

Uso do pericárdio de equino conservado em glicerina como enxerto penetrante da córnea de cães. Estudo experimental

Use of horse pericardium preserved in glycerin as corneal graft in dogs. Experimental study

Paulo Sérgio de Moraes BARROS¹; Angélica Mendonça Vaz SAFATLE¹; Moacyr RIGUEIRO²

CORRESPONDENCE TO:
Paulo Sérgio de Moraes Barros
Departamento de Cirurgia
Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da USP
Av. Prof. Dr. Orlando Marques
de Paiva, 87 -
Cidade Universitária Armando
de Salles Oliveira
05508-900 - São Paulo - SP -
Brasil
e-mail: pauloeye@usp.br

1 - Departamento de Cirurgia
Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da USP -
SP
2 - Departamento de Patologia
Escola Paulista de Medicina -
UNIFESP, São Paulo, SP

RESUMO

Com o objetivo de estudar o emprego do pericárdio de equino, conservado em glicerina, na reparação experimental de defeitos penetrantes da córnea de cães utilizaram-se 15 animais; mestiços, machos e fêmeas, pesando entre 8 e 10 kg. Uma lesão penetrante da córnea de 5 x 4 mm foi provocada e fragmento de pericárdio, de igual dimensão, foi suturado em pontos simples separados com Prolene 7-0. Os animais foram sacrificados nos tempos 2, 7, 15, 30 e 70 dias de pós-operatório. Os resultados obtidos, quando analisados, tanto do ponto de vista clínico quanto histológico, mostraram que o pericárdio de equino conservado apresentou-se como meio satisfatório de reparação penetrante de lesões da córnea de cães.

UNITERMOS: Córnea; Pericárdio; Enxertos; Bioprótese; Transplante de córnea.

INTRODUÇÃO

As reparações cirúrgicas de lesões penetrantes da córnea com perda tecidual têm sido objeto de vários estudos não só em oftalmologia humana como também veterinária.

As perfurações corneanas resultantes de condições destrutivas, infecciosas ou não, são entidades importantes na oftalmologia, face à sua alta morbidade. A restauração da córnea de maneira pronta e efetiva visa a preservação ou o restabelecimento da visão do paciente.

Vários são os métodos utilizados sendo que, nos últimos 20 anos, o prognóstico destas lesões melhorou muito face à microcirurgia, ao refinamento dos transplantes de córnea e à introdução de adesivos na terapêutica de doenças da córnea.

Em oftalmologia veterinária, as correções de defeitos e lesões da córnea têm sido realizadas de várias formas: tarsorrafias¹⁸; recobrimentos com 3ª pálpebra¹⁰ ou com conjuntiva¹⁴; enxertos pediculados de conjuntiva⁹; aplicação de adesivos^{20,16}; aplicação de lentes de contato¹¹; transplantes de córnea com tecidos autólogos^{21,7,17,6} ou homólogos^{12,13,4,8}; implantes sintéticos²⁴ ou biológicos¹⁵.

Várias são as afecções oculares que promovem perda de tecido superficial ou profundo da córnea, quer seja no curso da doença quer seja de forma iatrogênica, durante a remoção de neoplasias.

As membranas biológicas conservadas em glicerina têm sido empregadas em reparações de vários órgãos e estruturas com resultados animadores.

Em oftalmologia veterinária, o pericárdio foi empregado na correção cirúrgica do entrópio de cães, bem como no preenchimento da cavidade orbitária após enucleação¹; no recobrimento corneano (Kavinski, 1980)*, na reparação de defeitos lamelares da esclera e da 3ª pálpebra em cães²; na ceratoplastia penetrante após remoção de neoplastia³.

Este trabalho teve por objetivo estudar o comportamento, do ponto de vista clínico e histológico, do pericárdio de equino, conservado em glicerina, quando usado experimentalmente como enxerto em lesões penetrantes da córnea de cães.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 15 cães machos e fêmeas, adultos, pesando entre 8 e 10 kg, que constituíram 5 subgrupos de 3 animais cada, que, após operados, foram sacrificados e seus olhos enucleados nos tempos: 2, 7, 15, 30 e 70 dias. Os animais foram submetidos a exame oftalmológico pré-operatório: biomicroscopia com lâmpada de fenda, tonometria, testes de lágrima de Schirmer, fluoresceína e fundoscopia direta.

Procedimentos cirúrgicos

Após jejum prévio de 12 horas, os cães foram submetidos a pré-medicação anestésica (Acepromazina) seguida de indução anestésica (Tionembutal sódico) e manutenção pela inalação da mistura de anestésico halogenado (Halothane) e oxigênio em circuito semifechado.

* KAVINSKI, L. C. - Universidade Federal do Paraná. Comunicação pessoal.

Foi retirado, de forma penetrante em 11 horas, um fragmento de córnea de 5 x 4 mm de lado. Um retalho de pericárdio de equino conservado em glicerina de mesma dimensão, previamente hidratado em solução fisiológica, foi saturado em pontos simples, separados com fio de Prolene 7-0 (polipropileno monofilamentado com agulha atraoloc), iniciando-se por pontos de reparo nos quatro vértices do retângulo e completando-se até que todo o implante estivesse acoplado ao defeito da córnea (Fig. 1A). Uma vez saturado, injetou-se solução de Ringer Lactato na câmara anterior para o seu preenchimento.

Pós-operatório

Colar elizabetano foi aplicado para prevenir automutilação.

Nos quinze dias subseqüentes à cirurgia, colírio de gentamicina foi instilado no saco conjuntival quatro vezes ao dia.

Exames oftalmológicos foram realizados diariamente para controle dos aspectos clínicos da córnea e enxerto, como grau de edema, neovascularização, sinais de eliminação do enxerto.

RESULTADOS

Com o uso do enxerto de pericárdio de equino, para reparar lesão penetrante da córnea de cães, obtivemos os seguintes resultados:

Não houve extravasamento de humor aquoso da câmara anterior para o meio externo, permanecendo o globo ocular com sua forma e câmara anterior profunda preservada durante todo o experimento. A pressão intra-ocular, que de início foi baixa, voltou aos valores normais ao redor dos 30 dias de pós-operatório. A pupila apresentou-se em miose nos primeiros dias após a cirurgia, mas a sua forma não foi alterada em nenhum dos animais. Blefarospasmo esteve presente mas desapareceu quando decorridos 30 dias.

A conjuntiva, de início edematosa, voltou ao seu normal após uma semana de pós-operatório.

A córnea mostrou-se opacificada por edema junto à região do implante nas primeiras 24 horas e manteve-se por mais 15 dias, quando então desapareceu o edema.

Na primeira semana, tecido de granulação junto ao implante já foi observado com neovascularização, sendo que, ao redor dos 20 dias, esse tecido foi bastante exuberante. Aos 36 dias, não foi observado esse tecido de granulação embora vasos vindo da conjuntiva, bem como esta, recobriam o enxerto. A prova da fluoresceína foi negativa aos 36 dias de pós-operatório.

Aos 70 dias, a córnea apresentou-se clara, com desopacificação parcial do pericárdio em porções periféricas (Fig. B).

O exame histológico mostrou, aos dois dias de evolução, um processo inflamatório agudo junto ao implante e sinéquia anterior foi observada em um caso. Aos seis dias, persistia o processo inflamatório agudo e o enxerto já aparecia epitelizeado, embora este epitélio se apresentasse com aspecto atrófico. Aos 17 dias, um processo inflamatório crônico, fibrose e fibrócitos podiam ser observados, sendo que células gigantes tipo corpo estranho estavam presentes junto ao fio de sutura. O implante estava epitelizeado. Aos 36 dias persistia um processo inflamatório crônico com fibrose e epitelição do enxerto. Aos 70 dias, presença de processo

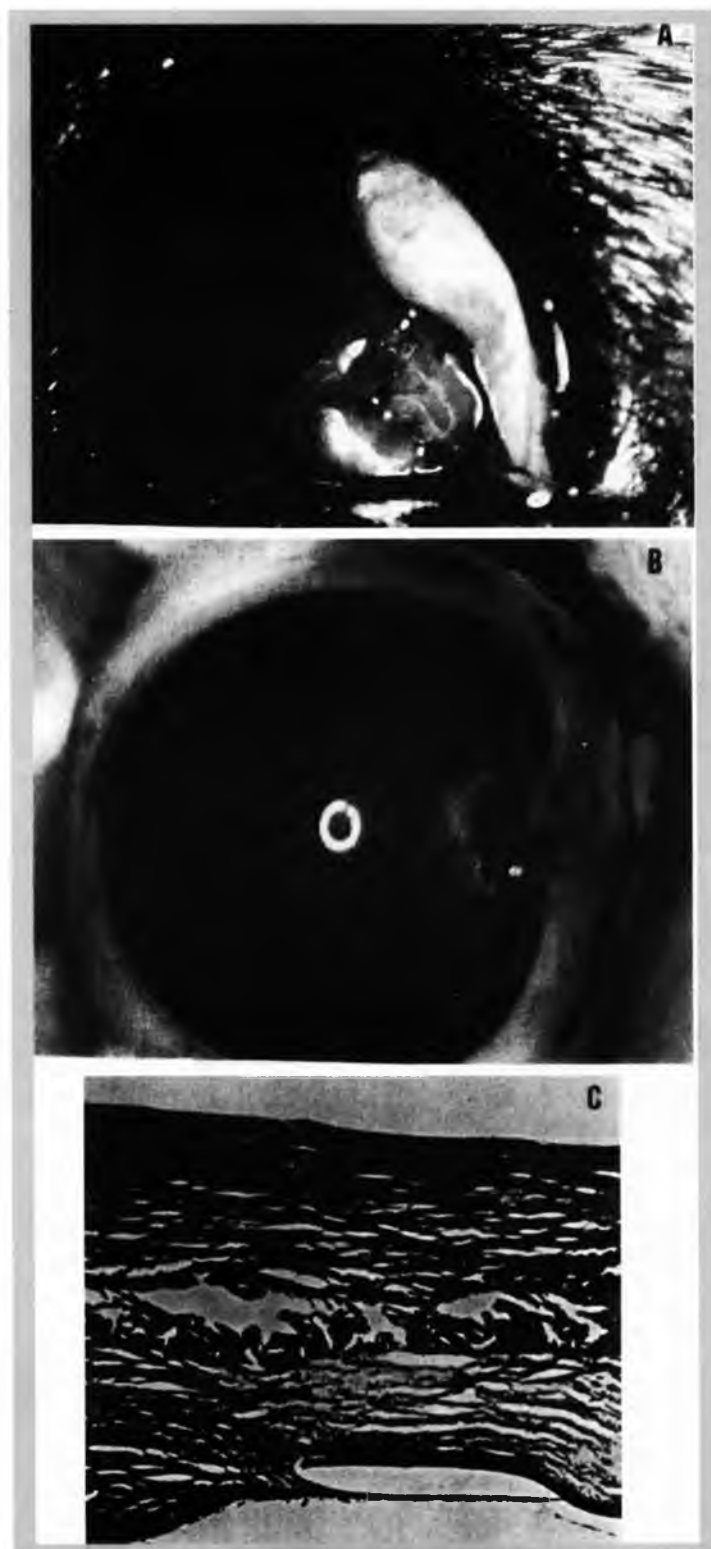


Figura 1

A. Aspecto do enxerto aplicado à córnea aos quatro dias de pós-operatório. Câmara anterior profunda, córnea ligeiramente opacificada junto ao implante e edema da conjuntiva. B. Aspecto do enxerto aos 70 dias de pós-operatório. Diminuição da área do enxerto, ligeira desopacificação periférica ao enxerto.

C. Fotomicrografia de corte histológico da córnea e enxerto aos 70 dias de pós-operatório, mostrando o "sanduíche" de pericárdio (epitélio-estroma-pericárdio-estroma-endotélio)(HE-100x).

inflamatório e enxerto epitelizado; observou-se, nesta fase, uma endotelização e o aspecto era o de um "sanduíche" onde tínhamos epitélio-estroma-pericárdio-estroma-endotélio (Fig. 1C).

DISCUSSÃO

A reparação da córnea tanto do homem quanto dos animais ainda constitui desafio dentro da oftalmologia. As metas da reparação dos defeitos da córnea são restaurar a integridade do globo ocular, estabilizar o conteúdo intra-ocular, preservar a visão e prevenir a endoftalmite e o glaucoma.

As tarsorafias temporárias são úteis na proteção de úlceras superficiais e não infectadas¹⁸. Os recobrimentos de córnea com 3ª pálpebra têm sido amplamente utilizados nas lesões ulcerativas e lacerantes com risco iminente de ruptura da membrana de Descemet. A 3ª pálpebra também foi utilizada no reparo de defeitos de esclera e córnea após ressecção de melanomas do limbo, na forma de auto-enxerto de cartilagem e conjuntiva da membrana e, embora com bons resultados, apresenta-se como técnica mutilante⁵.

A conjuntiva como tecido de recobrimento corneano tem sido de valor, promovendo proteção e suporte, bem como levando aporte sanguíneo direto, transportando agentes antimicrobianos e anticolagenolíticos à região da córnea com defeitos superficiais^{9,23}.

Os adesivos, na forma de metilmetacrilato, foram introduzidos em 1968 como modalidade terapêutica nas ulcerações e perfurações da córnea, sendo os cianoacrilatos preferíveis pela mais baixa toxicidade e indicados em lesões de pequeno diâmetro e margens bem definidas²⁰. Por outro lado, Laus *et al.*¹⁶ (1993) utilizando experimentalmente preparado de gelatina-resorcina não obteve resultados satisfatórios. A película celulósica foi também ensaiada com bons resultados²².

As lentes de contato terapêuticas são armas eficientes em alguns casos de ulcerações profundas e erosões corneanas rebeldes¹¹.

A transposição córneo-escleral, idealizada por Parshall¹⁹ (1973), promove a cobertura da lesão corneana por deslizamento de córnea, esclera e conjuntiva vizinhas, tendo como desvantagem a presença de cicatriz opacificada.

Os transplantes de córnea têm sido infreqüentemente utilizados em oftalmologia veterinária, embora as técnicas de transplante autólogo tenham sofrido incremento^{17,6}, não só por melhoramento das técnicas mas também pela vantagem com relação às rejeições imuno-mediadas.

Esses métodos procuram manter a integridade da córnea por recobrimento, exceções feitas ao uso de enxerto de cartilagem e conjuntiva da 3ª pálpebra e os transplantes lamelares e penetrantes, que promovem a substituição da porção doente da córnea.

Os transplantes homólogos, de freqüente uso em oftalmologia humana, ainda têm uso restrito em veterinária, muito embora o desenvolvimento de meios de preservação de córnea por longo tempo²⁵, associado às técnicas microcirúrgicas, tenda a aumentar o uso deste método, quer seja pela técnica lamelar quer seja pela penetrante.

A substituição da córnea pelo pericárdio, em toda a sua espessura, manteve a integridade do globo ocular.

O enxerto de pericárdio mostrou-se opacificado durante todo o experimento, comparável ao observado na transposição córneo-escleral descrita por Parshall¹⁹ (1973), mas como esta opacidade foi de localização periférica não alterou a visão pois manteve-se fora do eixo visual, sendo então indicada em lesões periféricas da córnea. Discreta desopacificação foi observada na periferia do implante ao final do experimento. Já a córnea ficou transparente durante todo o estudo.

O blefarospasmo observado pareceu ser devido à presença do fio de sutura, que roçava na conjuntiva palpebral produzindo desconforto. Este sinal permaneceu até que se tivesse tecido recobrimdo o fio, o que aconteceu aos 30 dias.

A neovascularização iniciou-se aos 10 dias, o que coincide com achado de Wilkie; Wolf²⁴ (1991) que utilizaram tecido sintético.

No início do experimento, os enxertos apresentaram-se corados pela fluoresceína e esta prova foi negativa aos 36 dias de pós-operatório, o que ocorre quando se tem epitélio íntegro.

O tecido de granulação iniciou seu aparecimento concomitante à neovascularização e, aos 20 dias, foi bastante exuberante. Este tecido, quando de enxertia por tecido sintético, começa a elevar o implante sendo que na 5ª semana o tecido o está recobrimdo totalmente, o que não foi por nós observado com o implante de pericárdio.

O enxerto penetrante de pericárdio selou perfeitamente a ferida, não permitindo o extravasamento de humor aquoso. Houve manutenção das câmaras e estabilização do conteúdo intra-ocular.

Endoftalmia e glaucoma, complicações passíveis de aparecimento quando feridas penetrantes da córnea ocorrem, não foram por nós observadas nos animais que receberam, de maneira experimental, o implante de pericárdio em substituição à córnea.

Quando Wilkie; Wolf²⁴ (1991) fizeram uso de implante sintético retiraram-no posteriormente, embora não fosse o esperado. Nossos enxertos de pericárdio não foram removidos do seu local de implantação, pois houve integração com os tecidos vizinhos.

As demais estruturas não mostraram alterações dignas de nota, somente uma miose e baixa tensão ocular, provavelmente secundárias à uveíte, nos primeiros dias após a cirurgia, mas que voltaram à normalidade.

Ao exame histológico, observou-se infiltrado inflamatório agudo na fase inicial de implantação, sendo que ao final dos 70 dias havia fibrose e processo inflamatório crônico discreto. A epitelição iniciou-se aos seis dias, estando completa aos 30 dias.

Os achados histológicos mostraram total integração do pericárdio com os tecidos vizinhos, sendo que, aos 70 dias, observou-se crescimento de epitélio o que permitiu reprodução do endotélio e reposição do estroma, notando-se resto de pericárdio entremeadado no estroma. Esses achados fazem-nos crer que os processos fisiológicos, bem como a integridade anatômica, serão restabelecidos em prazos maiores de evolução.

Não foram observados sinais de rejeição, quer do ponto de vista clínico quer histológico, o que torna o pericárdio um bom tecido alternativo nos reparos penetrantes da córnea de cães e provavelmente em outras espécies.

SUMMARY

Repair of the cornea is a challenge to several researches. Cornea lesions have been treated by many different methods. The purpose of this paper was to study the use of horse preserved pericardium to repair dog cornea. Fifteen mixed breed dogs, male and female, 8 to 10 kg of body weight were used. After pre-surgical procedures, under general anesthesia, a full-thickness piece of cornea of 5 x 4 mm was excised. A fragment of the same size of horse pericardium preserved in glycerin was sutured with 7-0 prolene in single suture. Clinical examination revealed blefarospasm, cloudy cornea and flare that disappeared in two weeks. In the 9th day post-surgery, superficial vascularization and granulation tissue were observed over the graft and the suture. Opacity of the graft persisted until the end of observation period, when a very mild transparency was noted. Fluorescein stain was retained until the 36th day. Anterior chamber was deep all over the experimental period and pupils were symmetrical. IOP was initially low but raised to normal values. Acute inflammatory reaction and fibrosis could be seen histologically. The graft was epithelized on the 36th day. On the 70th day, mild chronic inflammation and endothelization were observed and the site of the graft looked like a "sandwich" (epithelium - stroma - implant - stroma - epithelium).

UNITERMS: Cornea; Bioprothesis; Pericardium; Grafts; Corneal transplantation

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- BARROS, P.S.M.; ALVARENGA, J.; STOPIGLIA, A.J. The use of pericardium in the correction of entropion and the filling of the canine orbital cavity following enucleation. **The International Society of Veterinary Ophthalmology Newsletter**, v.3, p.4, 1985.
- 2- BARROS, P.S.M.; BURNIER, Jr. M.; RIGUEIRO, M.; MALERBA, T.A.; SAFATLE, A.M.V. The repair of the sclera and 3rd eyelid using heterologous pericardium. A experimental study. In: AMERICAN SOCIETY OF VETERINARY OPHTHALMOLOGY AND INTERNATIONAL SOCIETY OF VETERINARY OPHTHALMOLOGY, San Francisco, 1990. **Program**, p.11-2.
- 3- BARROS, P.S.M.; SAFATLE, A.M.V.; MALERBA, T.A.; BURNIER, Jr. M.; 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.251-5, 1995.
- 4- BERNIS, W.O. Ceratoplastia lamelar experimental em cães. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, v.32, n.3, p.305-23, 1980.
- 5- BLOGG, R.; DUTTON, A.G.; STANLEY, R.G. Use of third eyelid grafts to repair full-thickness defects in the cornea and sclera. **Journal American Animal Hospital Association**, v.25, n.5, p.505-12, 1989.
- 6- BRIGHTMAN, A.H.; McLAUGHLIN, S.A.; BROGDON, J.D. Autologous lamellar corneal grafting in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.195, n.4, p.469-75, 1989.
- 7- DICE II, P.E.; SEVERIN, G.A.; LUMB, W.V. Experimental autogenous and homologous corneal transplantation in the dog. **Journal American Animal Hospital Association**, v.9, n.4, p.245-69, 1973.
- 8- HACKER, D.V. Frozen corneal grafts in dogs and cats: a report on 19 cases. **Journal American Animal Hospital Association**, v.27, n.4, p.387-97, 1991.
- 9- HAKANSON, N.E.; MERIDETH, R.E. Conjunctival pedicle grafting in the treatment of ulcers in dog and cat. **Journal American Animal Hospital Association**, v.23, n.6, p.641-8, 1987.
- 10- HELPER, L.C.; BLOGG, J.R. A modified third eyelid flap procedure. **Journal American Animal Hospital Association**, v.19, n.6, p.955-6, 1983.
- 11- HERMANN, K. Therapeut use of hydrophilic contact lenses. In: KIRK, R.W.; BONAGURA, J.D. (eds.). **Current veterinary therapy X small animal practice**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1989, p.640-1.
- 12- JENSEN, E.C. Experimental corneal transplantation in the dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.142, n.1, p.11-22, 1963.
- 13- KELLER, W.F.; BLANCHARD, G.L.; KUHNS, E.L. The clinical application of homologous corneal and scleral grafts in the dog. **Journal American Animal Hospital Association**, v.9, n.4, p.265-9, 1973.
- 14- KUHNS, E.L. Conjunctival patch grafts for treatment of corneal lesions in dogs. **Modern Veterinary Practice**, v.60, n.4, p.301-4, 1979.
- 15- LAUS, J.L. Emprego de escama de sardinha (*Sardinella brasiliensis* Steidachner, 1859), conservada em glicerina, como sucedâneo de córneas no reparo de ceratectomias superficiais. Estudo experimental em cães (*Canis familiaris*-Linnaeus, 1758). 1994. 71p. Tese (Livro-Docência). UNESP Jaboticabal.
- 16- LAUS, J.L.; ROSSI, M.A.; SOUZA, M.S.B.; BARROS, P.S.M.; MORALES, A. Avaliação dos efeitos de um novo adesivo para fins biológicos (Colagel) na ceratoplastia experimental em cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.30, p.183-93, 1993. Supplement 1.
- 17- McLAUGHLIN, S.A.; BRIGHTMAN, A.H.; BROGDON, J.D.; HELPER, L.C.; REAM, V.; SZARJERSKI, M. Autogenous partial thickness corneal grafting in the dog. In: ANNUAL SCIENTIFIC PROGRAM OF THE AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY OPHTHALMOLOGISTS, 14., 1983. **Proceedings**, p.135-53.
- 18- NASISSE, M.P. Canine ulcerative keratitis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.7, n.9, p.686-701, 1985.
- 19- PARSHALL, C.J. Lamellar corneal-scleral transposition. **Journal American Animal Hospital Association**, v.19, n.4, p.270-7, 1973.
- 20- PERUCCIO, C.; BOSIO, P.; CORNAGLIA, E. Indications and limits of cyanoacrylate tissue adhesive in corneal ulcers and perforations. ANNUAL SCIENTIFIC PROGRAM OF THE AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY OPHTHALMOLOGISTS, 15., 1984. **Proceedings**, p.147-56.
- 21- ROBERTS, S.R. A feasible technic for corneal grafting. **Modern Veterinary Practice**, v.44, n.4, p.40-2, 1963.
- 22- SCHOENAU, L.S.F.; PIPPI, N.L.; SCHOSSLER, J.E.V. Avaliação clínica preliminar do fechamento comparativo de incisões corneanas com sutura e Biofill (película celulósica). **Ciência Rural**, v.23, n.2, p.173-7, 1993.
- 23- STARTUP, F.G. Corneal ulceration in the dog. **Journal of Small Animal Practice**, v.25, n.12, p.737-52, 1984.
- 24- WILKIE, D.A.; WOLF, E.D. Treatment of epibulbar melanocytoma in a dog using full-thickness eyewall resection and synthetic grafts. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.198, n.6, p.1019-22, 1991.
- 25- WILSON, S.E.; BOURNE, W.N. Corneal preservation. **Survey of Ophthalmology**, v.33, n.4, p.237-59, 1989.

Recebido para publicação: 26/8/96
Aprovado para publicação: 4/8/97