

## AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE UM NOVO ADESIVO PARA FINS BIOLÓGICOS (COLAGEL) NA CERATOPLASTIA EXPERIMENTAL EM CÃES

### EVALUATION OF THE EFFECTS OF A NEW ADHESIVE FOR BIOLOGICAL PURPOSE (COLAGEL) IN EXPERIMENTAL KERATOPLASTY IN DOGS

José Luiz LAUS<sup>1</sup>; Marcos Antonio ROSSI<sup>2</sup>; Mirian Siliane Batista de SOUZA<sup>3</sup>; Paulo Sérgio de Moraes BARROS<sup>4</sup>; Adriana MORALES<sup>5</sup>

#### RESUMO

Com o objetivo de se avaliar os efeitos de um novo adesivo para fins biológicos (Colagel) na ceratoplastia experimental, empregaram-se 21 animais da espécie canina, sem raça definida, machos e fêmeas e considerados saudáveis. Adotaram-se protocolos de estudo para avaliação aos 1, 3, 7, 14, 21, 30 e 60 dias de pós-operatório, segundo parâmetros clínicos e histológicos. Os resultados obtidos no decurso e ao término da pesquisa mostraram que a mistura gel-adesiva, na formulação e concentrações apresentadas, possibilitou o surgimento de quadro inflamatório de grande significado clínico e não contribuiu com a evolução do processo cicatricial.

**UNITERMOS:** Córnea, cirurgia; Cães

#### INTRODUÇÃO E LITERATURA

Porção da túnica fibrosa que reveste a superfície anterior do globo ocular, a córnea, naturalmente brilhante, transparente e avascular, cumpre essencialmente as funções de manutenção da forma do olho, refração dos raios luminosos incidentes e sua transmissão aos fotorreceptores da retina.

O desempenho destas funções exige a integridade de toda a túnica que, no cão e em outras espécies, diferentemente do homem, é constituída por quatro camadas distinguíveis macroscopicamente: epitélio, estroma, membrana de Descemet e endotélio. No homem inclui-se a membrana de Bowman, não descrita no cão.

O epitélio é do tipo pavimentoso estratificado não queratinizado e representa uma continuação do epitélio conjuntival bulbar. Compreende várias camadas de células poliédricas ancoradas sobre uma membrana basal que promove a adesão do epitélio ao estroma adjacente. Este é formado por fibras colágenas, tipo I e II, dispostas em forma de placas paralelas e por fibroblastos "achatados" (queratócitos) responsáveis pela formação e manutenção das lamelas fibrosas, perfazendo cerca de 90% da espessura total da córnea. Leucócitos e outros componentes também estão presentes (SAMUELSON<sup>10</sup>, 1991). A membrana de Descemet é acelular e aparentemente homogênea, embora à microscopia eletrônica se observem duas camadas pobremente definidas. Uma, adjacente ao estroma, consiste em colágeno tipo II, que se espessa com a idade, e outra tipicamente constituída por membrana basal.

No todo, trata-se de membrana elástica e, portanto, sujeita à protrusão. A face caudal da córnea, revestida pelo endotélio, que mais se traduz em mesotélio, é formada por uma camada única de células "achatadas" e estreitamente interdigitadas que compõem barreira natural ao humor aquoso contido na câmara anterior.

Endotélio e epitélio intactos controlam o grau de hidratação da túnica; já o estroma apresenta marcada afinidade pela água. Neste contexto, assume maior importância o endotélio, pois perdas teciduais mínimas implicam em acentuado edema. Outrossim, as células que o compõem não agem apenas como barreira, mas sobretudo como bomba dependente de energia que carrega água para o humor aquoso, não obstante a pressão intra-ocular contrária (LAVACH<sup>21</sup>, 1990). De forma análoga, perda de porções do epitélio invariavelmente levam ao edema por afluxo de água do filme pré-corneal para o estroma (SLATTER<sup>11</sup>, 1990).

Outros fatores responsáveis pela transparência, amontam o tamanho e a disposição das fibras colágenas, fibras nervosas amielínicas, epitélio não queratinizado e, finalmente, ausência de vasos e de pigmentação.

Nutrição e eliminação de catabólitos são desempenhadas pela lágrima, humor aquoso e vasos do limbo. Aporte de oxigênio se faz diretamente da atmosfera e, não menos, da vasculatura limbal. O suprimento nervoso é rico e suas terminações, como exposto, são desmielinizadas. O epitélio é innervado por receptores da dor, e o estroma por resorceptores. Tal

1 - Professor Assistente Doutor - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal da UNESP

2 - Professor Titular - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP

3 - Acadêmico de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal da UNESP

4 - Professor Associado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

5 - Acadêmico de Pós-Graduação em Patologia Animal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal da UNESP

inervação é fruto das ramificações dos nervos ciliares longos, oriundos do ramo oftálmico do nervo trigêmeo. Os axônios das terminações epiteliais formam o ramo eferente do reflexo corneal, de importância para os anestesistas.

Conhecendo-se as características e funções da córnea, torna-se possível inferir que processos patológicos nela sediados não raro comprometem a visão. Neste particular, destacam-se as úlceras, afecções caracterizadas por perdas teciduais de epitélio e quantidades variáveis de estroma, acompanhadas ou não por edema, vascularização e dor. Entre as mais comuns desordens oculares, congregam a principal causa de perda da visão no cão (STARTUP<sup>13</sup>, 1984) e no homem (VAUGHAN; ASBURY<sup>16</sup>, 1977). A manutenção da integridade visual requer, portanto, diagnóstico rápido e preciso, bem como terapia apropriada.

Face à importância da entidade, muitos estudos têm se voltado à compreensão do processo mórbido, aspectos etiológicos e, mormente, às condutas terapêuticas. Neste particular, os agentes implicados traduzem-se em traumas, anormalidades palpebrais, ciliares e do aparelho lacrimal (VAUGHAN; ASBURY<sup>16</sup>, 1977; NELSON; MacMILLAN<sup>28</sup>, 1988; KERN<sup>18</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990). Infecções bacterianas, micóticas e virais, deficiências nutricionais e causas neurotróficas são também imputadas (STARTUP<sup>13</sup>, 1984; HELPER<sup>14</sup>, 1989; PORTNOY et al.<sup>35</sup>, 1989), bem como estresse e desequilíbrios orgânicos (NASISSE<sup>27</sup>, 1985), entre outros ainda não determinados.

Via de regra, as ceratites ulcerativas são classificadas em superficiais, profundas, serpiginosas ou dendríticas, nutricionais e neuroparalíticas. Nos quadros superficiais, o epitélio tende a reorganizar-se através de mitoses e deslizamentos de células em direção centrípeta (PERUCCIO<sup>31</sup>, 1983; NASISSE<sup>27</sup>, 1985; LAFORGE<sup>32</sup>, 1989; SLATTER<sup>41</sup>, 1990). A reparação pode ser influenciada pela enervação simpática, hormônios, fatores do crescimento e outros mensageiros químicos, requerendo integridade da membrana basal para adesão do epitélio recém-formado ao estroma (KERN<sup>18</sup>, 1990). Durante a migração, melanócitos provenientes do limbo podem ser carreados às áreas transparentes, com conseqüente pigmentação (SLATTER<sup>41</sup>, 1990). A lesão torna-se grave se o agente persiste, se os mecanismos de reparo estão inibidos ou, mais comumente, se há invasão por microorganismos produtores de proteases, colagenases, fibrinolisinases e lipases, que acentuam a destruição tecidual (NASISSE<sup>27</sup>, 1985; SLATTER<sup>41</sup>, 1990). Enzimas líticas são igualmente liberadas por células do epitélio e estroma (NASISSE<sup>27</sup>, 1985; HELPER<sup>14</sup>, 1989; KERN<sup>18</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990), bem como por leucócitos e fibroblastos (NELSON; MacMILLAN<sup>28</sup>, 1988; KERN<sup>18</sup>, 1990). Neste particular, HACKER et al.<sup>13</sup>, 1990) estudando animais da espécie equina relataram a ocorrência de ceratite ulcerativa

colagenolítica sem contaminação micótica ou bacteriana. Paralelamente, mostrou-se que o processo enzimático de liquefação, uma vez iniciado, pode tornar-se autônomo persistindo mesmo após eliminarem-se os microorganismos (NASISSE<sup>27</sup>, 1985).

Lesões que envolvem o estroma se regeneram mais lentamente e, em muitos casos, dependem de neovascularização apropriada (PERUCCIO<sup>31</sup>, 1983), embora possam ocorrer curas em condições de avascularidade (PEIFFER JUNIOR et al.<sup>10</sup>, 1987). Imediatamente após a lesão, tem-se migração de leucócitos oriundos dos vasos da conjuntiva ou do filme lacrimal, seguindo-se edema do estroma adjacente com rápida proliferação e migração fibroblásticas. As fibras colágenas produzidas arranjam-se irregularmente, resultando em cicatriz opaca que pode desaparecer ou persistir na forma de nébula, mácula ou leucoma. Em sítios vascularizados, a infiltração celular é mais acentuada e a cicatriz formada mais densa (SLATTER<sup>41</sup>, 1990). Ainda no tocante à significância da densidade cicatricial, há estreita relação com a profundidade da lesão primária.

Condutas terapêuticas fundamentam-se no alívio dos sinais clínicos e, sobretudo, na profilaxia de descemetoceloses e perfurações totais. Neste contexto, os procedimentos clínicos amontam terapia antimicrobiana, cicloplégica, de lubrificação ocular, cauterização química, complementação alimentar e, ainda, soluções ou pomadas hiperosmóticas. A eficácia de agentes anticolagenolíticos ainda exhibe controvérsias (STARTUP<sup>13</sup>, 1984; NASISSE<sup>27</sup>, 1985; HELPER<sup>14</sup>, 1989; KERN<sup>18</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990).

Casos mais graves e/ou crônicos requerem condutas cirúrgicas voltadas à correção dos defeitos anatômicos, prevenção ou reparo das perfurações, proteção da superfície corneal durante a cicatrização, neutralização dos efeitos de enzimas líticas e prevenção das ulcerações recorrentes. Os procedimentos variam segundo as indicações e nenhum, isoladamente, se aplica a todas as situações.

Os primeiros relatos sobre cirurgia em córnea reportam-se ao final do século XVIII, por QUENGSY<sup>37</sup> que em 1789 sugeriu a substituição da túnica lesada por um disco de vidro fixado por pontos com fio de seda, em REISINGER<sup>38</sup> 1824, realizou transplantes de córnea de galinha e coelho e, em 1844, KISSAM<sup>19</sup> transplantou córnea lamelar de porco para o homem. LARSSON<sup>23</sup> (1948) foi o pioneiro na utilização de tecidos autólogos para o recobrimento de perfurações, empregando enxerto escleral. Muitos outros o seguiram baseando seus estudos na heterotransplantação (CHAVAN; KING<sup>9</sup>, 1960; ROCHA<sup>39</sup>, 1963), com resultados nem sempre satisfatórios. Achados mais alentadores foram obtidos com técnicas de auto e homotransplantação de córnea (BERNIS<sup>3</sup>, 1961; JENSEN<sup>17</sup>, 1963; DICE et al.<sup>10</sup>, 1973; McLAUGHLIN

et al.<sup>25</sup>, 1984; HACKER<sup>12</sup>, 1988; BRIGHTMAN et al.<sup>7</sup>, 1989).

Estudos empregando outros tecidos no reparo de lesões corneais foram igualmente conduzidos, merecendo destaque os enxertos de periósteo por KOENING; KAUFMAN<sup>20</sup> (1983) e PORTNOY et al.<sup>35</sup> (1989), e de pericárdio por BARROS et al.<sup>2</sup> (1990). Destacam-se ainda os métodos empregando conjuntiva, como os recobrimentos parciais ou totais (GUNDERSEN<sup>11</sup>, 1958; STARTUP<sup>12, 43</sup>, 1972; KUHNS<sup>21</sup>, 1979; NASISSE<sup>27</sup>, 1984; PORTNOY et al.<sup>35</sup>, 1989; LAVACH<sup>21</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990; BROOKS<sup>8</sup>, 1991), os enxertos pediculados (STARTUP<sup>13</sup>, 1984; PEIFFER JUNIOR et al.<sup>30</sup>, 1987; BLOGG et al.<sup>5</sup>, 1989; HACKER et al.<sup>13</sup>, 1990; KERN<sup>18</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990; BROOKS<sup>8</sup>, 1991; WOLF<sup>50</sup>, 1991) e, finalmente, os enxertos livres (THOFT<sup>44, 45</sup>, 1977; STARTUP<sup>13</sup>, 1984; NASISSE<sup>27</sup>, 1985; PEIFFER JUNIOR et al.<sup>30</sup>, 1987; HACKER et al.<sup>13</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990; BROOKS<sup>8</sup>, 1991). Neste particular, THOFT<sup>44</sup>, (1977) indicou o uso de enxertos conjuntivais livres como fonte de células superficiais do epitélio. Posteriormente, em 1982, o mesmo autor salientou vantagens relativas à cicatrização rápida, boa adesão do epitélio ao estroma adjacente, opacidade corneal diminuída e superfície lisa após reparação.

BLOGG et al.<sup>5</sup> (1989) estudaram a eficiência dos enxertos pediculados de conjuntiva pós-cerectomia nos seqüestros de córnea em felinos, com resultados satisfatórios. Segundo os autores, a técnica é ainda capaz de minimizar o surgimento de nevaso-corneais, pois o pedículo conjuntival, ricamente irrigado, oferece nutrição e oxigenação satisfatórias.

HACKER et al.<sup>13</sup> (1990) empregaram os modelos de enxertos livres e pediculados no reparo de úlceras colagenolíticas em eqüinos, relatando cicatrização rápida, sem, no entanto, exercer comparação entre os mesmos.

Técnicas adjutórias envolvendo recobrimentos com terceira pálpebra (BARNET<sup>1</sup>, 1966; HELPER; BLOGG<sup>15</sup>, 1983; STARTUP<sup>13</sup>, 1984; BLOGG; DUTTON<sup>4</sup>, 1987; PEIFFER JUNIOR et al.<sup>30</sup>, 1987; SLATTER<sup>41</sup>, 1990) e tarsorralias (NASISSE<sup>27</sup>, 1985; HELPER<sup>14</sup>, 1989; PORTNOY et al.<sup>35</sup>, 1989; KERN<sup>18</sup>, 1990) foram indicadas no tratamento conservativo de lesões superficiais.

A diversidade de proposições engloba, ainda, desde suturas diretas (PEIFFER JUNIOR et al.<sup>30</sup>, 1987; HELPER<sup>14</sup>, 1989; KERN<sup>18</sup>, 1990; WHITLEY<sup>49</sup>, 1991), transposições córneo-

esclerais (PARSHALL<sup>29</sup>, 1973; POWEL<sup>36</sup>, 1986; PEIFFER JUNIOR et al.<sup>30</sup>, 1987; SLATTER<sup>41</sup>, 1990; WHITLEY<sup>49</sup>, 1991) córneo-conjuntivais (KERN<sup>18</sup>, 1990) e adesivos (WEBSTER et al.<sup>47</sup>, 1968; PERUCCIO et al.<sup>32</sup>, 1983; WENDLER et al.<sup>48</sup>, 1983; MAGUEN et al.<sup>26</sup>, 1984; NASISSE<sup>27</sup>, 1985; PEYRET<sup>33</sup>, 1986; PORTNOY et al.<sup>35</sup>, 1989) a lentes de contato flexíveis (STARTUP<sup>13</sup>, 1984; NASISSE<sup>27</sup>, 1985; HERMANN<sup>16</sup>, 1989; PORTNOY et al.<sup>35</sup>, 1989) e película celulósica (PIPPI; SAMPAIO<sup>34</sup>, 1990; BRICK<sup>6</sup>, 1991).

Com a pesquisa "Avaliação Dos Efeitos De Um Novo Adesivo Para Fins Biológicos (Colagel) Na Ceratoplastia Experimental No Cão", pretendeu-se estudar uma nova variante técnica para a terapia de lesões avulsivas em córnea, onde as perdas teciduais não raro evoluem para a subtração da visão. Os objetivos se voltaram a este fim tendo em vista a frequência com que afecções corneais acometem os animais e o homem e, adjutoriamente, a necessidade, cada vez mais premente, de no contexto das proposições terapêuticas encontrar-se aquela cujos princípios amontem eficiência, executabilidade, baixos custos, praticidade e inexistência de efeitos colaterais estimuladores do processo lítico.

Os estudos foram experimentalmente conduzidos em cães e os resultados analisados à luz da macroscopia e microscopias óptica e eletrônica de transmissão.

## MATERIAL E MÉTODO

### Animais

Empregaram-se 21 animais da espécie canina, sem raça definida, machos e fêmeas, adultos, com peso médio de 8 kg, considerados sadios. Previamente à seleção e montagem dos grupos experimentais, estes foram submetidos à oftalmoscopia de rotina, teste de Schirmer, fluoresceína e tonometria por identificação e posteriormente mantidos em canis individuais de experimentação animal.

### Grupos Experimentais

Constituíram-se 7 grupos experimentais compostos por 3 cães, respectivamente designados: G1, G2, G3, G4, G5, G6 e G7 para avaliação aos 1, 3, 7, 14, 21, 30 e 60 dias de pós-operatório.

### Procedimentos Cirúrgicos Comuns aos Animais

Previamente às condutas operatórias, procederam-se os cuidados relativos a jejum hídrico e alimentar por 12 horas, pré-medicação anestésica à base de clorpromazina\* na dose de 1 mg/kg de peso corpóreo por via intravenosa, anestesia geral com tiobarbitúrico\*\* na dose média de 12,5 mg/kg de peso

\* Amplitiel - Rhodia  
\*\* Thionembutal - Abbott  
\*\*\* Halotano - Hoechst  
\*\*\*\* Colagel - Cirumédica S.A.  
\*\*\*\*\* Microscópio Estereoscópico - MC - M9 - DF Vasconcelos  
\*\*\*\*\* Epítezan - Frumptost

corpóreo, por via intravenosa e manutenção com anestésico halogenado\*\*\* e oxigênio, por inalação em circuito fechado.

Estando os animais sob efeito de anestesia geral, realizaram-se as condutas pertinentes ao trans-operatório. Para tanto, e com objetivos voltados à produção de úlceras experimentais, após rigorosa anti-sepsia e preparo rotineiro de campo operatório, instituíram-se a blefasostase e fixação do globo ocular (os estudos foram realizados em apenas um dos olhos). A seguir, por meio de trépano de 5 mm de diâmetro aplicado sobre a porção central da córnea, de forma penetrante, produziu-se um botão lamelar compreendendo epitélio e parte do estroma (Fig. 1). Em seqüência, realizou-se a aplicação do adesivo\*\*\*\*, seguindo as orientações do fabricante: fração polimerizante (formaldeído) sobre fração gel-adesiva (gelatina-resorcina), com tempo de secagem de 1 a 2 minutos (Fig. 2). Estes procedimentos foram conduzidos com auxílio de pipetas de micromanipulação e microscópio cirúrgico\*\*\*\*\*.

Para a verificação do total atapetamento da úlcera pelo material adesivo, imediatamente, após concluídas as manobras relativas à sua aplicação, realizou-se teste de fluoresceína que se seguiu nos dias subseqüentes, para investigação da adesividade e tempo de permanência sobre as lesões. Não menos, e como procedimentos adjutórios, procedeu-se, a intervalos de 8 horas, aplicação de pomada oftálmica\*\*\*\*\*

com fins profiláticos. Para que fatores comportamentais não interferissem com a evolução dos fenômenos, os animais foram mantidos com "colar protetor".

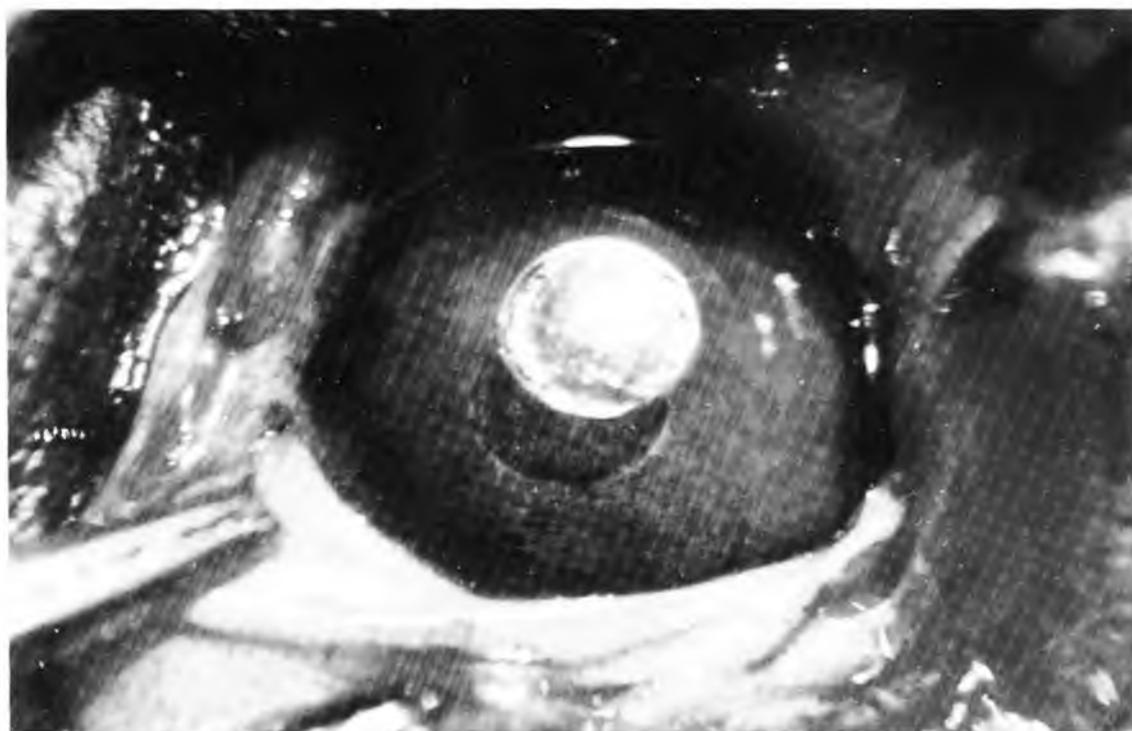
### Protocolos de Avaliação

#### Avaliação Clínica

Em intervalos de 24 horas, os animais foram avaliados à oftalmoscopia, seguindo-se os protocolos adotados previamente à montagem dos grupos experimentais. Aqui, investigaram-se os principais fenômenos intercorrentes com a evolução clínica as lesões tais como: fotofobia, blefaro-espasmo, edema e neovascularização.

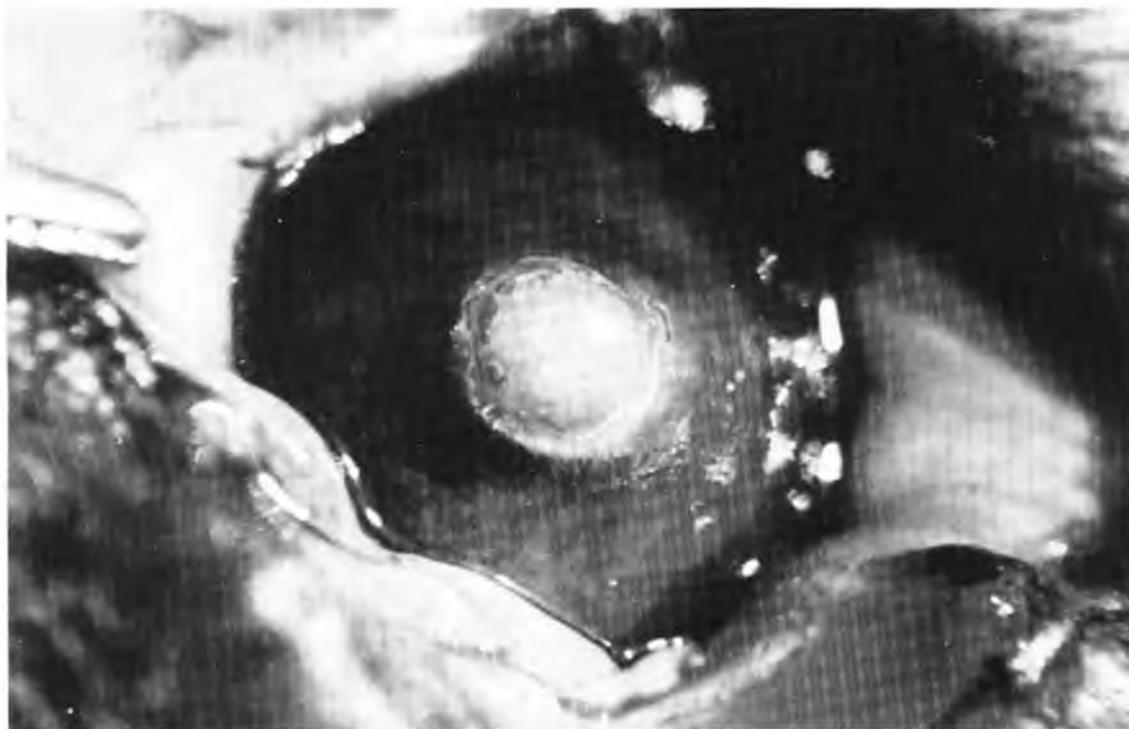
#### Microscopia Óptica

Para estudo histológico à luz da microscopia óptica, nos períodos próprios de observação os animais foram novamente anestesiados, e tiveram a córnea, após enucleação do globo ocular correspondente, retirada, submetida à fixação em formaldeído a 10%, reduzida, incluída em parafina, cortada em micrótomo convencional a uma espessura de 7 micrômetros, corada, analisada e fotomicrografada em microscópio Zeiss.



**FIGURA 1**

Imagem fotográfica de córnea de cão exibindo ferida cirúrgica experimentalmente provocada, corada pela fluoresceína.



**FIGURA 2**

Imagem fotográfica de córnea de cão exibindo ferida cirúrgica experimentalmente provocada, tratada pela mistura gelatina-resorcina-formaldeído.

## RESULTADOS

### Avaliação Clínica

Nos períodos que se seguiram, durante as fases relativas ao pós-operatório, notaram-se que as córneas submetidas à proposição terapêutica exibiram graus variados de edema, menos intensos nos dias iniciais e mais exuberantes entre o 14<sup>º</sup> e 30<sup>º</sup> dias. O quadro inflamatório, enquanto corolário único, exibiu características análogas e a neoformação vascular, cujo início se apresentou em período correspondente aos anteriores, se manteve no decurso de todas as fases posteriores, por vezes de forma bastante intensa. Fenômenos de desconforto traduzidos por fotofobia e blefaro-espasmo, foram achados comuns a todos os animais e assumiram grandes proporções nos períodos correspondentes à maior exuberância dos fenômenos inflamatórios.

Outrossim, verificaram-se graus variados de uveíte anterior, sempre em correspondência com a intensidade das ceratites. Estes se manifestaram sob as formas clínicas mais comumente vistas como, edema, congestão da úvea anterior, miose e pressão intra-ocular diminuída.

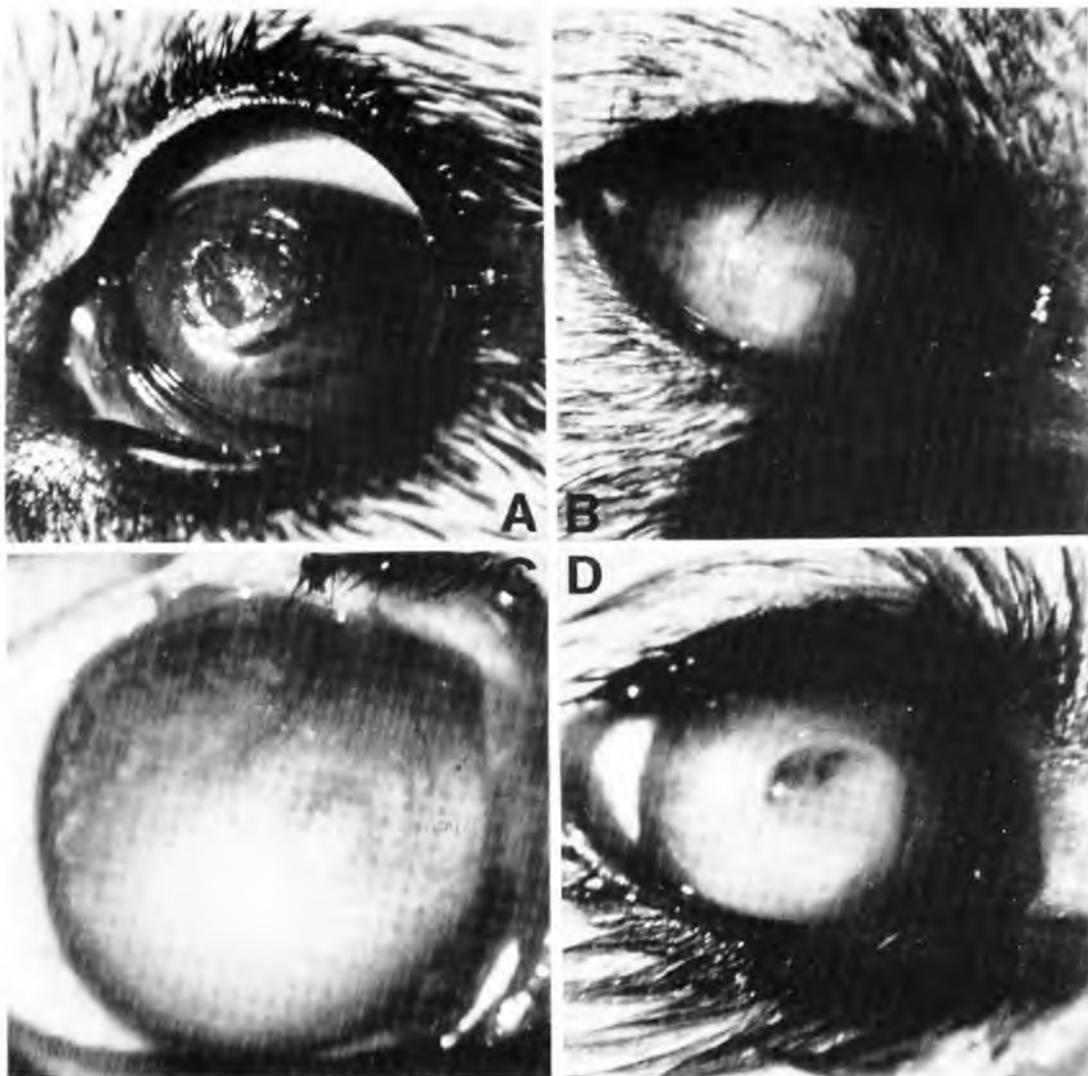
Ainda no tocante às úlceras, pode-se verificar que o adesivo

não foi capaz de coibir a evolução do processo lítico. Ao contrário, contribuiu de forma significativa para a cronicidade e, por vezes, para o agravamento do processo mórbido, culminando com casos freqüentes de descemetoceltes. As imagens representativas dos fenômenos supra mencionados encontram-se amontadas na figura que se segue (Fig. 3).

Relativamente à adesividade, notaram-se fenômenos que se apresentaram sob as mais variadas formas. Houve casos de perda do adesivo já nos períodos iniciais (3-7 dias-cinco casos), nos períodos intermediários (7-30 dias-três casos) e nas fases tardias (30-60 dias-dez casos).

### Microscopia Óptica

Os resultados obtidos com estudo à luz da microscopia óptica evidenciaram que fenômenos decorrentes do "tratamento" de úlceras experimentais com o adesivo passaram a exibir importância não nos períodos agudos e portanto, recentes de pós-operatório e, sim, nas fases mais tardias, com início a partir do 7<sup>º</sup> dia. Assim, aos 7 dias foram característicos o edema e a ausência de infiltrado inflamatório significativo. Já nos 21 dias observaram-se células inflamatórias caracterizadas por elementos da linhagem polimorfonuclear e células mononucleares. Verificaram-se, ainda, neoformação vascular



**FIGURA 3**

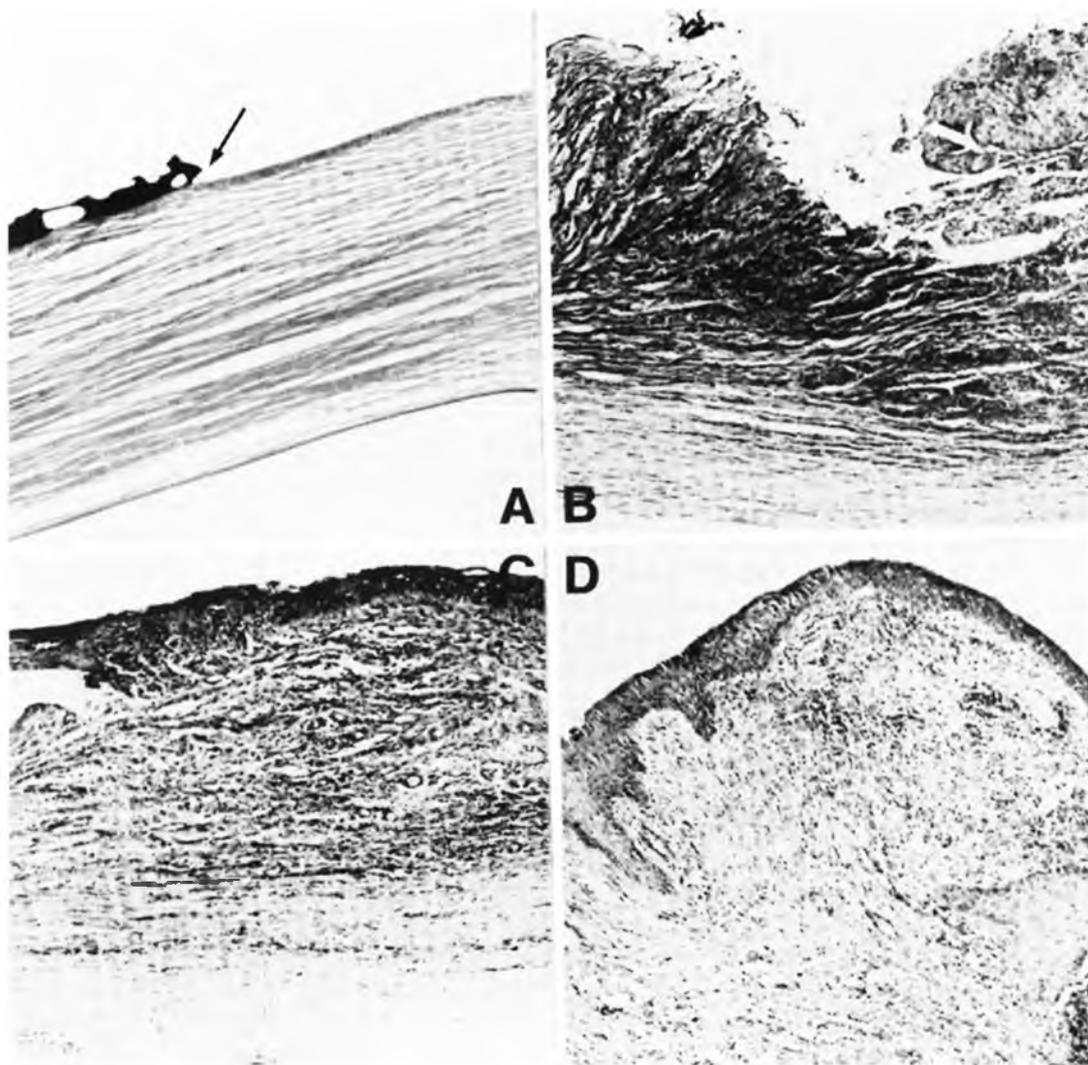
Imagens fotográficas de córneas de cães tratadas pela mistura gelatina-resorcina-formaldeído. Notar, em A, fragmentos de adesivo sobre a porção estromal da córnea edematosa. Em B, C e D, descemetoecele e vasos neoformados circunscrevendo a lesão. Imagens aos 7, 30, 30 e 60 dias de pós-operatório, respectivamente.

e acentuado edema com epitélio exibindo alterações displásicas de grau leve a moderado.

Aos 30 dias, constatou-se infiltrado inflamatório mais proliferativo com predomínio de células mononucleares, fibroblastos e fibrose. Não menos, neoformação vascular e displasia epitelial de grau moderado. Aos 60 dias observaram-se infiltrado inflamatório com predomínio de células mononucleares, fibrose acentuada, edema menos intenso e vasos neoformados. As alterações relativas a tais achados encontram-se representadas na Fig.4.

## DISCUSSÃO

Túnica avascular que no cão, diferentemente do homem, congrega como elementos constituintes apenas o epitélio, o estroma, a membrana de Descemet e o endotélio, a córnea reveste a superfície anterior do globo ocular, atuando como elemento mantenedor de sua forma. Com epitélio do tipo pavimentoso estratificado não queratinizado e contíguo ao epitélio conjuntival, apresenta componentes que amontam células poliédricas dispostas sobre uma membrana basal, responsável por sua adesão ao estroma subjacente.



**FIGURA 4**

Imagens fotomicrográficas de córneas de cães submetidas ao tratamento com a mistura gel-adesiva, respectivamente aos 7, 21, 30 e 60 dias. Observa-se, aos 7 dias, fragmentos do adesivo sobre a porção estromal da córnea edematosa. A seta assinala transição entre estroma e cola (A). Aos 21 dias, observa-se ulceração corneana com intenso infiltrado inflamatório de polimorfonucleares. O epitélio mostra-se espessado com alterações displásicas de grau leve e moderado (B). Aos 30 dias o epitélio se torna mais proliferativo com predomínio de células mononucleares e fibroblastos, com fibrose. Nota-se, ainda, neoformação vascular e displasia epitelial de grau moderado (C), que aos 60 dias torna-se menos acentuada (D). Respectivamente, aumentos de 25 x, 80 x, 80 x e 80 x (coloração - H.E.).

Relativamente a este, constituído por colágeno tipo I e II e por queratócitos que mantém a disposição das lamelas fibrosas, além de leucócitos e outros componentes (SAMUELSON<sup>40</sup>, 1991) que, no todo, representam aproximadamente 90% do total da túnica; e à membrana de Descemet, acelular e grandemente elástica, importam a natureza dos processos mórbidos e os objetivos que nortearam esta pesquisa.

Assim, conhecendo-se as características e as funções da

córnea, inferir os transtornos deletérios que lesões avulsivas, primária ou secundariamente, produzem na túnica é, de pronto, facilmente conseguido e passível de entendimento imediato (STARTUP<sup>13</sup>, 1984; VAUGHAN; ASBURY<sup>46</sup>, 1977). Conclui-se, portanto, que as justificativas implícitas nestas colocações, reforçam sobremaneira a natureza da proposição cujos resultados passarão a ser cotejados.

Inicialmente, há que se considerar as inúmeras formas de

apresentação etiológica dos elementos que, isoladamente ou em conjunto, corroboram para o estabelecimento de lesões com avulsão parcial na espessura da túnica. Dentre os mais conhecidos, reúnem-se aqueles que, direta ou indiretamente, atuam sobre sua superfície de modo a traumatizá-la. São as lacerações por materiais cortantes, as anormalidades palpebrais, as ciliares e as do aparelho lacrimal (VAUGHAN; ASBURY<sup>46</sup>, 1977; NELSON; MacMILLAN<sup>28</sup>, 1988; KERN<sup>18</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990). São, ainda, as infecções bacterianas, as micóticas e as virais, além das deficiências nutricionais e os processos neutrófilos (STARTUP<sup>43</sup>, 1984; HELPER<sup>14</sup>, 1989; PORTNOY et al.<sup>35</sup>, 1989). Somam-se o estresse e os desequilíbrios orgânicos (NASISSE<sup>27</sup>, 1985).

Para o estudo experimental aqui conduzido, obrigatoriamente teve-se que optar por uma das apresentações supra mencionadas para a confecção das lesões. Adotou-se, por razões justificáveis, produzi-las cirurgicamente com ceratôtomos de 0,5 cm de diâmetro, mimetizando o que normalmente se passa nas lacerações acidentais ou mesmo nas ceratectomias superficiais dirigidas à exérese de formações tumorais e/ou císticas, e de outros processos mórbidos. Tem-se a considerar que a adoção das condutas cumpriu exemplarmente os objetivos. Paralelamente, tais procedimentos implicaram a utilização de equipamento de amplificação de imagem para a boa execução dos tempos operatórios.

Norteando as atenções para o campo da experimentação terapêutica a literatura é vasta, não obstante a grande controvérsia de idéias e proposições. Apresentam-se as mais variadas e interessantes técnicas. Dirigem-se as condutas mediante as implicações próprias de cada processo e o conhecimento prévio das conotações fisiopatológicas, segundo características de profundidade e de apresentação na forma serpiginosa ou dendrítica. Sabe-se, por exemplo, que os quadros superficiais tendem a reorganizar-se através de mitoses e deslizamentos de células em direção centrípeta (PERUCCIO<sup>31</sup>, 1983; NASISSE<sup>27</sup>, 1985; LAFORGE<sup>22</sup>, 1989; SLATTER<sup>41</sup>, 1990), dispensando, muitas vezes, a adoção de procedimentos cirúrgicos. Sabe-se, ainda, que a reparação pode ser influenciada por fatores neutrófilos e endócrinos (KERN<sup>18</sup>, 1990), e que a pigmentação é produto de transtornos crônicos (SLATTER<sup>41</sup>, 1990). Que enzimas líticas (NASISSE<sup>27</sup>, 1985; HELPER<sup>14</sup>, 1989; KERN<sup>18</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990) bem como leucócitos e fibroblastos (NELSON; MacMILLAN<sup>28</sup>, 1988; KERN<sup>18</sup>, 1990) corroboram para a evolução dos fenômenos, aspectos bem mostrados por HACKER et al.<sup>13</sup>, 1990).

No bojo de todas as formas de apresentação técnica, fundamentadas no alívio dos sinais clínicos e, sobretudo, na profilaxia de descemetoceloses e perfurações completas, é que se seguiram as proposições clínicas e cirúrgicas. Neste particular, procurou-se estabelecer parâmetros indicadores da conduta ideal que, no contexto, ainda não foi encontrada.

Aqui, idealizou-se avaliar um procedimento ainda não apreciado, pelo menos no que concerne à literatura consultada e à forma como o mesmo foi estudado, de modo a, quem sabe, propiciar uma variante alternativa executável e grande valor prático; mas os resultados foram, no todo, desalentadores. A proposição calcada no emprego da mistura gelatina-resorcina-formaldeído mostrou-se imprópria e não preconizável. Achados relativos à grande irritação tecidual que o material proporcionou, aliada à natureza das lesões, mormente nas fases tardias, falam em favor de um produto cujos componentes, provavelmente o formaldeído, são contra-indicados para o emprego em córnea.

Considerando-se, por exemplo, que lesões envolvendo o estroma se regeneram mais lentamente e que a natureza do processo irritativo implica em maior ou menor neovascularização (PERUCCIO<sup>31</sup>, 1983) embora possam ocorrer curas em condições de avascularização (PEIFFER JUNIOR et al.<sup>3</sup>, 1987) a natureza dos achados obtidos, demonstrando a intensidade e a cronicidade com que os neovasos se apresentaram, reforça a idéia de que o material testado congrega componentes que, só ou isoladamente, atuam comprometendo a evolução dos fenômenos envolvidos com a reparação tecidual. Estranhamente, estes dados foram menos vistos em outros órgãos por nós estudados.

Para que se tenha uma idéia global da forma como as lesões evoluíram, as córneas "tratadas", indistintamente, não caminharam para a cura. Ao contrário, seguiram o decurso de uma lesão indolente com processo lítico em atividade plena. Se tais achados forem comparados a outros procedimentos clínicos apresentados (STARTUP<sup>43</sup>, 1984; NASISSE<sup>27</sup>, 1985; HELPER<sup>14</sup>, 1989; KERN<sup>18</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990) certamente não encontrarão amparo para que se possa preconizar o material. Adutóriamente, o mesmo se aplica às variantes cirúrgicas empregando-se enxertos heterólogos e homólogos de córnea e esclerótica (REISINGER<sup>38</sup>, 1824; KISSAM<sup>19</sup>, 1844; LARSSON<sup>23</sup>, 1948; CHAVAN; KING<sup>9</sup>, 1960; BERNIS<sup>3</sup>, 1961; JENSEN<sup>17</sup>, 1963; ROCHA<sup>39</sup>, 1963; DICE et al.<sup>10</sup>, 1973; McLAUGHLIN et al.<sup>25</sup>, 1984; HACKER<sup>12</sup>, 1988; BRIGHTMAN et al.<sup>7</sup>, 1989) bem como dos de periosteio (KOENING; KAUFMAN<sup>20</sup>, 1983; PORTNOY et al.<sup>35</sup>, 1989), os de pericárdio (BARROS et al.<sup>2</sup>, 1990), os de conjuntiva (GUNDERSEN<sup>11</sup>, 1958; STARTUP<sup>42, 43</sup>, 1972, 1984; KUHNS<sup>21</sup>, 1979; NASISSE<sup>27</sup>, 1985; PORTNOY et al.<sup>35</sup>, 1989; LAVACH<sup>24</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990; BROOKS<sup>8</sup>, 1991) os pediculados (STARTUP<sup>41</sup>, 1984; PEIFFER JUNIOR et al.<sup>30</sup>, 1987; BLOGG et al.<sup>5</sup>, 1989; HACKER et al.<sup>13</sup>, 1990; KERN<sup>18</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990; BROOKS<sup>8</sup>, 1991; WOLF<sup>40</sup>, 1991) e também os livres (THOFT<sup>44, 45</sup>, 1977, 1982; STARTUP<sup>43</sup>, 1984; NASISSE<sup>27</sup>, 1985; PEIFFER JUNIOR et al.<sup>30</sup>, 1987; HACKER et al.<sup>13</sup>, 1990; SLATTER<sup>41</sup>, 1990; BROOKS<sup>8</sup>, 1991).

BLOGG et al.<sup>5</sup> (1989) relataram neoformação vascular diminuída pós-ceratoplastia por enxerto pediculado de conjuntiva. HACKER et al.<sup>13</sup> (1990) apresentaram resultados satisfatórios ao estudarem enxertos livres e pediculados de conjuntiva na terapia de úlceras colagenolíticas. PEIFFER JUNIOR et al.<sup>30</sup> (1987); HELPER<sup>14</sup> (1989); KERN<sup>18</sup> (1990); WHITLEY<sup>19</sup> (1991) mostraram a validade de suturas diretas no reparo de lesões corneanas. PARSHALL<sup>29</sup> (1973); POWEL<sup>36</sup> (1986); PEIFFER JUNIOR et al.<sup>30</sup> (1987); SLATTER<sup>31</sup> (1990); WHITLEY<sup>19</sup> (1991) estudaram técnicas de transposição corneo-escleral e atestaram a validade do procedimento. Mesmo na ceratoplastia com adesivos, que não a mistura gelatina-resorcina-formaldeído (WEBSTER et al.<sup>47</sup>, 1968; PERUCCIO et al.<sup>32</sup>, 1983; WENDLER et al.<sup>48</sup>, 1983; MAGUEN et al.<sup>26</sup>, 1984; NASISSE<sup>27</sup>, 1985; PEYRET<sup>33</sup>, 1986; PORTNOY et al.<sup>35</sup>, 1989) os resultados foram superiores aos aqui obtidos. Próteses flexíveis à base de lentes de contato (STARTUP<sup>33</sup>, 1984; NASISSE<sup>27</sup>, 1985; HERMANN<sup>16</sup>, 1989; PORTNOY et al.<sup>35</sup>, 1989) e película celulósica (PIPPI; SAMPAIO<sup>34</sup>, 1990; BRICK<sup>6</sup>, 1991) também se mostraram mais eficientes que a proposição ora estudada.

Finalmente, entende-se que os estudos não devam ser interrompidos, pois a busca por técnicas alternativas e de valor terapêutico é objetivo comum.

### CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no decurso e ao término da investigação experimental, pode-se admitir que:

1. A mistura gel-adesiva contribuiu com o surgimento de resposta inflamatória de grau elevado e, adjutoramente, com a evolução do processo lítico;
2. A mistura gel-adesiva não ofereceu elementos que justifiquem sua utilização como procedimento terapêutico em córnea, nas condições aqui empregadas;
3. Não obstante, sugerem-se estudos adicionais dirigidos às propriedades dos componentes contidos na formulação de modo a torná-la menos irritante para a córnea.

### SUMMARY

In the aim to evaluate the effects of a new biological adhesive (Colagel) in experimental keratoplasty, were used 21 healthy mongrel dogs, males and females. Studies were done to evaluation at 1, 3, 7, 14, 21, 30 and 60 days after surgery by means of clinical and histopathological parameters. The results showed that the gel-adhesive mixture in the formulation of the concentrations presented, caused a great inflammatory reaction and it was inefficient in the cicatricial process.

**UNITERMS:** Cornea, surgery; Dogs

### AGRADECIMENTOS

- A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-Fapesp-proc. 91/2845-7.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq-proc. 301394/91-1.
- A Cirumédica S/A.
- Aos Técnicos do Laboratório de Microscopia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-BARNETT, K.C. The corneal ulcer - VI Surgical treatment. *J. small anim. Pract.*, v.7, p.275-7, 1966.
- 02-BARROS, P.S.M.; SAFATLE, A.M.V.; MALERBA, T.A.; BURNIER JUNIOR, M. Reparação cirúrgica da córnea de cães usando pericárdio de eqüinos conservado em glicerina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA ANCLIVEPA, 13., Gramado, 1990. **Resumos**, p.11.
- 03-BERNIS, W.O. Further trials with partial penetrating keratoplasty in dogs. *SW. Vet.*, v.15, p.30-44, 1961.
- 04-BLOGG, J.R.; DUTTON, A.G. Use of third eyelid grafts to repair defects in the cornea and sclera. In: PROCEEDINGS CANADIAN ASSOCIATION VETERINARY OPHTHALMOLOGY, 1987, p. 74-80.

- 05-BLOGG, J.R.; STANLEY, R.G.; DUTTON, A.G. Use of conjunctival pedicle grafts in the management of feline keratitis nigrum. **J. small anim. Pract.**, v.30, p.678-84, 1989.
- 06-BRICK, D. Aplicação de película de celulose em lesões epiteliais da córnea. Estudo experimental comparativo. **Rev.bras.Oftalmol.**, v.50, n.4, p.23-8, 1991.
- 07-BRIGHTMAN, A.H.; McLAUGHLIN, S.A.; BROGDON, J.D. Autogenous lamellar corneal grafting in dogs. **J. Amer. Vet. Med. Ass.**, v.195, p.469-75, 1989.
- 08-BROOKS, D.E. Canine conjunctiva and nictitating membrane. In: GELATT, K.N. **Veterinary Ophthalmology**. 2. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1991. p.290-306.
- 09-CHAVAN, S.B.; KING, J.H. Experimental lamellar heterografts: comparison of fresh and preserved donor corneas. **Amer. J. Ophthalmol.**, v.49, p.1387-95, 1960.
- 10-DICE II, P.F.; SEVERIN, G.A.; LUMB, W.V. Experimental autogenous and homologous corneal transplantation in the dog. **J. Amer. Anim. Hosp. Ass.**, v.9, p.245-69, 1973.
- 11-GUNDERSEN, T. Conjunctival flaps in the treatment of corneal disease with reference to a new technique of application. **Arch. Ophthalmol.**, v.60, p.880-8, 1958.
- 12-HACKER, D.V. Uses of frozen corneal grafts in veterinary ophthalmology. **Ann. Sci. Prog. Amer. Coll. Vet. Ophthalmol.**, v.15, p.34, 1988.
- 13-HACKER, D.V.; MURPHY, C.J.; LLOYD, K.C.K.; BELLHORN, R.W. Surgical repair of collagenolytic ulcerative keratitis in the horse. **Equine vet. J.**, v.22, p.88-92, 1990.
- 14-HELPER, L.C. **Magrane's, canine ophthalmology**. 4. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1989. p.102-49: Diseases and surgery of the cornea and sclera.
- 15-HELPER, L.C.; BLOGG, J.R. A modified third eyelid flap procedure. **J. Amer. Anim. Hosp. Ass.**, v.19, p.955-6, 1983.
- 16-HERMANN, K. Therapeutic use of hydrophilic contact lenses. In: KIRK, R.W.; BONAGURA, J.D. **Current veterinary therapy: small animal practice**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1989. p.640-1.
- 17-JENSEN, E.C. Experimental corneal transplantation in the dog. **J. Amer. Vet. Med. Ass.**, v.142, p.11-22, 1963.
- 18-KERN, T.J. Ulcerative keratitis. **Vet. Clin. North Amer. Small Anim. Pract.**, v.20, n.3, p.643-65, 1990.
- 19-KISSAM, 1844 apud GUIMARÃES, R.Q. **Ceratoplastia interlamelar xenógena de galinha em coelho utilizando córneas conservadas em cloreto de sódio por três dias, um mês e 14 anos: estudo biomicroscópico e histopatológico**. Belo Horizonte, 1979. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.
- 20-KOENING, S.B.; KAUFMAN, H.E. The treatment of necrotizing scleritis with an autogenous periosteal graft. **Ophthalmic. Surg.**, v.14, p.1029-32, 1983.
- 21-KUHNS, E.L. Conjunctival patch grafts for treatment of corneal lesions in dogs. **Mod. vet. pract.**, v.60, p.301-5, 1979.
- 22-LAFORGE, H. Pathologie de la corneé chez les carnivores domestiques. **Rec.Méd. vét.**, v.165, n.3, p.247-56, 1989.
- 23-LARSSON, S. Treatment of perforated corneal ulcer by autoplasmic scleral transplantation. **Brit. J. ophthalmol.**, v.32, p.54-7, 1948.
- 24-LAVACH, J.D. **Large animal ophthalmology**. St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1990. Chap.6, p.101-49: Cornea.
- 25-McLAUGHLIN, S.A. et al. Autogenous partial thickness corneal grafting in the dog. **Ann. Sci. Prog. Amer. Coll. Vet. Ophthalmol.**, v.147, p.156, 1984.
- 26-MAGUEN, E.; NESBURN, A.B.; MACY, J.I. Combined use of sodium hyaluronate and tissue adhesive in penetrating keratoplasty of corneal perforations. **Ophthalmic Surg.**, v.15, n.1, p.55-7, 1984.
- 27-NASISSE, M.P. Canine ulcerative keratitis. **Comp. contin. Educ.**, v.7, n.9, p.686-701, 1985.
- 28-NELSON, D.L.; MacMILLAN, A.D. Doenças da córnea. In: KIRK, R.W. **Atualização terapêutica veterinária**. São Paulo, Manole, 1988. v.1, p.808-17.
- 29-PARSHALL, C.J. Lamellar corneal-scleral transposition. **J. Amer. Anim. Hosp. Ass.**, v.9, p.270-7, 1973.
- 30-PEIFFER JUNIOR, R.L.; NASISSE, M.P.; COOK, C.S.; HARLING, D.E. Surgery of the canine and feline orbit, adnexa and globe. Part 6: Surgery of the cornea. **Comp. anim. Pract.**, v.1, n.7, p.3-13, 1987.
- 31-PERUCCIO, C. Diagnosi e trattamento delle lesioni corneali. **Sci. Vet. gennais**. p.3-8, 1983.
- 32-PERUCCIO, C.; BOSIO, P.; CORNAGLIA, E. Indications and limits of lyanoacrylate tissue adhesive in corneal ulcers and perforations. In: ANNUAL SCIENTIFIC PROGRAM AMERICAN COLLEGE VETERINARY OPHTHALMOLOGY, 1983 p.135-53.

- 33-PEYRET, J.A. Uso del fibrinógeno humano concentrado en el cierre de heridas quirúrgicas oculares en el conejo. **Arch. Oftalmol.**, Buenos Aires, v.61, p.33-6, 1986.
- 34-PIPI, N.L.; SAMPAIO, A.J.S.H. Estudos preliminares sobre o comportamento do Biofill na ceratoplastia lamelar em coelhos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA ANCLIVEPA, 13., Gramado, 1990. **Resumos**. p.5.
- 35-PORTNOY, S.L.; INSLER, M.S.; KAUFMAN, H.E. Surgical management of corneal ulceration and perforation. **Surv. Ophthalmol.**, v.34, n.1, p.47-58, 1989.
- 36-POWEL, N.G. Cirurgia da córnea. In: BOJRAB, M.J. **Cirurgia dos pequenos animais**. 8.ed. São Paulo, Roca, 1986. p.66-71.
- 37-QUENGSY, 1789 apud GUIMARÃES, R.Q. **Ceratoplastia interlamelar xenógena de galinha em coelho utilizando córneas conservadas em cloreto de sódio por três dias, um mês e 14 anos: estudo biomicroscópico e histopatológico**. Belo Horizonte, 1979. Tese (Doutorado)-Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.
- 38-REISINGER, 1824 apud GUIMARÃES, R.Q. **Ceratoplastia interlamelar xenógena de galinha em coelho utilizando córneas conservadas em cloreto de sódio por três dias, um mês e 14 anos: estudo biomicroscópico e histopatológico**. Belo Horizonte, 1979. Tese (Doutorado)-Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.
- 39-ROCHA, H.R. Lamellar keratoplasty. **Int. Ophthalmol. Clin.**, v.3, p.471-98, 1963.
- 40-SAMUELSON, D.A. Ophthalmic embryology and anatom. In: GELATT, K.N. **Veterinary ophthalmology**. 2.ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1991. p.3-123.
- 41-SLATTER, D. **Fundamentals of veterinary ophthalmology**. 2.ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1990. p.257-303: Cornea and sclera.
- 42-STARTUP, F.G. The treatment of corneal ulcers. **J. small anim. Pract.**, v.13, p.601-6, 1972.
- 43-STARTUP, F.G. Corneal ulceration in the dog. **J. small anim. Pract.**, v.25, p.737-52, 1984.
- 44-THOFT, R.A. Conjunctival transplantation. **Arch. Ophthalmol.**, v.95, p.1425-7, 1977.
- 45-THOFT, R.A. Indications for conjunctival transplantation. **Ophthalmology**, v.89, n.4, p.335-9, 1982.
- 46-VAUGHAN, D.; ASBURY, T. **Oftalmologia geral**. São Paulo, Atheneu/Universidade de São Paulo, 1977. p.71-87: Córnea e esclerótica.
- 47-WEBSTER, R.G. et al. The use of adhesive for closure of corneal perforations. **Arch. Ophthalmol.**, v.80, p.705-9, 1968.
- 48-WENDLER, M.E. et al. Adesivos teciduais no tratamento da perfuração corneana: estudo comparativo em cobaias. **Arq. bras. oftal.**, v.46, n.5, p.138-40, 1983.
- 49-WHITLEY, R.D. Canine cornea. In: GELATT, K.N. **Veterinary ophthalmology**. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.307-56.
- 50-WOLF, E.D. Conjunctival pedicle graft treatment for equine corneal ulcers. In: CONGRESSO OF INTERNATIONAL SOCIETY OF VETERINARY OPHTHALMOLOGY, Vienna, 1991. **Abstracts. ISVO**. p.19.

Recebido para publicação em 15/03/93  
Aprovado para publicação em 17/06/93