996; RABINOWITZ, 1998; CARVALHO, 2005).

Atualmente, a videoceratoscopia computadorizada é o melhor método para estudar o ACI e modificações na superfície da córnea porque permite a análise de mudanças locais discretas na forma deste órgão (BELTRAME et al, 2001).

Em pacientes humanos, MACMAHON et al. (2001) afirma que irregularidades na superfície corneal têm um efeito significativo na performance óptica e, assim, pode reduzir a performance visual e qualidade de vida dos pacientes. Já em Medicina Veterinária, as aberrações no raio da curvatura corneal não são geralmente apreciadas por causar problemas de visão significantes (HERRING, 2003).

## **1.6 Endotélio e a espessura corneal**

O endotélio corneal de coelhos situa-se posterior e adjacientemente à membrana de Descemet e caracteriza-se por uma monocamada de células poligonais uniformes em tamanho e em forma com suas bordas apresentando interdigitações e a superfície celular apresentando um número variável de microvilosidades, sendo similar ao descrito em outras espécies (SLATTER, 2005; PIGATTO et al., 2005). Deriva da crista neural e tem baixa capacidade de regeneração. Havendo perda celular, em coelhos, o processo de proliferação de células endoteliais é predominante. Já em humanos, cães e gatos, a capacidade mitótica é baixa e, as células sobreviventes preenchem as lacunas resultantes,



aumentando de tamanho e perdendo sua regularidade em tamanho e forma (STUMPF; NOSÉ, 2006; WERNER et al., 2006).

Acredita-se que o aumento do tamanho das células endoteliais (polimegatismo), e a variação de sua forma (pleomorfismo), reflitam a perda da capacidade de reserva do endotélio corneal (SCHAEFER et al., 2002).

A transparência e espessura normal da córnea são mantidas pelas funções de barreira e de bomba de fluídos exercidas pelo endotélio corneal. Embora a distribuição do tamanho celular seja normal em adultos jovens, o pleomorfismo aumenta e a densidade celular diminui conforme a idade progride. Em humanos, a densidade endotelial central diminui a uma média de 0,6% por ano em córneas normais adultas (KUS et al., 1999).

As características citológicas do endotélio demonstram, com a presença de um grande número de mitocôndrias, o mecanismo ativo de transporte de íons através das células. Além disto, a evidência de um retículo endoplasmático exuberante indica importante síntese protéica, necessária à constante formação da membrana de Descemet (YAGOUBI et al., 1994; RÉGIS-PACHECO, 1997)

Em coelhos, o formato celular endotelial predominante é o hexagonal (75%), podendo ser encontradas células pentagonais (14%) e heptagonais (11%). A área celular média é de 174  $\mu\text{m}^2$  e a densidade endotelial é de 5747 células por  $\text{mm}^2$  (PIGATTO et al., 2005).

Com a idade avançada, diminui o número de células endoteliais. Esta camada é importante para o cirurgião, pois é extremamente suscetível à lesão osmótica e traumática durante uma cirurgia. A perda do endotélio da córnea, a nível além da capacidade de compensação ou replicação das células adjacentes, provoca edema e opacidade corneais permanentes (RAO et al., 1982; SLATTER, 1998; DOUGHTY et al., 2002), pois a manutenção da transparência corneal é dependente de uma suficiente população de células endoteliais para afetar a deturgescência do estroma corneal (BAHN et al., 1982). Conseqüentemente, o sucesso da ceratoplastia penetrante com enxerto a fresco, depende do transplante de uma quantidade de células endoteliais adequada (RÉGIS-PACHECO, 1997).

É possível visualizar as células endoteliais *in vivo* utilizando-se a microscopia especular. Esta técnica permite a avaliação objetiva e subjetiva do tamanho e formato celular (DOUGHTY et al., 2002). Porém, o alto custo do microscópio especular e a dificuldade em se obterem imagens em áreas endoteliais que sofreram

trauma levam muitas vezes a necessidade de utilização de técnicas alternativas (PIGATTO et al., 2005). Em coelhos, os métodos de estudo do endotélio mais usados são a microscopia eletrônica por varredura e preparações histoquímicas do tecido fresco (DOUGHTY, 1998).

Em virtude do pobre funcionamento do endotélio corneal, ocorre o edema de córnea e conseqüente aumento progressivo da espessura corneana. Dois métodos principais são utilizados na medição da espessura da córnea: a microscopia especular e a paquimetria ultra-sônica.

Através da realização do foco no endotélio, o microscópio especular de não-contato é capaz de fornecer imagens especulares e, através de medidas da distância focal, calcular a espessura corneal (MODIS et al., 2001). A grande vantagem deste método é a possibilidade de realizar a avaliação do endotélio ao mesmo tempo em que podem ser obtidas medidas da espessura corneal, além de não ter a necessidade de contato com a córnea, diminuindo as possibilidades de infecção ou danos ao epitélio. Por outro lado, é um aparelho de alto custo e, em casos de córneas semitransparentes ou opacas a captura da imagem é difícil ou impossível (MÓDIS et al., 2001; PIGATTO et al., 2005; BRANDAO et al. 2006)

A paquimetria ultra-sônica da córnea é o método de medição da espessura corneal mais exato e confiável *in vivo* atualmente disponível tanto para humanos quanto para animais. A técnica permite que a medida seja obtida sem a necessidade de sedação do paciente. O instrumento mede o tempo necessário para que a energia ultra-sônica atravesse a córnea e, usando valores pré-estabelecidos para a velocidade do som, converte a medida na espessura corneal (MONTIANI-FERREIRA et al., 2003; MORREALE, 2003). Este exame avalia indiretamente o funcionamento do endotélio corneal, entretanto, mais próximo à realidade que somente a avaliação da anatomia celular, pois a espessura corneal está diretamente relacionada ao funcionamento das células endoteliais (PIGATTO et al., 2005; STUMPF; NOSÉ, 2006).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Propor uma técnica de fixação de botões corneais conservados ou não em ceratoplastias penetrantes.

### **2.2 Específicos**

Avaliar a eficiência da glicerina a 98% como meio de conservação de córneas para ceratoplastia com fins tectônicos;

Avaliar a progressão celular endotelial em relação a ceratoplastia penetrante com implante alógeno ou autógeno de córnea;

Avaliar a utilização do adesivo de cianoacrilato para a fixação de botão corneal autógeno;

Avaliar a utilização do adesivo de cianoacrilato para a fixação de botão corneal alógeno conservado em glicerina a 98%;

Comparar o tempo de fixação utilizando-se o adesivo de cianoacrilato ou o método tradicional de sutura na fixação dos botões corneais.

### **3 ARTIGOS CIENTÍFICOS**

3.1 Uso de adesivo de n-butil cianoacrilato para a fixação de botão corneal autógeno ou alógeno na ceratoplastia penetrante em coelhos

The use of n-butyl cyanoacrylate adhesive in fixation of corneal auto or allografts in the penetrating keratoplasty in rabbits

#### **RESUMO**

O presente trabalho teve como objetivo, avaliar o uso de um adesivo a base de n-butil cianoacrilato na fixação e manutenção de botões corneais autógenos e alógenos na ceratoplastia penetrante. Foram usados 8 coelhos adultos divididos em dois grupos: O grupo I – adesivo (GI – 4 animais) e grupo II – sutura (GII – 4 animais). No GI, foi realizada, no olho esquerdo, uma ceratoplastia penetrante de 5 mm utilizando-se córnea alógena conservada em glicerina de 6 mm de diâmetro e fixando-a com 4 pontos isolados simples e adesivo de cianoacrilato. No olho direito, o mesmo procedimento, porém de 4 mm de diâmetro utilizando-se o botão que foi removido da córnea esquerda (5 mm). Nos animais do GII procedimentos semelhantes foram realizados, porém, a fixação dos botões constou de 8 pontos isolados simples com mononilon 10-0. Foram realizadas avaliações oftálmicas pós-operatórias (PO), videoceratoscopia computadorizada, paquimetria ultra-sônica e microscopia eletrônica por varredura. Foi verificada a integração de ambos os transplantes em ambos os grupos. Houve um maior grau de astigmatismo visto nos transplantes autógenos do GI e, neste grupo a densidade endotelial foi menor. À paquimetria, foi verificada a diminuição da espessura conforme aumentavam os tempos. Em todos os animais houve a completa progressão do endotélio corneal sobre o auto e aloimplante. Conclui-se que o adesivo de cianoacrilato pode ser usado como método de fixação de autotransplantes bem como alotransplantes de córnea em coelhos.

Palavras-chave: cola; implante; enxerto; transplante; medicina veterinária

#### **ABSTRACT**

The present research had the aim to evaluate the use of an adhesive with n-butyl cyanoacrylate in the fixation and maintenance of corneal auto and allografts in penetrating keratoplasty. There were used eight adult rabbits divided in two groups. The group I – with adhesive (GI – 4 animals) and group II – with suture (GII – 4 animals). In the GI, performed in the left eye, a penetrating keratoplasty with 5 mm in diameter was done, repaired with a

corneal allotransplant with 6 mm in diameter, fixed with 4 simple interrupted stitches plus cyanoacrylate adhesive. In the right eye, the same procedure was done, but using a 4 mm diameter corneal autograft, removed from the left eye (5 mm in diameter). In the animals of GII were used similar procedures, but using 8 simple interrupted stitches with a mononylon 10-0. There were done many pos-operative evaluations, including computer videoceratometry, ultrasound pachymetry and scanning electronic microscopy. It were verified the integration in all transplanted corneas in both groups. A bigger astigmatism grade were observed in the autotransplants of the GI and also a endothelial density was noted. In the pachymetry, a decrease of thickness occurred, as the time of examination increased. In all animals occurred a complete corneal endothelial progression with the auto and allografts. It was concluded that the cyanoacrylate adhesive can be used as a fixation method in corneal auto and allografts in rabbits.

Keywords: glue; implant; graft; transplant; veterinary medicine

## **INTRODUÇÃO**

A córnea pode ser amplamente descrita como servindo a dois papéis importantes: um mecânico e um óptico. Sua função mecânica em conjunto com a esclera é manter a integridade física do olho. Sua função óptica é permitir a passagem da luz até a retina e atuar na função de foco. Os procedimentos cirúrgicos são quase sempre no sentido de preservar ou restaurar uma destas funções (HERRING, 2003).

Segundo FORSTOT e KAUFMAN (1977) o primeiro transplante de córnea em humanos aconteceu em 1844. Desde então suas indicações tem sido definidas (KING Jr., 1957). Tanto em humanos como em animais, as ceratites ulcerativas estão entre os principais tipos de afecções nas quais a ceratoplastia penetrante é recomendada (VOTE; ELDER, 2000; LASSALINE, 2002; MICHAU et al., 2002; VANORE, 2007).

O primeiro relato do uso do cianoacrilato em cirurgia oftálmica foi em 1963, com o uso do metil-2-cianoacrilato (ELLIS; LEVINE, 1963). Desde então, seu uso foi disseminado em diversos procedimentos oftálmicos como a oclusão de perfurações corneais, oculoplastias, fixação de lentes terapêuticas, tarsorrafias temporárias, entre outros (LEAHEY, 1993; VOTE; ELDER, 2000; FELBERG et al., 2003; 2004; WATTÉ et al., 2004).

Em oftalmologia Veterinária seu uso está descrito no tratamento de ulcerações corneais refratárias, ceratectomia superficial, tratamento de pequenas descemetoceloses ou pequenas perfurações, lacerações corneais e ceratoplastias lamelares (WILKIE; WHITTAKER, 1997; BROMBERG, 2002; BRAGA et al., 2004; WATTÉ et al., 2004).

Os cianoacrilatos são monômeros líquidos que em contato com a umidade polimerizam-se e solidificam-se rapidamente ocasionando a adesão nos tecidos (FELBERG et al., 2003; ISHIZAKI et al., 2005). São denominados de acordo com o número de carbonos presentes na cadeia lateral da fórmula (radical alquila) como metil, etil, propil, butil e outros cianoacrilatos, sendo os de cadeia mais longa os que exibem menor toxicidade tecidual (LEONARD et al., 1967). Isto se deve ao acúmulo dos subprodutos tóxicos liberados durante sua degradação: formaldeído e cianoacetato. Em radicais com menor número de carbonos, a liberação destes compostos é mais rápida, resultando em seu maior acúmulo. Já nos derivados de cadeia longa, como o butil cianoacrilato, a taxa de degradação é mais lenta e o tecido receptor tem maior habilidade para lidar com menores quantidades dos subprodutos por vez (KULKARNI et al., 1967; TORIUMI et al., 1990).

O presente trabalho teve como objetivo, avaliar o uso do adesivo de cianoacrilato a base de n-butil cianoacrilato na fixação e manutenção de botões corneais autógenos e alógenos na ceratoplastia penetrante, descrever e avaliar a técnica utilizada para a realização destes procedimentos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizados 8 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) adultos que após o exame oftálmico constando de oftalmoscopia monocular direta, teste da fluoresceína, teste da lágrima de Schirmer e tonometria por aplanção<sup>a</sup> (Tonopen) foram considerados hígidos e separados em grupo I – adesivo (GI) e grupo II – sutura (GII), com quatro animais cada. Foram mantidos em gaiolas individuais apropriadas, recebendo água e ração comercial *ad libitum*, por um período de adaptação de 14 dias e durante todo o transcurso do experimento.

Os animais foram pré-medicados com uma associação de cloridrato de cetamina (25 mg.kg<sup>-1</sup>), cloridrato de xilazina (3 mg.kg<sup>-1</sup>) e sulfato de atropina (0,9 mg.kg<sup>-1</sup>) administrados através da mesma seringa por via intramuscular (IM). Foi procedida a intubação endotraqueal, e a manutenção anestésica com a administração de isoflurano. A fluidoterapia com solução fisiológica 0,9% foi fornecida através da veia marginal da orelha e a profilaxia antibiótica foi realizada com o uso de enrofloxacin na dose de 10 mg.kg<sup>-1</sup> IM. Foi realizada tricotomia peri-orbitária.

Duas horas antes da cirurgia, e com intervalos de 30 minutos até seu início, foi instilada uma gota de colírio a base de cloranfenicol em ambos os olhos e, quando em plano anestésico, foram instiladas duas gotas de colírio a base de cloridrato de tetracaína em cada olho.

Após a anti-sepsia, a delimitação do campo operatório, a blefarostase, o bulbo do olho foi fixado com fio mononailon 4-0 encastado de fábrica, através dos músculos reto superior e reto inferior e reparados com pinças hemostáticas de Halstead.

O implante alógeno foi obtido, conservado em glicerina e hidratado com Ringer com Lactado imediatamente antes do procedimento cirúrgico conforme descrito por GONÇALVES (2000). A córnea foi colocada sobre um bloco de Teflon com a superfície endotelial voltada para cima. Com o uso de um trépano, um botão de espessura total e 6 mm de diâmetro foi obtido e posteriormente mantido em uma placa de Petri sobre um leito de viscoelástico<sup>b</sup> até o momento de sua utilização.

Com o objetivo de obter um botão corneal de espessura total, um trépano de 5 mm foi aplicado no centro da córnea do olho esquerdo (OE), de forma penetrante. Após a perfuração inicial da câmara anterior, o botão foi removido com o auxílio de tesoura corneal e colocado em uma placa de Petri, sobre um leito de viscoelástico.

No GI, antes da trepanação, foi feita somente a marcação com o trépano e o epitélio, removido por 1 a 2 mm interna e externamente a esta marcação com auxílio de um motor para corpo estranho<sup>c</sup>. Após a trepanação, o botão corneal conservado, obtido previamente, foi adaptado às margens da ferida corneal. Quatro pontos isolados simples (pontos cardinais) com mononailon 10-0 encastado de fábrica foram aplicados nas posições 12, 6, 3 e 9 horas. Utilizou-se uma esponja de celulose para a secagem das bordas do implante e do leito receptor.

Uma agulha n<sup>o</sup> 27 angulada em 45° em sua metade e sem sua porção biselada foi acoplada na extremidade de um tubo de n-butil cianoacrilato<sup>d</sup>. Uma quantidade mínima de adesivo necessária para a união das bordas do defeito com as bordas do implante foi aplicada sobre estas superfícies em coaptação (BRAGA et al., 2004).

No olho direito (OD) dos animais do GI, realizou-se um procedimento semelhante ao descrito anteriormente, diferenciando-se somente pelo fato de ser feita uma ferida de 4 mm e, a esta, adaptado o enxerto autógeno coletado do OE (Figura 1a).

Nos animais do GII, os procedimentos foram semelhantes aos já descritos, porém, não foi feita a remoção do epitélio e o método de fixação em ambos os olhos constou da realização de oito pontos em padrão interrompido simples utilizando-se mononailon 10-0 encastado de fábrica.

Como medida analgésica, os animais foram mantidos com cetoprofeno (1 mg.kg<sup>-1</sup> IM) durante três dias e sulfato de morfina (1 mg.kg<sup>-1</sup>) de 6 em 6 horas durante 24 horas. Como medida profilática à infecção foi feita a aplicação de colírio a base de cloranfenicol<sup>e</sup>,

três vezes ao dia até o momento do teste da fluoresceína<sup>e</sup> resultar negativo. Após, foram mantidos com colírio a base de dexametasona<sup>f</sup> até os 60 dias de pós-operatório, quando foi suspenso.

A avaliação oftálmica foi realizada com intervalos de 24h até o 30º dia e, posteriormente, de sete dias até o 90º dia. O protocolo de avaliação consistiu na realização do teste de Seidel e do teste da fluoresceína observando-se a presença do adesivo, pontos e a re-epitelização corneal. Com o auxílio de uma lupa de pala, o exame oftálmico também foi realizado com vista à verificação das reações de fotofobia, blefaroespasmos, hiperemia conjuntival, edema, neovascularização e secreção ocular (serosa, sero-mucosa, mucosa, purulenta), quantificando-as segundo um padrão de cruzes onde: 0 = ausente, + = leve, ++ = moderada e +++ = severa.

Em intervalos de sete dias, os animais eram avaliados ao microscópio cirúrgico em aumentos de 16, 25 e 40 vezes e obtidas imagens através de uma placa de captura e câmera adaptada ao microscópio. Aos 30 dias os pontos foram removidos.

Aos 0 (T0 - antes dos procedimentos cirúrgicos), 60 (T60) e 90 (T90) dias de pós-operatório, foi realizada a videoceratoscopia computadorizada (VCC). As imagens foram obtidas de ambos os olhos e processadas pelo programa EyeSys System 2000<sup>h</sup> V.4.0. Nestes mesmos tempos também foram obtidas medidas da espessura central da córnea com o uso de um paquímetro ultra-sônico<sup>k</sup> e anestesia tópica com cloridrato de tetracaína.

Terminada a avaliação dos pacientes aos 90 dias, estes foram sedados com acepromazina IM (1 mg.kg<sup>-1</sup>), procedida a eutanásia com uma sobredose de tiopental sódico por via intravenosa e os olhos foram processados para a microscopia eletrônica de varredura (MEV) conforme descrito por DOUGHTY et al. (1997) evitando-se o uso do tetróxido de ósmio e substituindo-se o tampão de cacodilato com o uso de solução de glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato 0,1M e pH 7,4 e 7,6. As amostras foram secas em secador de ponto crítico<sup>i</sup> utilizando-se dióxido de carbono líquido, fixadas em porta-espécime, com fita condutiva de cobre e metalizadas com uma camada de ouro e paládio de 30nm de espessura. As imagens foram obtidas com um microscópio eletrônico de varredura<sup>j</sup> com 10 kV. O processamento e análise foram feitos no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso do adesivo de cianoacrilato na oftalmologia está bem documentado em várias situações clínicas e em várias espécies, inclusive a humana (LEAHEY, 1993; BROMBERG,



2001; FELBERG et al., 2003; BRAGA et al., 2004; WATTÉ et al., 2004).

O uso da ceratoplastia penetrante em Medicina Veterinária tem, como principal indicação, a presença de úlceras corneais graves profundas ou perfuradas, inclusive com a presença de abscesso estromal (VOTE; ELDER, 2000; LASSALINE, 2002; MICHAU et al., 2002; VANORE, 2007).

A procura de alternativas para a fixação dos enxertos utilizados em defeitos corneais é realizada de forma incessante. Diversos tipos de fios e técnicas de sutura já foram experimentados como sutura cruzada, de limbo a limbo (BERNIS, 1980), isolado simples com seda (LAUS et al., 1996), polidioxanone, poliglactina 910 ou náilon (BRIGHTMAN et al., 1989), ou de padrão contínuo com os mesmos materiais (HAKANSON; MERIDETH, 1987; BRIGHTMAN et al., 1989). A ceratoplastia lamelar com fixação por adesivo de cianoacrilato já foi realizada por CARDARELLI e BASU (1969) e BRAGA et al. (2004). Somente estes últimos tiveram resultados favoráveis, com 100% de incorporação dos botões lamelares ao leito receptor tendo, então, estimulado a realização deste experimento.

No que se refere ao tipo e quantificação das secreções, foi observado grau moderado de secreção mucosa até os 10 dias de pós-operatório no grupo I. Em concordância com o que foi afirmado por REFOJO et al. (1968) de que uma maior quantidade de cianoacrilato estimula uma maior reação, a diminuição da quantidade de secreções com o desprendimento do adesivo ocorreu de forma gradual. Não houve diferença entre os alo e autotransplantes. No que diz respeito a presença de blefaroespasmos e vascularização conjuntival os graus avaliados variaram de moderado a leve enquanto o adesivo esteve presente, seguindo também seu curso de desprendimento (Figura 1b). FELBERG et al. (2003) relatam que o uso do cianoacrilato causa desconforto devido ao atrito de sua superfície rugosa com a pálpebra. OLLIVIER et al. (2001) afirmaram que isto tende a ser resolvido em 48 a 72 horas devido ao aplainamento desta superfície. Aos 30 dias de pós-operatório, foi verificado que, mesmo os animais com a presença de cianoacrilato, tinham pouco ou nenhum grau de blefaroespasmos e de vascularização conjuntival. A reepitelização das bordas dos alo e autotransplantes foi verificada através do teste da fluoresceína, sempre em torno de 24 horas após a queda ou remoção do adesivo.

No GII, a ocorrência de secreção mucosa foi somente nos quatro primeiros dias, assim como o blefaroespasmos e a hiperemia conjuntival. Neste grupo foi verificado o teste da fluoresceína negativo já aos 15 dias nos alotransplantes.

OLLIVIER et al. (2001) afirmam que, conforme existe a cicatrização do estroma e epitélio abaixo do adesivo, este é naturalmente extruído. No GI, foi observada, no momento

de sua aplicação, a firme aderência tanto à córnea quanto ao fio de sutura aplicado primeiramente. Isto favoreceu a permanência do adesivo por mais tempo ocorrendo, em alguns casos, o total desprendimento deste da córnea, porém permanecendo unido ao ponto. Nestas situações, os pontos eram removidos no momento da avaliação ao microscópio.

FELBERG et al. (2003) recomendam a desepitelização da córnea para a colocação do adesivo. No uso de pedículos conjuntivais HAKANSON e MERIDETH (1987) afirmam que esta manobra em 0,5 a 1 mm ao redor da úlcera melhora sua aderência. BRAGA et al. (2004) optou pela não realização da desepitelização em virtude de testar a capacidade adesiva dos cianoacrilatos, verificando boa aderência nas ceratoplastias lamelares e deiscência dos enxertos conjuntivais. Na situação de ceratoplastia penetrante, conta-se com a pressão exercida pelo humor aquoso nas bordas do transplante, portanto, optou-se pela remoção do epitélio. Em nenhum caso houve a saída de humor aquoso através das bordas no pós-operatório, verificado através do teste de Seidel. Em virtude da aderência maior ao estroma corneal e também aos pontos cardinais que foram aplicados (MOSCHOS et al., 1997), aos 30 dias de pós-operatório, em torno de 75% dos animais permaneciam com alguma quantidade de adesivo contrariando os achados de BRAGA et al. (2004) que não verificou a presença de cianoacrilato em nenhum animal.

ZAGERLBAUM et al. (1999) e LANE et al. (2000) sugerem que, para a aplicação do cianoacrilato em perfurações corneais, primeiramente devem ser usados ar ou viscoelástico para a reconstituição da profundidade da câmara anterior e WILKIE e WILLIS (1999) acrescenta, a esta última substância, a função de prevenir o colapso repentino da câmara anterior, facilitar a sutura e proteger o endotélio. Neste experimento não foram utilizados nenhum destes artifícios. A utilização de somente quatro pontos de sutura para a fixação inicial da córnea permitia que uma bolha de ar escapasse por entre as bordas da ferida. Além disto, a colocação de viscoelástico na câmara anterior incorre em risco de aumento da pressão intraocular pós-operatória, principalmente se ocorre falha na sua aspiração (LANE et al., 2000; WILKIE; WILLIS, 1999; CHAHORY et al., 2003). Com o intuito da padronização, optou-se pela não utilização destas manobras em nenhum dos grupos. No GII, poderia ser usada uma cânula para a aspiração entre as suturas (WILKIE & WHITTAKER, 1997), porém, no GI, devido à completa coaptação entre as bordas pelo cianoacrilato isto não seria possível.

Assim como na sua utilização em cirúrgicas estéticas, o cianoacrilato não pode penetrar entre as bordas da ferida. VASCONCELLOS et al. (2005) verificaram a ausência de reações inflamatórias quando da utilização em aposição de pele e a relacionaram à prevenção

cuidadosa do contato do adesivo com os tecidos subcutâneos. À semelhança de BRAGA et al. (2004) que verificaram interposição do adesivo em mínimo grau entre as bordas, mas o suficiente para estimular o blefaroespasm e a neovascularização, no presente trabalho isto também ocorreu. Apesar de utilizar o botão doador com 1 mm a mais que o leito receptor (GALERA et al., 2000; BUSSIERES et al., 2004) e do cuidado no momento da instilação sobre as bordas (BRAGA et al., 2004), o cianoacrilato é uma substância de baixa viscosidade, promovendo algum grau de infiltração entre elas (REFOJO et al., 1968). A remoção do adesivo foi feita durante os exames ao microscópio cirúrgico e ao longo de três semanas a partir do momento da retirada dos pontos como recomendado por MOSCHOS et al. (1997) e FELBERG et al. (2003). Esta remoção gradativa deve-se à possibilidade de avulsão do implante na presença de adesivo muito aderido, com conseqüente fistulização da câmara anterior. No presente estudo, isto ocorreu em um caso (OD) e, como tratamento, foi instilada uma gota de cianoacrilato após a preparação descrita anteriormente (ZALTA; WIDER, 1991). Sugere-se a remoção do adesivo sempre do centro do botão em direção à periferia.

Alguns autores utilizam-se de tarsorrafia temporária ou de enxerto conjuntival pediculado para a proteção do tecido implantado (BERNIS, 1980; BUSSIERES et al., 2004; VANORE et al., 2007). Não existem dúvidas quanto à utilidade destas técnicas no auxílio à cicatrização do implante, porém, em nosso caso, estes procedimentos impediriam o acompanhamento e avaliação oftálmica nos períodos iniciais de pós-operatório, perdendo-se valiosa informação (GONÇALVES, 2000).

Os tempos despendidos nas etapas para a fixação do botão corneal no GI foram de 15 minutos e 11 segundos (OE) e 12 minutos e 31 segundos (OD) contra 22 minutos e 28 segundos (OE) e 19 minutos e 12 segundos (OD) no GII. Com isto, verificamos que a utilização do cianoacrilato incorre em tempo menor do que a realização das suturas, resultando em 34% de diminuição nos tempos de fixação dos botões. Diversos autores discorrem que o uso de adesivos teciduais favorece a diminuição do tempo da síntese tecidual (QUINN et al., 1997; TORIUMI et al., 1998; PELISSIER et al., 2001). Considerando os tempos cirúrgicos desenvolvidos na utilização destes adesivos (desepitelização, secagem e aplicação), a secagem é a que, muitas vezes, mais contribui para o aumento do tempo gasto, devido à saída muitas vezes constante do humor aquoso pelas bordas da ferida. A colocação do adesivo, nestes casos, teve que ser justo no instante em que era utilizada a esponja de celulose. Do contrário, ocorria a polimerização do monômero em contato com o humor e a não aderência à córnea (VOTE; ELDER, 2000).

Segundo PIGATTO et al. (2004) e DOUGHTY et al. (2002), a MEV permite a

avaliação morfológica e morfométrica das células endoteliais. A avaliação das córneas com este exame demonstrou, nos OD, a manutenção da vitalidade celular em ambos os grupos e nos OE, o recobrimento da superfície interna da córnea com uma camada de células viáveis. Nos autotransplantes do GI (Figura 1c), aos 90 dias foi notada opacidade moderada em relação ao GII. A presença de maior quantidade de células com 4, 5 e 7 lados notadas subjetivamente naquele grupo pode refletir uma menor capacidade de manter a desidratação do estroma (BAHN et al., 1982).

Os valores obtidos na paquimetria ultra-sônica para o OD do GI foram  $386\pm 14$  (T0),  $490\pm 14$  (T60) e  $426\pm 46$  (T90) e OE  $394\pm 11$  (T0). Somente em um animal foi possível obter os valores nos dois tempos de PO: 719 (T60) e 604 (T90). Este olho demonstrou a menor opacidade entre todos (Figura 1d). No GII os valores para o OD foram de  $389\pm 18\mu\text{m}$  (T0),  $392\pm 15$  (T60) e  $387\pm 14$  (T90). No OE deste grupo não foi possível obter nenhuma medida. A avaliação destes dados permite-nos concluir que no GI, OD, houve aumento da espessura provavelmente pela má aposição de bordas internamente pois SLATTER (2001) e HERRING (2003) afirmam que as suturas, quando realizadas em lacerações ou incisões corneais devem penetrar na córnea próximo e anterior à membrana de Descemet devido à possibilidade de pobre aposição do endotélio e de ocorrências de edema corneal. O uso do cianoacrilato permitiu a aposição apenas da superfície externa. Quando se avaliou a superfície endotelial pela MEV, foram verificadas, falhas na aposição das bordas internas nas córneas do grupo I (Figura 1E). Já nas córneas do grupo II, houve suficiente aposição da superfície interna da córnea. Mesmo assim, nas áreas de transição de todos os olhos verificou-se uma camada endotelial contínua (Figura 1f) denotando a capacidade de progressão do endotélio (OLSON et al., 1978).

A VCC é utilizada para a verificação de irregularidades da superfície corneal. Através de seus resultados são possíveis que sejam calculados os graus de astigmatismo principalmente após as ceratoplastias (MACMAHON et al., 2001; LANGENBUCHER et al., 2005). Sua realização foi possível com a contenção mecânica dos animais, ao contrário do que foi realizado por GODOY et al. (2007) que utilizou a sedação com xilazina para este procedimento. No OE de ambos os grupos, não houve a transparência total em nenhum momento do período de avaliação o que não justificaria a avaliação de astigmatismo cirurgicamente induzido (ACI). Além disto, a reflexão das linhas do disco de Plácido (CARVALHO, 2005), devido à superfície opaca, não foi captada pelo videoceratoscópio, não permitindo a interpretação das informações topográficas. Apesar de BUSIN et al. (1998) recomendarem a VCC como método eficaz para a avaliação do ACI após as ceratoplastias,

neste experimento, devido ao alto grau de astigmatismo irregular observado em ambos os grupos, não foi possível quantificá-lo, impedindo a obtenção de resultados objetivos. Em uma análise fotográfica subjetiva, foi avaliado que, os olhos com alotransplante do GI e GII demonstraram mínima alteração da curvatura corneal não havendo diferença entre eles.

Neste experimento julgou-se desnecessárias as análises a luz da microscopia óptica por existirem muitas pesquisas que avaliam as reações da córnea ao adesivo (ELLIS; LEVINE, 1963; REFOJO et al., 1968; CARDARELLI; BASU, 1969; ARONSON et al., 1970; GASSET et al., 1970; OLLIVIER et al., 2001; VALERO et al., 2001)

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados desta pesquisa pode-se concluir que: o adesivo de cianoacrilato é eficiente na manutenção da aposição das bordas de botões corneais autógenos e alógenos. A técnica realizada é efetiva e pode ser aplicada nas condições descritas neste trabalho.

## FONTES DE AQUISIÇÃO

<sup>a</sup> Tono-Pen XL. Mentor Ophthalmics, Inc. California, EUA.

<sup>b</sup> Metilcelulose Ophthalmos ®. Laboratório Ophthalmos, São Paulo, Brasil.

<sup>c</sup> Algerbrush II. USA.

<sup>d</sup> Vetbond®. 3M do Brasil. Sumaré, SP.

<sup>e</sup> Fluoresceína. Allergan. Av. Guarulhos, 3180. CEP: 07030-000. Guarulhos, SP.

<sup>f</sup> Dexafenicol®. Allergan. Guarulhos, SP.

<sup>g</sup> Colírio de Cloranfenicol. Allergan. Av. Guarulhos, 3180. CEP: 07030-000. Guarulhos, SP.

<sup>h</sup> EyeSys System. EUA.

<sup>i</sup> CPD 030 critical point dryer. Balzers. Alemanha.

<sup>j</sup> Jeol, JSM 6060 LV, Tokyo, Japan.

<sup>k</sup> Ultrasonic pachymeter. Modelo pachette 2. DGH. EUA.

## COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem Estar Animal da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil e seguiu os critérios do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

## REFERÊNCIAS

BAHN, C.F. et al. Complications associated with bovine corneal endothelial cell-lined homografts in the cat. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.22, p. 73-90, 1982.

BERNIS, W.O. Ceratoplastia lamellar experimental em cães. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, v. 32, n. 3, p.305-323, 1980.

BRAGA, F.V.A. et al. Ceratoplastia com enxerto autógeno lamelar livre de córnea e pediculado de conjuntiva fixados com adesivo de cianoacrilato em cães. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1119-1126, 2004.

BROMBERG, N.M. Cyanoacrylate tissue adhesive for treatment of refractory corneal ulceration. **Veterinary Ophthalmology**. v. 5, n. 1, p. 55-60, 2002.

BUSIN, M.; MÖNKS, T.; AL-NAWAISEH, I. Different suturing techniques variously affect the regularity of postkeratoplasty astigmatism. **Ophthalmology**, v. 105, n. 7, p.1200-1205, 1998.

BUSSIERES, M. et al. The use of porcine small intestinal submucosa for the repair of full-thickness corneal defect in dogs, cats and horses. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 5, p. 352-359, 2004.

CARDARELLI, J.; BASU, P.K. Lamellar corneal transplantation in rabbits using isobutyl cyanoacrylate. **Canadian Journal of Ophthalmology**, v. 4, p. 179-182, 1969.

CARVALHO, L.A.V. Técnicas para facilitar o diagnóstico da topografia da córnea *in vivo*. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 68 n. 2, p. 205-212, 2005.

CHAHORY, C. et al. Intraocular pressure development after cataract surgery: a prospective study in 50 dogs (1998–2000). **Veterinary Ophthalmology**, v. 6, n. 2, p. 105-112, 2003.

DOUGHTY, M.J. et al. Shrinkage and distortion of the rabbit corneal endothelial cell mosaic caused by a high osmolality glutaraldehyde-formaldehyde fixative compared to glutaraldehyde. **Tissue & Cell**, v. 29, n. 5, p. 533-547, 1997.

DOUGHTY, M.J.; Oriowo, O.M.; Cullen, A.P. Morphometry of the corneal endothelium in glassblowers compared to non-glassblowers. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.67, p.130-138, 2002.

ELLIS, R.A.; LEVINE, A.M. Experimental sutureless ocular surgery. **American Journal of Ophthalmology**, v. 55, p. 733-741, 1963.

FORSTOT, S.L.; KAUFMAN, H.E. Corneal transplantation. **Annual Reviews of Medicine**, v. 28, p. 21-35, 1977.

GALERA, P.D.; LAUS, J.L.; FERREIRA, A.L. Use of fresh autogenous vaginal tunic in the experimental lamellar keratoplasty in dogs (*Canis familiaris*, LINNAEUS, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.37, n.6, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/bjvras>>. Acesso em out. 2007.

GODOY, C.S.O. et al. Análise das alterações na curvatura corneana com implante intraestromal: estudo experimental em coelhos. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 70, n. 2, p. 303-311, 2007.

GONÇALVES, G.F. **Ceratoplastia lamelar homóloga em cão com conservação em solução supersaturada de açúcar ou glicerina**. 2000. 54 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2000.

HAKANSON, N.E.; MERIDETH, R.E. Conjunctival pedicle grafting in the treatment of corneal ulcers in the dog and cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 23, p. 641-648, 1987.

HARCOURT-BROWN, F. Anaesthesia and analgesia in rabbits. In: 50° CONGRESSO NAZIONALE MULTISALA, 2005, Rimini, Italia. **Proceedings...** Rimini: SCIVAC, 2005. Capturado em out. 2007. Disponível em: [http://www.ivis.org/proceedings/scivac/2005/Harcourt6\\_en.pdf?LA=1](http://www.ivis.org/proceedings/scivac/2005/Harcourt6_en.pdf?LA=1)

HERRING, I.P. Corneal surgery: instrumentation, patient considerations and surgical principles. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 3, p. 152-160, 2003.

INTELIZANO, T. et al. **Técnicas de anestesia local**. In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G. Anestesia em cães e gatos. São Paulo: Roca, 2002. cap. 19, p. 199-208.

ISHIZAKI, M.M. et al. O n-butil cianoacrilato na lobectomia pulmonar parcial em felinos. Estudo experimental. **Ciência Rural**, v. 35, n. 1, p. 109-115, 2005.

KING Jr., J.H. Keratoplasty. **American Journal of Ophthalmology**, v. 43, n. 3, p. 353-380, 1957.

KULKARNI, R.K. et al. The *in vivo* metabolic degradation of poly(methyl cyanoacrylate) via thiocyanate. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 1, p. 11-16, 1967.

LANE, D. et al. Effect of Healon and Viscoat on outflow facility in human cadaver eyes. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 26, n. 2, p. 271-276, 2000.

LANGSTON, R.H.S. Técnicas em transplante de córnea. In: JAEFFE, N.S. **Atlas de cirurgia ocular**. São Paulo: Manole, 1993. cap. 2, p. 2.2-2.20.

LAUS, J.L. et al. Comparação entre ceratoplastias lamelares por enxertos autógenos, livres, de córnea e pediculados de conjuntiva. Estudo experimental no cão (*Canis familiaris* – LINNAEUS, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 33, n. 1, p. 41-46, 1996.

LASSALINE, M.E.; ANDREW, S.E.; BROOKS, D.E. Histologic analysis of keratectomy specimens from horses undergoing corneal transplantation for stromal abscess. **Veterinary Ophthalmology**, v. 5, n. 4, p. 286, 2002. 33 ANNUAL MEETING ACVO 2002

LEAHEY, A.B.; GOTTSCH, J.D.; STARK, W.J. Clinical experience with N-butyl cyanoacrylate (Nexacryl) tissue adhesive. **Ophthalmology**, v. 100, p. 173-180, 1993.

LEONARD, F. et al. Tissue adhesives and hemostasis-inducing compounds: the alkyl cyanoacrylates. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 1, p. 3-9, 1967.

MAMEDE, F.V. et al. Use of topical mitomycin C in myoplasty of the medial rectus muscle of rabbits. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 5, p. 335-342, 2004.

MCMAHON, T.T.; ANDERSON, R.J.; JOSLIN, C.E. Precision of Three Topography Instruments in Keratoconus Subjects. **Optometry and Vision Science**, v. 78, n. 8, p. 599-604, 2001.

MICHAU, T.M. et al. Findings from 16 consecutive cases of penetrating keratoplasty for deep stromal abscess in the horse (2001-2002). **Veterinary Ophthalmology**, v. 5, n. 4, p. 296, 2002. 33 ANNUAL MEETING ACVO 2002

MONTIANI-FERREIRA, F. et al. Early postnatal development of central corneal thickness in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 6, n. 1, p. 19-22, 2003.

MOSCHOS, M. et al. Clinical experience with cyanoacrylate tissue adhesive. **Documenta Ophthalmologica**, v. 93, p. 237-245, 1997.

OLLIVIER, F.; DELVERDIER, M.; REGNIER, A. Tolerance of the rabbit cornea to an n-butyl-ester cyanoacrylate adhesive (Vetbond®). **Veterinary Ophthalmology**, v. 4, n. 4, p. 1-6, 2001.

OLSON, L. et al. Effects of ultrasound on the corneal endothelium: I. The acute lesion. **British Journal of Ophthalmology**, v. 62, p. 134-144, 1978.

PELISSIER, P., CASOLI, V., LE BAIL, B., et al. Internal use of n-butyl 2-cyanoacrylate (Indermil) for wound closure: an experimental study. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 108, n. 6, p. 1661-1666, 2001.

PIGATTO, J.A.T. et al. Morphometric analysis of the corneal endothelium of Yacare caiman (*Caiman yacare*) using scanning electron microscopy. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 3, p. 205-208, 2004.

QUINN, J. et al. A randomized trial comparing octylcyanoacrylate tissue adhesive and sutures in the management of lacerations. **Journal of American Medical Association**, v. 277, n. 19, p. 1527-1530, 1997.

REFOJO, M.F. et al. Evaluation of adhesives for corneal surgery. **Archives of Ophthalmology**, v. 80, p. 645-656, 1968.

SAMPAIO, R.L. et al. Aspectos clínicos e imunopatológicos da ceratoplastia com membrana amniótica xenógena fresca e conservada em glicerina. Estudo experimental em coelhos. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 1077-1085, 2006.



STUMPF, S.; NOSÉ, W. Estudo do endotélio corneano em cirurgias de cataratas duras: extração extracapsular planejada da catarata e facoemulsificação. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 69, n. 4, p. 491-496, 2006.

TORIUMI, D.M. et al. Use of octyl-2-cyanoacrylate for skin closure in facial plastic surgery. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 102, n. 6, p. 2209-2219, 1998.

VANORE, M. et al. Surgical repair of deep melting ulcers with porcine small intestinal submucosa (SIS) graft in dogs and cats. **Veterinary Ophthalmology**, v. 10, n. 2, p. 93-99, 2007.

VASCONCELLOS, C.H.C.; MATERA, J.M.; DAGLI, M.L.Z. Clinical evaluation of random skin flaps based on the subdermal plexus secured with sutures or sutures and cyanoacrylate adhesive for reconstructive surgery in dogs. **Veterinary Surgery**, v. 34, p. 59-63, 2005.

VOTE, B.J.T; ELDER, M.J. Cyanoacrylate glue for corneal perforations : a description of a surgical technique and a review of the literature. **Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 28, p. 437-442, 2000

WATTÉ, C.M. et al. Clinical experience with butyl-2-cyanoacrylate adhesive in the management of canine and feline corneal disease. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 5, 2004.

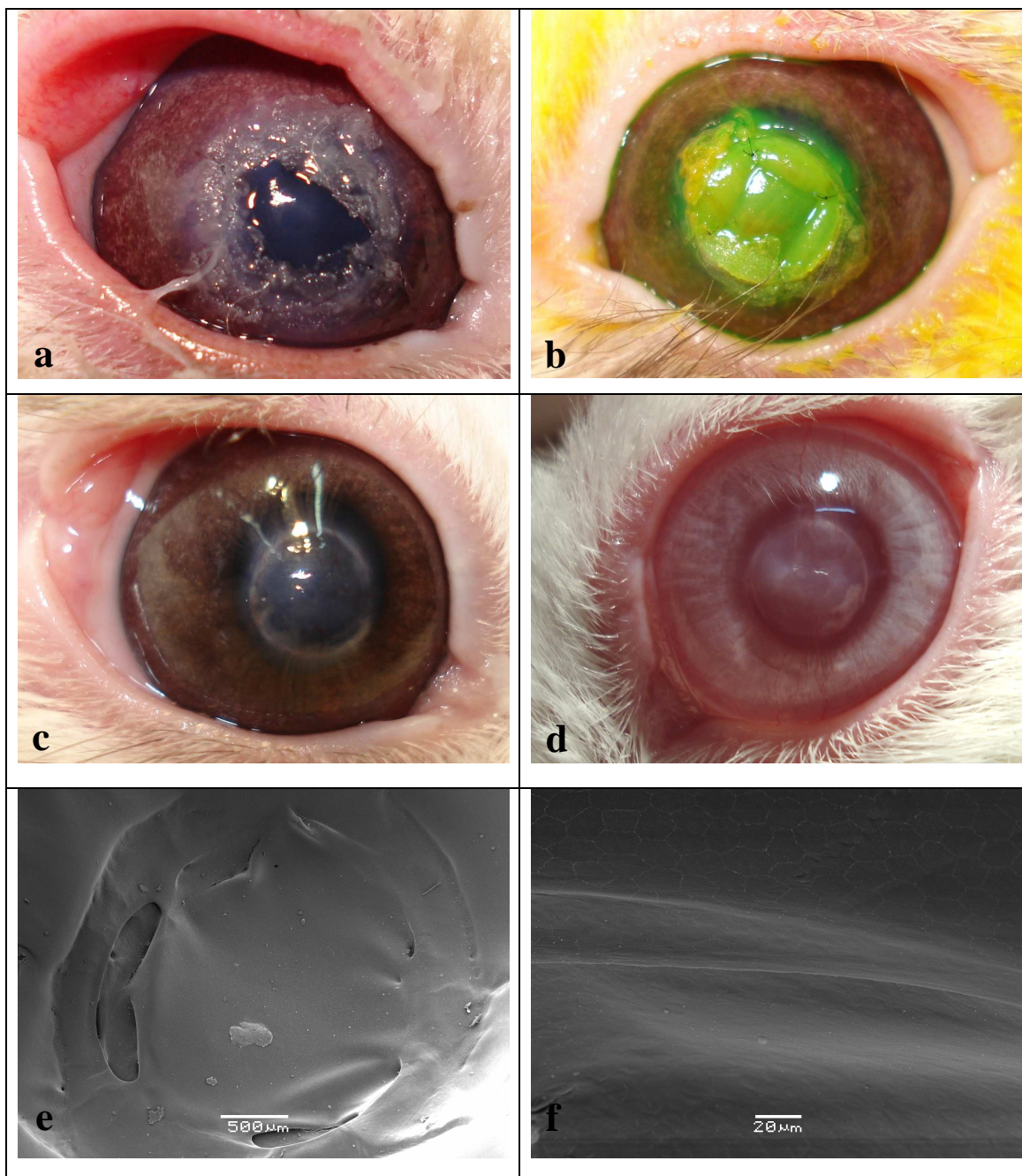
WERNER, L.; CHEW, J.; MAMALIS, N. Experimental evaluation of ophthalmic devices and solutions using rabbit models. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 5, p. 281-291, 2006.

WILKIE, D.A.; WHITTAKER, C. Surgery of the cornea. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 27, n. 5, p. 1067-1107, 1997.

WILKIE, D.A.; WILLIS, A. Viscoelastic materials in veterinary ophthalmology. **Veterinary Ophthalmology**. v. 2, p. 147-153, 1999.

ZAGERLBAUM, B.M.; SCHWARTZ, B.H.; NELSON, D.B. Accidental instillation of N-butyl cyanoacrylate into the anterior chamber. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 83, n. 7, p. 884, 1999.

ZALTA, A.H.; WIEDER, R.H. Closure of leaking filtering blebs with cyanoacrylate tissue adhesive. **British Journal of Ophthalmology**, v. 75, p. 170-173, 1991.



**Figura 1-** a) Autoenxerto de córnea fixado com adesivo de cianoacrilado. Paciente do GI, OD aos 2 dias de PO. Notar a presença do adesivo sobre as bordas do transplante. b) Aloimplante de córnea conservado em glicerina a 98% fixado com adesivo de cianoacrilado. Paciente do GI, OE aos 19 dias de PO. Notar a presença dos pontos cardinais e de parte do adesivo sobreposto às bordas. c) Autoenxerto de córnea fixado com adesivo de cianoacrilado. Mesmo paciente de “a” aos 90 PO. Notar a presença de leve opacidade no enxerto, ausência do adesivo e pontos. d) Aloimplante de córnea conservado em glicerina a 98% fixado com adesivo de cianoacrilado. Paciente do GI, OE aos 60 dias de PO. Notar ausência do adesivo e dos pontos, bem como ausência de vascularização e opacidade moderada. e) Autoenxerto de córnea fixado com adesivo de cianoacrilado. Notar falhas na aposição de bordas. Microscopia eletrônica de varredura (35X). f) Aloimplante de córnea fixado com adesivo de cianoacrilado. Detalhe da zona de transição demonstrando progressão de células endoteliais para o implante. Microscopia eletrônica de varredura (600X).

### 3.2 - Uso do auto e aloimplante de córnea conservado em glicerina a 98% na ceratoplastia penetrante em coelhos

The use of corneal auto and aloimplant preserved in 98% glycerin in penetrating keratoplasty in rabbits

#### **RESUMO**

A procura de alternativas para a substituição da córnea enferma é realizada de forma constante. O presente trabalho teve como objetivo, avaliar o uso do aloimplante de córnea conservado em solução de glicerina a 98% na ceratoplastia penetrante. Foram usados 8 coelhos os quais foram submetidos à ceratoplastia penetrante em ambos os olhos. No olho esquerdo, uma janela de 5 mm, recebeu o aloimplante conservado em glicerina. No olho direito a córnea removida do olho contralateral foi implantada em uma janela de 4 mm de diâmetro. Ambos os transplantes foram fixados com 8 pontos isolados simples com mononilon 10-0. Foram realizadas avaliações oftálmicas pós-operatórias (PO), paquimetria ultra-sônica e microscopia eletrônica por varredura. Foi verificada a integração de ambos os transplantes. O aloimplante incitou maior vascularização e permaneceu opaco em todos os animais até o final da avaliação aos 90 dias. Foi verificada a cobertura endotelial em todos os animais e, à paquimetria, foi verificada a diminuição da espessura conforme aumentavam os tempos de avaliação. Conclui-se que o aloimplante de córnea conservado em glicerina a 98% pode ser utilizado em ceratoplastia penetrante em coelhos permitindo a cobertura endotelial em toda a sua área.

Palavras-chave: implante; enxerto; transplante; medicina veterinária

#### **ABSTRACT**

The present research had the aim to evaluate the use of corneal alloimplant preserved in 98% glycerin solution in penetrant keratoplasty. Were used eight rabbits submitted to total keratoplasty in both eyes. In the left eye, a defect with 5 mm received the aloimplant (6 mm in diameter) preserved in 98% glycerin. In the right eye the removed cornea of the contralateral eye was implanted in a defect of 4 mm in diameter. Both transplants were fixed with 8 simple interrupted stitches with 10-0 mononylon. Pos-operative ophthalmic evaluation were done, and also ultrasound pachymetry and scanning electronic microscopy. It was verified the integration of both transplants. The alloimplant developed bigger vascularization and remained opaque in all animals till the end of the evaluation period, at the 90<sup>th</sup> days PO. In all animals an endothelial covering were noted and in the pachymetry it was verified a

decrease in the corneal thickness, as the observation time increases. It was concluded that the corneal aloimplant preserved in 98% glycerin can be used in penetrating keratoplasty in rabbits, allowing endothelial growing in all area.

Keywords: implant, graft, cornea, rabbit

## **INTRODUÇÃO**

A ulceração corneal é uma das doenças oculares mais comuns em cães, levando frequentemente a perda da visão (NASISSE, 1985). A terapia medicamentosa é recomendada isolada ou concomitante a procedimentos cirúrgicos em ulcerações superficiais e profundas onde o principal objetivo é o suporte mecânico e o cessamento da destruição corneal (LASSALINE, 2002; SLATTER; HAKANSON, 1998).

Os enxertos conjuntivais pediculados são citados por muitos autores como procedimentos de eleição em ulcerações profundas ou progressivas (HAKANSON; MERIDETH, 1987; HAKANSON et al., 1988; HABIN, 1995) sendo considerados de fácil realização em relação a outros procedimentos (LAUS et al., 1996; MARCHIONATTI, 1998). Suas vantagens são principalmente a possibilidade das estruturas ao redor do defeito poderem ser inspecionadas e o aporte vascular de substâncias com efeito anticolagenase (NASISSE, 1985; HABIN, 1995), entretanto, o uso desta técnica frequentemente cursa com a perda da visão no local onde são fixados (HAKANSON; MERIDETH, 1987).

Já as ceratoplastias, com seu uso corriqueiro em medicina humana (ACEDO, 1992), na medicina veterinária exibem algumas dificuldades como a necessidade de material especializado e, quando homólogas, demandam o uso de medicações imunossupressoras e necessitam de outros animais doadores (SLATTER; HAKANSON, 1998). BRIGHTMAN (1989) afirmou que o uso de córnea autógena sobrepõe estes últimos obstáculos. BERNIS, em 1980, recomendou esta técnica para o tratamento de algumas ceratopatias que impeçam parcial ou totalmente a visão como nas ceratectomias profundas com tendência a opacificação pós-operatória. WILKIE e WHITTAKER (1997) acrescentaram como indicações, o reparo de úlceras não perfuradas ou pequenas perfurações, as degenerações corneais e a restauração da espessura estromal.

Quando inexistente a possibilidade de implantação de um tecido autógeno (GALERA et al., 2000), os meios de conservação são aplicados para disponibilizar tecidos coletados previamente (KING Jr., 1957). Entre os meios utilizados, a glicerina tem boa disponibilidade, baixo custo e facilidade de manipulação (PIGOSSI, 1971; GONÇALVES, 2000; LAUS et al., 2000).

O uso da paquimetria ultra-sônica associada com a microscopia eletrônica de varredura permite que seja avaliada a função endotelial. As alterações da espessura corneal, bem como a perda de transparência do enxerto e as alterações na forma e número de células por unidade de área são indicativos da funcionalidade desta camada que atua como uma bomba, mantendo o relativo estado de desidratação da córnea (BAHN et al., 1982; DOUGHTY et al., 2002; MONTIANI-FERREIRA et al., 2003; PIGATTO et al., 2004; STUMPF; NOSÉ, 2006)

O presente trabalho teve por objetivos avaliar a glicerina na conservação de botões corneais alógenos para a ceratoplastia penetrante em coelhos, bem como avaliar a utilização deste tipo de material. Também avaliar se existe a progressão endotelial após sua transplantação.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizados 8 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), pesando entre 2,5 e 4Kg, com idades entre 5 e 7 meses, provenientes do Biotério Central da UFSM. Após o exame oftálmico que constou de oftalmoscopia monocular direta, teste da fluoresceína, teste da lágrima de Schirmer e tonometria por aplanção<sup>a</sup> e descartadas alterações que os desqualificassem para o experimento foram separados. Foram mantidos em gaiolas individuais apropriadas, recebendo água e ração comercial *ad libitum*, por um período de adaptação de 14 dias e durante todo o transcurso do experimento.

Os animais foram pré-medicados com uma associação de cloridrato de cetamina (25 mg.kg<sup>-1</sup>), cloridrato de xilazina (3 mg.kg<sup>-1</sup>) e sulfato de atropina (0,9 mg.kg<sup>-1</sup>) administrados através da mesma seringa por via intramuscular (IM). Foi procedida a intubação endotraqueal e a manutenção anestésica com a administração de isoflurano vaporizado com oxigênio a 100%. A fluidoterapia com solução fisiológica 0,9% foi fornecida através da veia marginal da orelha e a profilaxia antibiótica feita com o uso de enrofloxacin na dose de 10mg.kg<sup>-1</sup> IM. Foi realizada tricotomia peri-orbitária.

As córneas doadoras foram coletadas de coelhos que não tenham ido a óbito por doenças infecciosas ou metabólicas. A coleta foi realizada dentro de um período não superior a 30 minutos após o óbito. Após a remoção do bulbo do olho, a córnea foi removida através de incisão peri-limbal compreendendo 1 a 2 milímetros do tecido escleral. O material foi lavado em solução fisiológica, acondicionado em frascos limpos contendo a glicerina a 98% e mantido em temperatura ambiente por um período não inferior a 30 dias antes de seu uso.

Duas horas antes da cirurgia, e com intervalos de 30 minutos até seu início, foi instilada uma gota de colírio a base de cloranfenicol em ambos os olhos e, quando em plano

anestésico, foram instiladas duas gotas de colírio a base de cloridrato de tetracaína em cada olho.

Após a anti-sepsia, a delimitação do campo operatório e a blefarostase, o bulbo do olho foi fixado com fio mononailon 4-0 encastado de fábrica, através dos músculos reto superior e reto inferior e reparados com pinças hemostáticas de Halstead.

Imediatamente antes do procedimento cirúrgico, o implante alógeno foi removido do frasco (Figura 2a) e hidratado com Ringer com Lactato durante 15 minutos (GONÇALVES, 2000). A córnea hidratada (Figura 2b) foi colocada sobre um bloco de Teflon com a superfície endotelial voltada para cima e, com o uso de um trépano, um botão de espessura total de 6 mm de diâmetro foi obtido e posteriormente mantido em uma placa de Petri sobre um leito de viscoelástico<sup>b</sup> até o momento de sua utilização.

Com o objetivo de obter um botão corneal de espessura total, um trépano de 5 mm foi aplicado no centro da córnea do olho esquerdo, de forma penetrante. Após a perfuração inicial da câmara anterior, o botão foi removido com o auxílio de tesoura corneal e colocado em uma placa de petri, sobre um leito de viscoelástico.

Após a trepanação, o botão corneal conservado, obtido previamente, foi adaptado às margens da ferida corneal e sua fixação foi realizada com oito pontos em padrão interrompido simples utilizando-se mononailon 10-0 encastado de fábrica (Figura 1a).

No olho direito, realizou-se um procedimento semelhante ao descrito anteriormente, diferenciando-se somente pelo fato de ser feita uma ferida de 4 mm e, à esta, adaptado o enxerto autógeno coletado do olho esquerdo (Figura 1b).

Em todos os casos, após a abertura da câmara anterior e durante todo o procedimento era instilada heparina com auxílio de uma seringa.

No pós-operatório, como protocolo analgésico, foram aplicados cetoprofeno (1 mg.kg<sup>-1</sup> IM, três dias) e sulfato de morfina (1 mg.kg<sup>-1</sup>) de 6 em 6 horas durante 24 horas. Foi feita a aplicação de colírio a base de cloranfenicol<sup>c</sup> três vezes ao dia até ser obtido resultado negativo ao teste de fluoresceína. Após, foram mantidos com colírio a base de dexametasona<sup>d</sup> até os 60 dias de pós-operatório, quando foi suspenso.

O protocolo de avaliação no pós-operatório consistiu da realização dos testes de Seidel e da fluoresceína<sup>e</sup> para a avaliação de saída de humor aquoso e epitelização respectivamente. Sequecialmente eram utilizadas lupa de pala e lanterna para a verificação das reações de fotofobia, blefaroespasm, hiperemia conjuntival, edema, neovascularização e secreção ocular (serosa, sero-mucosa, mucosa, purulenta), quantificando-as segundo um padrão de cruces onde: 0 = ausente, + = leve, ++ = moderada e +++ = severa. Estes

procedimentos foram realizados diariamente até o 30º dia e semanalmente até o 90º dia de pós-operatório. Avaliações ao microscópio cirúrgico com aumentos de 16, 25 e 40 vezes também foram realizadas semanalmente durante todo o transcurso do experimento. Nestes momentos eram obtidas imagens através de uma placa de captura e câmera adaptada ao microscópio. Aos 30 dias os pontos foram removidos.

Aos 0 (T0 - antes dos procedimentos cirúrgicos), 60 (T60) e 90 (T90) dias de pós-operatório, foram obtidas medidas da espessura central da córnea com o uso de paquimetria ultra-sônica<sup>h</sup> (PU) e anestesia tópica com cloridrato de tetracaína.

Após os 90 dias de observação, os pacientes foram sedados com acepromazina IM (1 mg.kg<sup>-1</sup>), procedida a eutanásia com uma sobredose de tiopental sódico por via intravenosa e os olhos foram processados para a microscopia eletrônica de varredura (MEV) conforme descrito por DOUGHTY et al. (1997) evitando-se o uso do tetróxido de ósmio e substituindo-se o tampão de cacodilato com o uso de solução de glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato 0,1M e pH 7,4 e 7,6. As amostras foram secas em secador de ponto crítico<sup>f</sup> utilizando-se dióxido de carbono líquido, fixadas em porta-espécime, com fita condutiva de cobre e metalizadas com uma camada de ouro e paládio de 30nm de espessura. As imagens foram obtidas com um microscópio eletrônico de varredura<sup>g</sup> operado com 10 kv. Este procedimento também foi realizado com a córnea conservada. O processamento e análise foram feitos no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A assertiva de que existe uma busca constante por materiais que sirvam como substitutos para a córnea é verdadeira e, também os meios nos quais aqueles são conservados, demandam grande pesquisa (MOHAN et al., 1980; GALERA et al., 2000; GONÇALVES, 2000; LAUS et al., 2000; HOLLINGSWORTH, 2003; BUSSIERES et al., 2004).

O uso da ceratoplastia penetrante em Medicina Veterinária tem, como principal indicação, a presença de úlceras corneais graves profundas ou perfuradas, inclusive com a presença de abscesso estromal (NASISSE, 1985; LASSALINE, 2002; MICHAU et al., 2002; VANORE, 2007).

As córneas provenientes de cadáveres podem ser facilmente adquiridas. O fato dos meios conservantes manterem a viabilidade tecidual por longo tempo, permite que sejam montados bancos de tecidos para que, em casos de necessidades específicas, diversas alternativas estejam prontamente disponíveis.

Nesta pesquisa, apesar de não poder ser feita uma comparação direta dos resultados

obtidos entre os olhos esquerdos (aloimplante) e direitos (autoenxerto) devido aos tamanhos dos botões corneais utilizados de 6 e 5 mm respectivamente, alguns dados podem ser extrapolados na comparação. Isto é justificado pelo fato da responsabilidade ética e necessidade de minimização do uso de animais em experimentos.

A aplicação de anestesia dissociativa em coelhos de forma isolada, nos procedimentos oftálmicos é de uso comum por muitos pesquisadores (MAMEDE et al., 2004; TONELLI Jr. et al., 2004; SAMPAIO et al., 2006; WERNER et al., 2006), porém, BROWN (2007) comenta que o uso de anestesia inalatória torna o procedimento mais seguro com maior facilidade de controle do plano anestésico e melhor recuperação, relatando também a dificuldade de intubação em coelhos. Com o uso da técnica descrita por HARCOURT-BROWN (2005), este procedimento foi realizado sem maiores complicações.

O protocolo anestésico utilizado mostrou-se seguro e de fácil execução. Em humanos, a ceratoplastia penetrante pode ser realizada somente com bloqueio retrobulbar e/ou com anestesia tópica (HARAGUCHI et al., 2004). Em animais, este procedimento, assim como muitos outros procedimentos oftálmicos, não é recomendado somente com anestesia local, ficando esta técnica como um adjuvante ao protocolo anestésico empregado. BRAGA et al. (2004) recomendaram o uso de bloqueio retro-bulbar por verificarem que além de promover a centralização do bulbo do olho, é de fácil realização. Neste experimento, a centralização foi obtida através da fixação de suturas aos músculos retos. LANGSTON (1993) ainda cita o bloqueio retrobulbar como sendo uma técnica que causa aumento da pressão no vítreo e do volume orbitário, tornando-se perigosa quando usada em procedimentos que acessem o interior do bulbo do olho, como na ceratoplastia penetrante. Alguns autores citam que este tipo de técnica pode ocasionar alguns acidentes como injeção subaracnóidea, injeção intravascular e absorção sistêmica do anestésico local (INTELIZANO et al., 2002). À semelhança de BROMBERG (2002), o uso de colírio anestésico objetivou a suplementação do protocolo anestésico, aumentando a insensibilidade da córnea e conjuntiva aos procedimentos cirúrgicos.

A remoção dos pontos aos 30 dias seguiu a recomendação de SLATTER e HAKANSON, (1996). Neste instante já era verificada a integração do implante com a córnea receptora. A permanência do fio de sutura em procedimentos corneais muitas vezes suscita a vascularização e processo de fibrose ao redor dos pontos (VALERO, 2001).

A análise das avaliações oftálmicas realizadas, quanto ao tipo e quantificação das secreções, demonstrou que em alguns animais, nos autotransplantes, houve secreção seromucosa em grau leve enquanto os pontos estiveram presentes. Isto pode ter ocorrido devido



ao seu afrouxamento, resultando na irritação palpebral. Nos alotransplantes, houve secreção sero-mucosa enquanto não aconteceu a reepitelização, cessando logo após. No que diz respeito a presença de blefaroespasm, este existe devido ao ato cirúrgico em si que faz com que exista a exposição das terminações nervosas da córnea (KERN, 1990) sendo mantido, normalmente, até ocorrer a reepitelização desta. Foi verificado padrão semelhante ao observado por BARROS et al. (1995) e ANDRADE et al. (1999). Após a remoção dos pontos, houve blefaroespasm leve nos olhos com autotransplante por até 48 horas e, nos olhos contra-laterais, foi observado até os 30 dias PO (Figura 1a) cessando com a verificação da reepitelização. Ao teste da fluoresceína, nos autotransplantes, 24 horas após o procedimento cirúrgico já era verificada a ausência de impregnação. Nestes casos, como existe a aposição das bordas e existe uma ferida não complicada, a epitelização ocorre rapidamente (SLATTER; HAKANSON, 1998).

Dos 30 aos 60 dias de avaliação, houve graus variados de vascularização do aloimplante. Porém, os animais não apresentavam sinais de desconforto ocular (GALERA et al., 2000).

A manutenção da transparência do autoenxerto foi visualizada durante todo o transcurso do experimento (Figura 1d). WILKIE e WHITTAKER (1997) afirmam que os objetivos do enxerto alógeno fresco devem ser o restabelecimento óptico e não somente reconstrutivo e terapêutico. Já nos aloimplantes, a opacidade foi intensa em todos os casos (Figura 1c). ANDREW (1999) utilizou córnea a fresco em uma ceratoplastia de um cavalo que resultou em opacidade moderada e BARROS et al. (1998) utilizaram a membrana amniótica conservada e também obtiveram resultados semelhantes. O fato dos implantes permanecerem com opacidade não afeta sua utilidade pois podem ser perfeitamente usados com finalidades terapêuticas e tectônicas (HERRING, 2003).

O uso de um autotransplante de córnea só seria justificado em casos onde existam alterações nas vias neurológicas do sistema visual (retina, nervo óptico) resultando em um olho doador cego, porém com a córnea apresentando-se sadia e o olho receptor, contralateral necessitando de uma ceratoplastia penetrante (ACEDO, 1992).

A utilização de heparina é justificada pela liberação massiva de proteína que ocorre após a abertura da câmara anterior em coelhos (BAHN et al., 1982; WERNER et al., 2006). O uso deste artifício também deve ter contribuído para a baixa incidência de sinéquias anteriores apesar de não ter sido usada a atropina, como realizado por LAUS et al. (1999). BUSSIERES et al. (2004) verificaram a presença de sinéquias em seis de 9 cavalos e em 3 de 5 cães nos quais foi utilizada a submucosa intestinal de suínos em ceratoplastias penetrantes. Em nosso

estudo, dos 16 olhos operados, em apenas três ocorreram sinéquias (aloimplantes). Um olho em posição periférica (Figura 2d) e dois nos quais a sinéquia ocorreu no centro do implante, impedindo a progressão endotelial em toda a sua extensão.

Segundo PIGATTO et al. (2004), a MEV permite a avaliação morfológica e morfométrica das células endoteliais. Estas células são responsáveis pela manutenção da transparência da córnea (BAHN et al., 1982; DOUGHTY et al., 2002) e seu funcionamento deficiente leva ao edema e conseqüente aumento progressivo de sua espessura (STUMPF; NOSÉ, 2006). A avaliação das córneas à MEV demonstrou em todos os olhos, a continuidade da camada endotelial, com presença de células com 4, 5, 6 e sete lados, inclusive nos aloimplantes do OE demonstrando a capacidade mitótica destas células em coelhos (OLSON et al., 1978) já que em humanos e gatos esta capacidade é limitada (HUANG et al., 1989). Nas córneas controle, a apresentação endotelial revelou afastamento de bordas e irregularidade no formato celular (Figura 2c).

A média dos valores da espessura corneal em T0, T60 e T90 para o OD foi de  $389\pm 18\mu\text{m}$ ,  $392\pm 15$  e  $387\pm 14$  respectivamente demonstrando pouca variação na espessura entre estes tempos. No OE, em T0 a média foi de  $388\pm 20\mu\text{m}$ . A realização da paquimetria do OE no PO, somente foi possível em um animal ( $933\mu\text{m}$ ). Isto provavelmente ocorreu devido ao desarranjo estrutural que ocorre com a cicatrização do implante, pois GOMES et al. (2006) afirmaram que as medidas com o paquímetro ultra-sônico são obtidas através da passagem do som do final do transdutor até a membrana de Descemet e seu retorno até ele novamente. O uso apenas de contenção física e anestesia local da córnea permitiu que fossem obtidos os valores de espessura dos enxertos com precisão estando de acordo com as afirmações de MONTIANI-FERREIRA et al. (2003) de que a grande vantagem desta técnica é evitar o uso desnecessário de sedativos. Segundo STUMPF e NOSÉ (2006) a PU avalia indiretamente o funcionamento do endotélio corneal e esta avaliação é mais próximo à realidade que somente a avaliação da anatomia celular pois a espessura corneal está diretamente relacionada ao funcionamento das células endoteliais. Entretanto, apesar da demonstração da progressão endotelial nos OE, no único caso possível de se medir a espessura no PO, verificou-se que o valor era o dobro do verificado em T0. Além disto, houve opacidade em todos os implantes, levando-nos ao questionamento sobre a funcionalidade do endotélio, mesmo que esteja presente.

A utilização de botão doador com 1 mm a mais que o leito receptor foi sugerida por GALERA et al. (2000) e BUSSIERES et al. (2004). Esta manobra diminui as chances de astigmatismo pós-operatório e facilita a aposição das bordas da ferida e aplicação dos pontos.

A técnica de conservação e hidratação da córnea conservada foi de fácil exequibilidade. KING Jr. (1957) utilizou córneas caninas conservadas em glicerina, porém, com processo extremamente moroso, complicado e, conseqüentemente caro, desqualificando-o para o uso na clínica diária.

Alguns autores utilizam-se de tarsorrafia temporária ou de enxerto conjuntival pediculado para a proteção do tecido implantado (BERNIS, 1980; BUSSIERES et al., 2004; VANORE et al., 2007). Não existem dúvidas quanto a utilidade destas técnicas no auxílio à cicatrização do implante, porém, em nosso caso, estes procedimentos impediriam o acompanhamento e avaliação oftálmica nos períodos iniciais de pós-operatório, perdendo-se valiosa informação (GONÇALVES, 2000).

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados desta pesquisa pode-se concluir que: a glicerina a 98% pode ser usada na conservação de botões corneais de espessura total para a ceratoplastia penetrante com fins tectônicos em coelhos nas condições apresentadas neste trabalho havendo a progressão endotelial sobre o implante transplantado.

## FONTES DE AQUISIÇÃO

- <sup>a</sup> Tono-Pen XL. Mentor Ophthalmicis, Inc. California, EUA.
- <sup>b</sup> Metilcelulose Ophthalmos ®. Laboratório Ophthalmos, São Paulo, Brasil.
- <sup>c</sup> Colírio de Cloranfenicol. Allergan. Av. Guarulhos, 3180. CEP: 07030-000. Guarulhos, SP.
- <sup>d</sup> Dexafenicol®. Allergan. Guarulhos, SP.
- <sup>e</sup> Fluoresceína. Allergan. Av. Guarulhos, 3180. CEP: 07030-000. Guarulhos, SP.
- <sup>f</sup> CPD 030 critical point dryer. Balzers. Alemanha.
- <sup>g</sup> Jeol, JSM 6060 LV, Tokyo, Japan.
- <sup>h</sup> Ultrasonic pachymeter. Modelo pachette 2. DGH. EUA.

## COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este experimento constou com a aprovação do Comitê de Ética e Bem Estar Animal da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil e foi desenvolvido segundo os critérios do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

## REFERÊNCIAS

ACEDO, J.T. **Queratoplastias y queratoprótesis**. 2 ed. Barcelona: Edika-med S.A., 1992. Cap. 5: Queratoplastia laminar: p.65-128.

ANDRADE, A.L. et al. The use of preserved equine renal capsule to repair lamellar corneal lesions in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 2, p. 79-82, 1999.

- ANDREW, S. et al. Corneal endothelial cell counts and corneal thickness in normal horses. 30<sup>th</sup> annual meeting of the American College of Veterinary Ophthalmologists, Chicago, IL, USA. November 3-7, 1999. **Veterinary Ophthalmology**, v. 2, p. 255-266, 1999.
- BAHN, C.F. et al. Complications associated with bovine corneal endothelial cell-lined homografts in the cat. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.22, p. 73-90, 1982.
- BARROS, P.S.M. et al. The surgical repair of the cornea of the dog using pericardium as a keratoprosthesis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 32, n. 4, p. 251-255, 1995.
- BARROS, P.S.M. et al. The use of xenologous amniotic membrane to repair canine corneal perforation created by penetrating keratectomy. **Veterinary Ophthalmology**, v. 1, p. 119-123, 1998.
- BERNIS, W.O. Ceratoplastia lamellar experimental em cães. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, v. 32, n. 3, p.305-323, 1980.
- BRAGA, F.V.A. et al. Ceratoplastia com enxerto autógeno lamelar livre de córnea e pediculado de conjuntiva fixados com adesivo de cianoacrilato em cães. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1119-1126, 2004.
- BROMBERG, N.M. Cyanoacrylate tissue adhesive for treatment of refractory corneal ulceration. **Veterinary Ophthalmology**. v. 5, n. 1, p. 55-60, 2002.
- BROWN, S. Part one: taking the fear out of rabbit anesthesia. In: **Chicago House Rabbit Society**. Disponível na internet: <http://www.hrschicago.org/anesthesia1.html>. 2007.
- BUSSIERES, M. et al. The use of porcine small intestinal submucosa for the repair of full-thickness corneal defect in dogs, cats and horses. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 5, p. 352-359, 2004.
- DOUGHTY, M.J.; Oriowo, O.M.; Cullen, A.P. Morphometry of the corneal endothelium in glassblowers compared to non-glassblowers. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 67, p. 130-138, 2002.
- GALERA, P.D.; LAUS, J.L.; FERREIRA, A.L. Use of fresh autogenous vaginal tunic in the experimental lamellar keratoplasty in dogs (*Canis familiaris*, LINNAEUS, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.37, n.6, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/bjvras>>. Acesso em out. 2007.
- GOMES, H.R. et al. Paquimetria ultra-sônica de córneas de caninos e suínos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 2, p. 193-199, 2006.
- GONÇALVES, G.F. **Ceratoplastia lamelar homóloga em cão com conservação em solução supersaturada de açúcar ou glicerina**. 2000. 54 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2000.

HABIN, D. Conjunctival pedicle grafts. **In Practice**, v. 17, n. 2, p. 61-65, 1995.

HAKANSON, N.; LORIMER, D.; MERIDETH, R.E. Further comments on conjunctival pedicle grafting in the treatment of corneal ulcers in the dog and cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 24, n. 6, p. 602-605, 1988.

HAKANSON, N.E.; MERIDETH, R.E. Conjunctival pedicle grafting in the treatment of corneal ulcers in the dog and cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 23, p. 641-648, 1987.

HARAGUCHI, D.K.M. et al. Uso de transplante de membrana amniótica no tratamento da ceratopatia bolhosa. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 66, p. 121-124, 2003.

HARCOURT-BROWN, F. Anaesthesia and analgesia in rabbits. In: 50° CONGRESSO NAZIONALE MULTISALA, 2005, Rimini, Italia. **Proceedings...** Rimini: SCIVAC, 2005. Capturado em out. 2007. Disponível em: [http://www.ivis.org/proceedings/scivac/2005/Harcourt6\\_en.pdf?LA=1](http://www.ivis.org/proceedings/scivac/2005/Harcourt6_en.pdf?LA=1)

HERRING, I.P. Corneal surgery: instrumentation, patient considerations and surgical principles. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 3, p. 152-160, 2003.

HOLLINGSWORTH, S.R. Corneal surgical techniques. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 3, p. 161-167, 2003.

HUANG, P.T.; NELSON, L.R.; BOURNE, W.M. The morphology and function of healing cat corneal endothelium. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 30, n. 8, p. 1794-1801, 1989.

INTELIZANO, T. et al. **Técnicas de anestesia local**. In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G. Anestesia em cães e gatos. São Paulo: Roca, 2002. cap. 19, p. 199-208.

KERN, T.J. Ulcerative keratitis. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 643-666, 1990.

LANGSTON, R.H.S. Técnicas em transplante de córnea. In: JAEFFE, N.S. **Atlas de cirurgia ocular**. São Paulo: Manole, 1993. cap. 2, p. 2.2-2.20.

KING Jr., J.H. Keratoplasty. **American Journal of Ophthalmology**, v. 43, n. 3, p. 353-380, 1957.

LASSALINE, M.E.; ANDREW, S.E.; BROOKS, D.E. Histologic analysis of keratectomy specimens from horses undergoing corneal transplantation for stromal abscess. **Veterinary Ophthalmology**, v. 5, n. 4, p. 286, 2002.

LAUS, J.L. et al. Comparação entre ceratoplastias lamelares por enxertos autógenos, livres, de córnea e pediculados de conjuntiva. Estudo experimental no cão (*Canis familiaris* –

LINNAEUS, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 33, n. 1, p. 41-46, 1996.

LAUS, J.L.; FERREIRA, A.L.; ANDRADE, A.L. Emprego de escama de sardinha (*Sardinella brasiliensis* - STEIDACHNER, 1859), conservada em glicerina, em ceratoplastias lamelares experimentais em cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 37, n. 1, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/bjvras>>. Acesso em: out. 2007.

MAMEDE, F.V. et al. Use of topical mitomycin C in myoplasty of the medial rectus muscle of rabbits. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 5, p. 335-342, 2004.

MARCHIONATTI, A.E. **Análise comparativa entre flape de conjuntiva bulbar e transposição córneo-conjuntival no tratamento de úlcera corneana não infectada junto ao estroma médio do cão**. 80 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1998.

MICHAU, T.M. et al. Findings from 16 consecutive cases of penetrating keratoplasty for deep stromal abscess in the horse (2001-2002). **Veterinary Ophthalmology**, v. 5, n. 4, p. 296, 2002.

MOHAN, M.; VERMA, S.K.; MUKHERJEE, G. Preservation of cornea in honey. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 28, p. 211-214, 1980.

MONTIANI-FERREIRA, F. et al. Early postnatal development of central corneal thickness in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 6, n. 1, p. 19-22, 2003.

NASSISE, M.P. Canine ulcerative keratitis. **Compendium on Continuing Education**, v. 7, p. 686-701, 1985.

OLSON, L. et al. Effects of ultrasound on the corneal endothelium: I. The acute lesion. **British Journal of Ophthalmology**, v. 62, p. 134-144, 1978.

PIGATTO, J.A.T. et al. Morphometric analysis of the corneal endothelium of Yacare caiman (*Caiman yacare*) using scanning electron microscopy. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 3, p. 205-208, 2004.

PIGOSSI, N. Estudo experimental e clínico sobre o emprego, como implante, da dura-máter homogênea conservada em glicerina à temperatura ambiente. **Rev Ass Med Brasil**, v. 17, n. 8, p. 263-278, 1971.

SAMPAIO, R.L. et al. Aspectos clínicos e imunopatológicos da ceratoplastia com membrana amniótica xenógena fresca e conservada em glicerina. Estudo experimental em coelhos. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 1077-1085, 2006.

SLATTER, D., HAKANSON, N. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. v. 2. Cap. 86. p. 1436-1461.

STUMPF, S.; NOSÉ, W. Estudo do endotélio corneano em cirurgias de cataratas duras: extração extracapsular planejada da catarata e facoemulsificação. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 69, n. 4, p. 491-496, 2006.

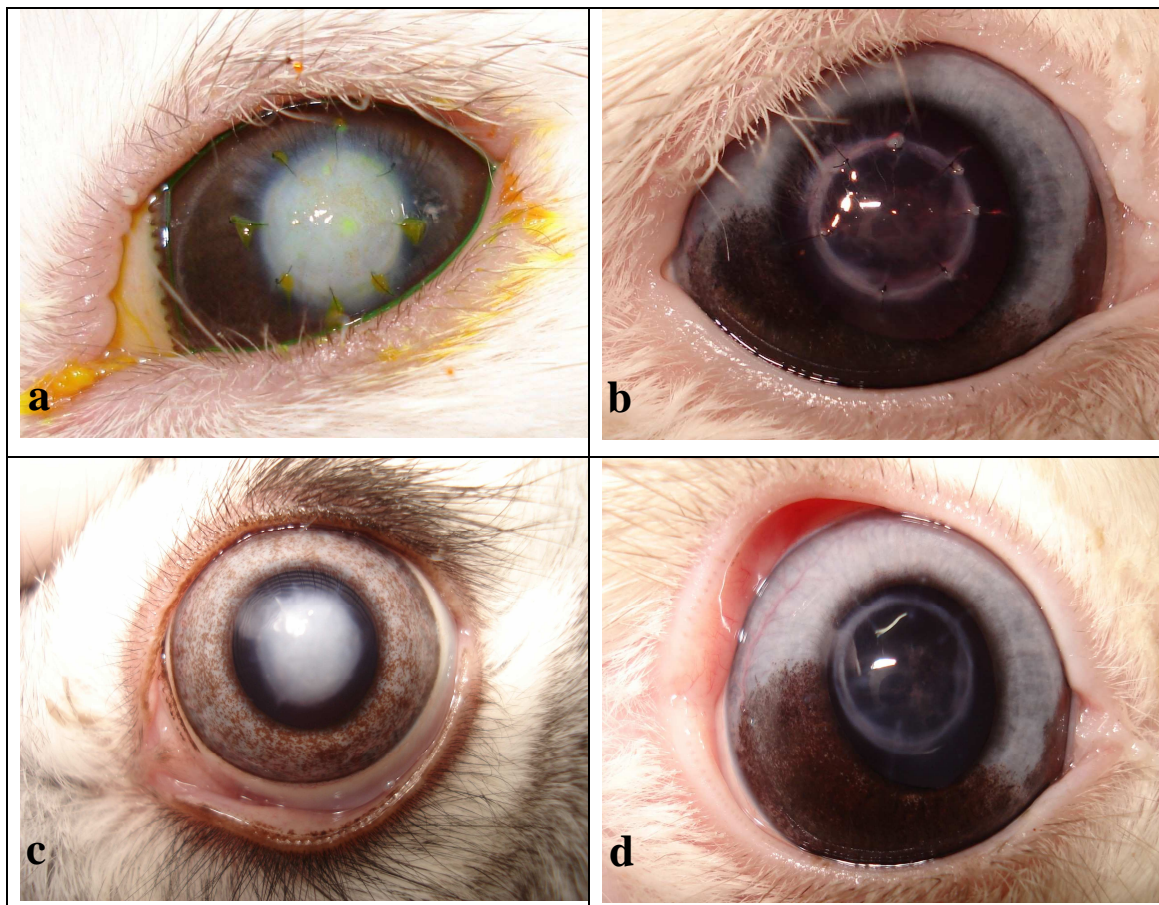
TONELLI Jr., E.; ALMEIDA, H.C.; BAMBIRRA, E.A. Tissue Adhesives for a Sutureless Fadenoperation: An Experimental Study in a Rabbit Model. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 45, n. 12, p. 4340-4345, 2004.

VALERO, M.C.A.; HOMS, E.M.; SANZ, J.L.A. Bioadhesivos en cirugía ocular. **Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología**, n. 9, 2001. Disponível em: <<http://www.oftalmo.com/seo>>. Acesso em nov. 2002.

VANORE, M. et al. Surgical repair of deep melting ulcers with porcine small intestinal submucosa (SIS) graft in dogs and cats. **Veterinary Ophthalmology**, v. 10, n. 2, p. 93-99, 2007.

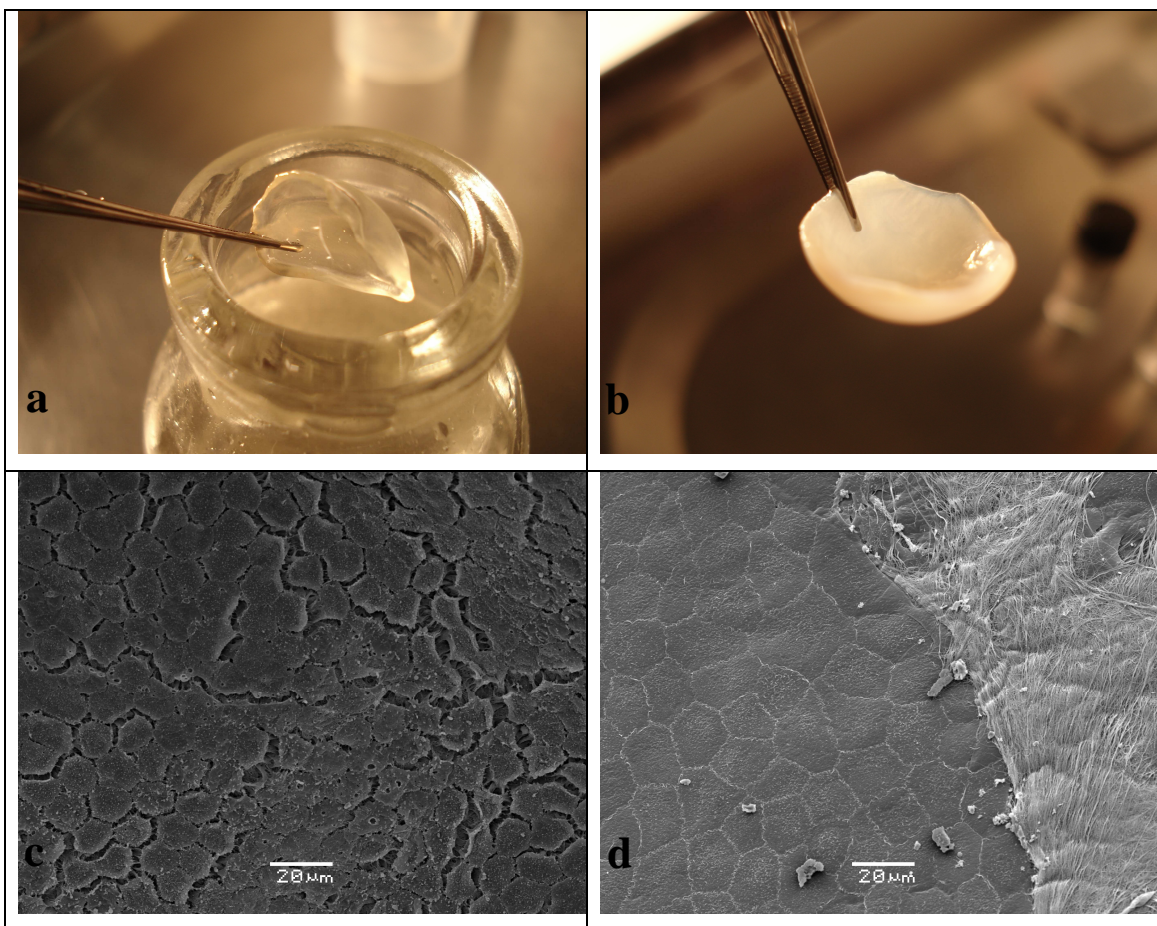
WERNER, L.; CHEW, J.; MAMALIS, N. Experimental evaluation of ophthalmic devices and solutions using rabbit models. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 5, p. 281-291, 2006.

WILKIE, D.A.; WHITTAKER, C. Surgery of the cornea. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 27, n. 5, p. 1067-1107, 1997.



**Figura 1-** a) Aloimplante conservado em glicerina a 98% utilizado em ceratoplastia penetrante em coelhos, OE. Notar a presença de pontos e pequena área de fluoresceína positiva no centro do implante aos 24 dias PO. b) Autoenxerto de córnea em ceratoplastia penetrante em coelho, OD. 14 dias de PO. Notar a integração da córnea ao leito, ausência de vascularização e total transparência. c) Aloimplante conservado em glicerina a 98% utilizado em ceratoplastia penetrante em coelhos, OE. Aos 90 dias de PO o implante está totalmente integrado a córnea. Notar a ausência de vascularização corneal e conjuntival e opacidade presente. d) Autoenxerto de córnea em ceratoplastia penetrante em coelho, OD. Mesmo animal de “b” aos 90 dias PO. A córnea está transparente e não reativa.





**Figura 2-** a) Córnea de coelho conservada em glicerina a 98% em temperatura ambiente. Notar a transparência ao ser retirada do meio de conservação. b) Córnea de coelho conservada em glicerina a 98% em temperatura ambiente. A transparência deu lugar ao aspecto opaco após 15 min. de hidratação. c) Microscopia eletrônica de varredura da superfície endotelial de córnea de coelho conservada em glicerina e posteriormente hidratada. A separação de bordas entre as células é evidente. (700X) d) Microscopia eletrônica de varredura da superfície endotelial de córnea de coelho (OE). Notar a região de celularidade endotelial sobre o aloimplante aos 90 PO (esquerda) e região de sinéquia anterior periférica (direita). (700X)

## 4 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados desta pesquisa pode-se concluir que:

- A glicerina a 98% pode ser usada na conservação de botões corneais alógenos de espessura total para a ceratoplastia penetrante em coelhos
- Os botões corneais alógenos conservados em glicerina podem ser utilizados em ceratoplastias penetrante com fins tectônicos em coelhos, mantendo sua opacidade até o final de 90 dias de avaliação;
- Existe a progressão endotelial sobre os implantes conservados e implantados;
- O adesivo de cianoacrilato é eficiente na aposição das bordas de botões corneais autógenos e alógenos constituindo-se em mais uma alternativa na fixação de transplantes corneais;
- A técnica desenvolvida e realizada para a aplicação do adesivo é eficiente e pode ser aplicada nas condições apresentadas neste trabalho sendo de execução mais rápida que a fixação tradicional por pontos isolados.

## 5 REFERÊNCIAS

ABRAMOV, V.G.; MARKICHEVA, N.A. Therapeutic lamellar keratoplasty with honey preserved material. **Oftalmol Zh**, v. 38, n. 2, p. 81-83, 1983.

ACEDO, J.T. **Queratoplastias y queratoprótesis**. 2 ed. Barcelona: Edika-med S.A., 1992. Cap. 5: Queratoplastia laminar: p.65-128.

ANDRADE, A.L. et al. The use of preserved equine renal capsule to repair lamellar corneal lesions in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 2, p. 79-82, 1999.

ANDREW, S. et al. Corneal endothelial cell counts and corneal thickness in normal horses. **Veterinary Ophthalmology** v. 2, p. 255-266. 1999.

ANDREW, S.E. et al. Penetrating keratoplasty for treatment of corneal protrusion in a great horned owl (*Bubo virginianus*). **Veterinary Ophthalmology**, v. 5, n.3, p. 201-205, 2002.

ANDREW, S.E. Corneal stromal abscess in a horse. **Veterinary Ophthalmology**, v. 2, p. 207-211, 1999.

ARNDT, C.; REESE, S.; KÖSTLIN, R. Preservation of canine and feline corneoscleral tissue in Optisol GS. **Veterinary Ophthalmology**, v. 4, n. 3, p. 175-182, 2001.

AWE, W.C., ROBERTS, W., BRAUNWALD, N.S. Rapidly polymerizing adhesive as a hemostatic agent: study of tissue response and bacteriological properties. **Surgery**. v.54, n.2, p.322-328, 1963.

BAHN, C.F. et al. Complications associated with bovine corneal endothelial cell-lined homografts in the cat. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.22, p. 73-90, 1982.

BANKS, W. J. **Historia veterinária aplicada**. 2 ed. Rio de Janeiro: Manole, p. 87-94, 1991.

BARROS, P.S.M. et al. The surgical repair of the cornea of the dog using pericardium as a keratoprosthesis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 32, n. 4, p. 251-255, 1995.

BARROS, P.S.M. et al. The use of xenologous amniotic membrane to repair canine corneal perforation created by penetrating keratectomy. **Veterinary Ophthalmology**, v. 1, p. 119-123, 1998.

BELTRAME, G. et al. Corneal topographic changes induced by different oblique cataract incisions. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.27, p.720-727, 2001.

BERNIS, W. Further trials with partial penetrating keratoplasty in dogs. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, v. 13, p. 69-96, 1960/1.

- BERNIS, W.O. Ceratoplastia lamellar experimental em cães. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, v. 32, n. 3, p.305-323, 1980.
- BRAGA, F.V.A. et al. Ceratoplastia com enxerto autógeno lamelar livre de córnea e pediculado de conjuntiva fixados com adesivo de cianoacrilato em cães. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1119-1126, 2004.
- BRIGHTMAN, A.H.; McLAUGHLIN, S.A.; BROGDON, J.D. Autogenous lamellar corneal grafting in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.195, n.4, p.469-475,1989.
- BROMBERG, N.M. Cyanoacrylate tissue adhesive for treatment of refractory corneal ulceration. **Veterinary Ophthalmology**. v. 5, n. 1, p. 55-60, 2002.
- BROOKS, D.E. et al. Penetrating keratoplasty, deep lamellar endothelial keratoplasty, and posterior lamellar keratoplasty in the horse. Visual outcome in 105 cases (1993-2004). **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n.6, p. 425-435, 2004.
- BRANDÃO, C.V.S. et al. Mensuração da espessura corneana em ovinos com paquimetria ultra-sônica e microscopia especular de não contato. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 2, p. 10-12, 2006.
- CARDARELLI, J.; BASU, P.K. Lamellar corneal transplantation in rabbits using isobutyl cyanoacrylate. **Canadian Journal of Ophthalmology**, v. 4, p. 179-182, 1969.
- CARVALHO, L.A.V.; BRUNO, O.M. Técnicas diferentes para análise de imagens de Plácido podem melhorar precisão da videoceratografia. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 68, n. 6, p. 797-805, 2005.
- CARVALHO, L.A.V. Técnicas para facilitar o diagnóstico da topografia da córnea *in vivo*. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 68 n. 2, p. 205-212, 2005.
- COOK, C.S., PEIFFER, R.L. Complications of ocular surgery. **Compendium on Continuing Education**. v.7, n.9, p.710-720, 1985.
- DELLEVIGNE, W., et al. Cyanoacrylate monomers as an adhesive. **Archives of Surgery**. v. 102, p. 493-495, 1971.
- DOUGHTY, M.J. Are there geometric determinants of cell area in rabbit and human corneal endothelial cell monolayers? **Tissue & Cell**, v. 30, n. 5, p. 537-544, 1998.
- DOUGHTY, M.J.; Oriowo, O.M.; Cullen, A.P. Morphometry of the corneal endothelium in glassblowers compared to non-glassblowers. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. V.67, p.130-138, 2002.
- EIFERMAN, R.A., SNYDER, J.W. Antibacterial effect of cyanoacrylate glue. **Archives of Ophthalmology**. v.101, p. 958-960, 1983.
- ELLIS, R.A.; LEVINE, A.M. Experimental sutureless ocular surgery. **American Journal of Ophthalmology**, v. 55, p. 733-741, 1963.

FEATHERSTONE, H.J.; SANSOM, J.; HEINRICH, C.L. The use of porcine small intestinal submucosa in ten cases of feline corneal disease. **Veterinary Ophthalmology**, v. 4, n. 2, p. 147-153, 2001.

FELBERG, S. et al. Adesivo de cianoacrilato no tratamento de afinamentos e perfurações corneais: técnica e resultados. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 66, n. 3, p. 345-349, 2003.

FORSTOT, S.L.; KAUFMAN, H.E. Corneal transplantation. **Annual Reviews of Medicine**, v. 28, p. 21-35, 1977.

GALERA, P.D.; LAUS, J.L.; FERREIRA, A.L. Use of fresh autogenous vaginal tunic in the experimental lamellar keratoplasty in dogs (*Canis familiaris*, LINNAEUS, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.37, n.6, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/bjvras>>. Acesso em out. 2007.

GIONFRIDO, J.R.; POWELL, C.C. Primary closure of the corneas of two Great Horned owls after resection of nonhealing ulcers. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 4, p. 251-254, 2006.

GIOSO, M.A.; BENITES, N.R.; KAMPF, G. Análise Microbiológica de ossos de cães conservados por longo período de tempo na glicerina a 98% à temperatura ambiente, objetivando a enxertia óssea. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, n. 4, 2002.

GONÇALVES, G.F. **Ceratoplastia lamelar homóloga em cão com conservação em solução supersaturada de açúcar ou glicerina**. 2000. 54f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2000.

HACKER, D.V. Frozen corneal grafts in dogs and cats: a report on 19 cases. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v. 27, p. 387-398, 1991.

HAKANSON, N.E., MERIDETH, R.E. Conjunctival pedicle grafting in the treatment of corneal ulcers in the dog and cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v. 23, p. 641-648, 1987.

HANSEN, P.A.; GUANDALINI, A. A retrospective study of 30 cases of frozen lamellar corneal graft in dogs and cats. **Veterinary Ophthalmology**, v. 2, p. 233-241, 1999.

HELPER, L.C., BLOGG, R. A modified third eyelid flap procedure. **Journal of American Animal Hospital Association**. v. 19, p. 955-956, 1983.

HERRING, I.P. Corneal surgery: instrumentation, patient considerations and surgical principles. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 3, p. 152-160, 2003.

HOLLINGSWORTH, S.R. Corneal surgical techniques. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 3, p. 161-167, 2003.

ISHIZAKI, M.M. et al. O n-butil cianoacrilato na lobectomia pulmonar parcial em felinos. Estudo experimental. **Ciência Rural**, v. 35, n. 1, p. 109-115, 2005.

JONAS, J.B.; RANK, R.M.; BUDDE, W.M. Immunologic Graft Reactions After Allogenic Penetrating Keratoplasty. **American Journal of Ophthalmology**, v. 133, n. 4, p. 437-443, 2002.

KARABATSAS, C.H.; COOK, S.D.; SPARROW, J.M. Proposed classification for topographic patterns seen after penetrating keratoplasty. **British Journal of Ophthalmology**, v. 83, p. 403-409, 1999.

KING Jr., J.H. Keratoplasty. **American Journal of Ophthalmology**, v. 43, n. 3, p. 353-380, 1957.

KLYCE, S. Introduction to keratoscopy. In: **Corneal topography**. New Jersey: Slack, 1996. cap. 1, p. 3-8.

KULKARNI, R.K. et al. The *in vivo* metabolic degradation of poly(methyl cyanoacrylate) via thiocyanate. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 1, p. 11-16, 1967.

KUS, M.M. et al. Endothelium and pachymetry of clear corneal grafts 15 to 33 years after penetrating keratoplasty. **American Journal of Ophthalmology**, v. 127, n. 5, p. 600-602, 1999.

LANGENBUCHER, A. et al. Spontaneous long-term changes of corneal power and astigmatism after suture removal after penetrating keratoplasty using a regression model. **American Journal of Ophthalmology**, v. 140, n. 1, p. 29-34, 2005.

LANGSTON, R.H.S. Técnicas em transplante de córnea. In: JAEFFE, N.S. **Atlas de cirurgia ocular**. São Paulo: Manole, 1993. cap. 2, p. 2.2-2.20.

LASSALINE, M.E.; ANDREW, S.E.; BROOKS, D.E. Histologic analysis of keratectomy specimens from horses undergoing corneal transplantation for stromal abscess. **Veterinary Ophthalmology**, v. 5, n. 4, p. 286, 2002.

LAUS, J.L. et al. Comparação entre ceratoplastias lamelares por enxertos autógenos, livres, de córnea e pediculados de conjuntiva. Estudo experimental no cão (*Canis familiaris* – LINNAEUS, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 33, n. 1, p. 41-46, 1996.

LAUS, J.L.; FERREIRA, A.L.; ANDRADE, A.L. Emprego de escama de sardinha (*Sardinella brasiliensis* - STEIDACHNER, 1859), conservada em glicerina, em ceratoplastias lamelares experimentais em cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 1, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/bjvras>>. Acesso em: out. 2007.

LEONARD, F. et al. Tissue adhesives and hemostasis-inducing compounds: the alkyl cyanoacrylates. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 1, p. 3-9, 1967.

MAZZANTI, A. et al. Músculo diafragma homólogo conservado em solução supersaturada de açúcar para reparação de grande defeito no diafragma de cão. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 277-283, 2001.

MCMAHON, T.T.; ANDERSON, R.J.; JOSLIN, C.E. Precision of Three Topography

Instruments in Keratoconus Subjects. **Optometry and Vision Science**, v. 78, n. 8, p. 599-604, 2001.

MERLIN, U. The elements of keratoscopy. In: **Corneal topography**. New Jersey: Slack, 1996. cap. 2.2, p. 15-44.

MÓDIS, L.; LANGENBUCHER, A.; SEITZ, B. Corneal thickness measurements with contact and noncontact specular microscopic and ultrasonic pachymetry. **American Journal of Ophthalmology**, v. 132, n. 4, p. 517-521, 2001.

MOHAN, M.; VERMA, S.K.; MUKHERJEE, G. Preservation of cornea in honey. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 28, p. 211-214, 1980.

MONTIANI-FERREIRA, F. et al. Early postnatal development of central corneal thickness in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 6, n. 1, p. 19-22, 2003.

MORREALE, R.J. Corneal diagnostic procedures. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 3, p. 145-151, 2003.

NASSISE, M.P. Canine ulcerative keratitis. **Compendium on Continuing Education**. v. 7, p. 686-701, 1985.

OLLIVIER, F.; DELVERDIER, M.; REGNIER, A. Tolerance of the rabbit cornea to an n-butyl-ester cyanoacrylate adhesive (Vetbond®). **Veterinary Ophthalmology**, v. 4, n. 4, p. 1-6, 2001.

PANCHBAI, V.S.; KULKARNI, P.E. Penetrating corneal transplantation in Buffalo calves – III. (Autogenous and Homogenous Grafts). **Indian Veterinary Journal**, v. 64, p. 223-226, 1987.

PIGATTO, J.A.T; et al. Análise morfométrica do endotélio corneano de coelhos à microscopia eletrônica de varredura. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 1, p. 41-45, 2005.

PIGOSSI, N. Estudo experimental e clínico sobre o emprego, como implante, da dura-máter homogênea conservada em glicerina à temperatura ambiente. **Rev Ass Med Brasil**, v. 17, n. 8, p. 263-278, 1971.

PIPPI, N.L.; SAMPAIO, A.J.S. A Estudos preliminares sobre o comportamento do biofill na ceratoplastia lamelar em coelhos. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v. 20, n. 3-4, p. 297-302, 1990.

PRIETO, L.A. et al. Utilização da cápsula esplênica de bovinos conservada em glicerina na ceratoplastia lamelar em coelhos. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 29., 2002, Gramado. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, 2002. Cd-rom.

QUINN, J.V., et al. N-2-butylcyanoacrylate: risk of bacterial contamination with an appraisal of its antimicrobial effects. **The Journal of Emergency Medicine**. v. 13, n. 4, p. 581-585, 1995.

RABINOWITZ, Y.S. Corneal topography: optics and clinical applications. In: **Duane's**

**Clinical Ophthalmology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998. v. 1, cap. 15, p.1-15

RAO, G.N.; LOHMAN, L.E.; AQUAVELLA, J.V. Cell size-shape relationships in corneal endothelium. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 22, p. 271-274, 1982.

REFOJO, M.F. et al. Evaluation of adhesives for corneal surgery. **Archives of Ophthalmology**, v. 80, p. 645-656, 1968.

REGIS-PACHECO, L.F. **Endotélio corneano**: microscopia eletrônica de varredura no transplante de córnea. 1997. 93f. Tese (Doutorado em Medicina) – Universidade Federal de São paulo - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1997.

RODRIGUES, G.N.; LAUS, J.L.; SANTOS, J.M. Corneal endothelial cell morphology of normal dogs in different ages. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 2, p. 101-107, 2006.

ROSENTHAL, A.R., et al. Use of a platelet-fibrinogen-thrombin mixture as a corneal adhesive: experiments with sutureless lamellar keratoplasty in the rabbit. **Investigative Ophthalmology**. v. 14, n. 11, p. 872-875, 1975.

SCHAEFER, T.M.; ABIB, F.C., JUNIOR, J.B. Estudo da morfologia endotelial em usuários de lentes de contato acrílicas. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 65, p. 239-242, 2002.

SEVERIN, G.A. **Veterinary Ophthalmology notes**. 2. ed. Colorado: College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, 1976. Cap. 10: Cornea – Ulcerative keratitis, general considerations. p.169-185.

SHIMAZAKI, J, et al. Randomized Clinical Trial of Deep Lamellar Keratoplasty Vs Penetrating Keratoplasty. **American Journal of Ophthalmology**, v. 134, n. 2, p. 159-165. 2002.

SILVER, I.A. Tissue adhesives. **The Veterinary Record**. v. 98, p. 405-406, 1976.

SLATTER, D., HAKANSON, N. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. v. 2. Cap. 86. p. 1436-1461.

STUMPF, S.; NOSÉ, W. Estudo do endotélio corneano em cirurgias de cataratas duras: extração extracapsular planejada da catarata e facoemulsificação. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 69, n. 4, p. 491-496, 2006.

TARAVELLA, M.J., CHANG, C.D. 2-octyl cyanoacrylate medical adhesive in treatment of a corneal perforation. **Cornea**. v. 20, n. 2, p. 220-221, 2001.

TI, S.E. et al. Therapeutic keratoplasty for advanced suppurative keratitis. **American Journal of Ophthalmology**, v. 143, n. 5, p. 755-762, 2007.

TONELLI Jr., E.; ALMEIDA, H.C.; BAMBIRRA, E.A. Tissue Adhesives for a Sutureless Fadenoperation: An experimental study in a rabbit model. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 45, n. 12, p. 4340-4345, 2004.



TORIUMI, D.M., et al. Histotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesives. **Archives of Otolaryngology - Head & Neck Surgery**, v. 116, p. 546-549, 1990.

TORIUMI, D.M. et al. Use of octyl-2-cyanoacrylate for skin closure in facial plastic surgery. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 102, n. 6, p. 2209-2219, 1998.

VALERO, M.C.A., HOMS, E.M., SANZ, J.L.A. Bioadhesivos en cirugía ocular. **Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología**, n.9, 2001. Disponível em: <<http://www.oftalmo.com/seo>>. Acesso em nov. 2002.

van der WOERDT, A.; GILGER, B.C.; WILKIE, D.A. Penetrating keratoplasty for treatment of recurrent squamous cell carcinoma of the cornea in a horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 208, p. 1692-1694, 1996

VOTE, B.J.T; ELDER, M.J. Cyanoacrylate glue for corneal perforations : a description of a surgical technique and a review of the literature. **Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 28, p. 437-442, 2000

WATTÉ, C.M. et al. Clinical experience with butyl-2-cyanoacrylate adhesive in the management of canine and feline corneal disease. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 5, 2004.

WERNER, L.; CHEW, J.; MAMALIS, N. Experimental evaluation of ophthalmic devices and solutions using rabbit models. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 5, p. 281-291, 2006.

WILKIE, D.A.; WHITTAKER, C. Surgery of the cornea. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 27, n. 5, p. 1067-1107, 1997.

YAGOUBI, M.I. et al. Effects of irrigation solutions on corneal endothelial Function. **British Journal of Ophthalmology**, v. 78, p. 302-306, 1994.

ZAGERLBAUM, B.M.; SCHWARTZ, B.H.; NELSON, D.B. Accidental instillation of N-butyl cyanoacrylate into the anterior chamber. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 83, n. 7, p. 884, 1999.