

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

AVALIAÇÃO CLÍNICA E PELA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE
VARREDURA DO ADESIVO DE FIBRINA, COMPARATIVAMENTE AO FIO DE
SUTURA NA OCLUSÃO DA INCISÃO DE CórNEA: ESTUDO EXPERIMENTAL
EM COELHOS.

Ana Carolina da Veiga Rodarte de Almeida

PORTO ALEGRE

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

AVALIAÇÃO CLÍNICA E PELA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE
VARREDURA DO ADESIVO DE FIBRINA, COMPARATIVAMENTE AO FIO DE
SUTURA NA OCLUSÃO DA INCISÃO DE CÓRNEA: ESTUDO EXPERIMENTAL
EM COELHOS.

Autora: Ana Carolina da Veiga Rodarte de Almeida

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na
área de Morfologia, Cirurgia e Patologia Animal

Orientador: Prof. Dr. João Antonio Tadeu Pigatto

Co-orientador: Prof. Dr. André Silva Carissimi

PORTO ALEGRE

2009

A447a Almeida, Ana Carolina da Veiga Rodarte de

Avaliação clínica pela microscopia eletrônica de varredura do adesivo de fibrina, comparativamente ao fio de sutura na oclusão da incisão de córnea: estudo experimental em coelhos. / Ana Carolina da Veiga Rodarte de Almeida. – Porto Alegre: UFRGS, 2009.

137 f.; il. – Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, RS-BR, 2009. João Antonio Tadeu Pigatto, Orient.

1. Oftalmologia veterinária 2. Oftalmologia animal: microscopia
3. Procedimentos cirúrgicos em oftalmologia: veterinária I. Pigatto, João Antonio Tadeu, Orient. II. Caríssimi, André Silva, Co-orient. III. Título.

CDD 619.67

Catálogo na fonte: Biblioteca da Faculdade de Veterinária da UFRGS

Ana Carolina da Veiga Rodarte de Almeida

AVALIAÇÃO CLÍNICA E PELA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO ADESIVO DE FIBRINA, COMPARATIVAMENTE AO FIO DE SUTURA NA OCLUSÃO DA INCISÃO DE CórNEA. ESTUDO EXPERIMENTAL EM COELHOS.

Aprovada em 20 FEVEREIRO, 2009.

APROVADO POR

Prof. Dr. João Antonio Tadeu Pigatto

Orientador e Presidente da Comissão

Prof^a. Dr^a. Carla de Freitas Campos

Membro da Banca

Prof. Dr. Carlos Afonso de Castro Beck

Membro da Banca

Prof. Dr. Fernando Cesar Abib

Membro da Banca

DEDICATÓRIA

A **Deus** e ao **JC**, certamente é um dos principais fatores por hoje eu estar em Porto Alegre e conseguir concretizar esse sonho.

Aos meus amados pais, **Maria Bernadete da V.R. de Almeida** e **José Henrique N. de Almeida**, pelo amor, pela confiança, pela educação, pelos valores, pela oportunidade, pelo apoio e por toda a ajuda. Obrigada por permitirem que eu vivesse e vencesse mais essa etapa da minha vida.

Aos meus amados irmãos **José Henrique R. de Almeida** e **Pedro Paulo R. de Almeida**, companheiros, cúmplices, lindos! Obrigada pelo estímulo, apoio e torcida.

À minha vó **Lurdinha V. Rodarte**, que desde o início me apoiou, torceu e vibrou comigo. Obrigada por tudo! Pelo carinho, testemunho de vida e de fé!

A todos da minha família que se preocuparam e torceram por mim.

A vocês que me ajudaram a construir a pessoa que sou hoje....

Dedico....

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a **Deus** e ao **JC**, pelo dom da vida, pela força, pelo amor incondicional de pai, que com simplicidade e humildade sempre me permitiram ter o necessário. E a **Nossa Senhora**, pela proteção e intercessão junto ao pai.

Ao meu querido orientador **Prof. João Antonio Pigatto**, pela escolha, confiança, oportunidade, orientação, motivação e ensinamentos, que foram tantos desde o início dessa jornada em Porto Alegre, que não consigo mensurar. Obrigada pelas chamadas de atenção e elogios que certamente somaram para meu crescimento pessoal e profissional. Imagino que saiba da minha admiração e respeito pelo seu profissionalismo e conhecimento. Obrigada pelo exemplo que é para mim, pois é um dos meus precursores na oftalmologia veterinária.

À equipe de oftalmologia do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, que tiveram papel fundamental nessa minha jornada. Obrigada pelo apoio, força, esforço, perseverança e meses de convívio. Principalmente agradeço à **Luciane de Albuquerque**, à **Fabiana Quartieiro** e à **Cláudia Faganello**, que tiveram papel fundamental em praticamente todas as minhas etapas nessa equipe e neste projeto. E a todos os estagiários do setor em especial à **Cássia**, pela boa vontade, esforço e ajuda com os coelhos deste experimento.

Ao **Dr. Cesar Freire**, amigo anestesista que sempre estava à disposição a nos ajudar nesse projeto. Foi o responsável por fazer os coelhos dormirem e acordá-los depois. Obrigada pela presteza, bom humor, esforço e profissionalismo nesse projeto.

Ao meu co-orientador Prof. **André Carissimi**, pela sua simplicidade, prontidão e atenção, que me auxiliaram na confecção deste trabalho.

Aos Profs. **Marcelo Alievi** e **Afonso Beck** e às suas orientadas por cederem o “coelil” do Hospital de Clínicas Veterinário, podendo assim efetivar a acomodação dos coelhos e efetuar seus pós-operatórios.

À equipe do Centro de Microscopia Eletrônica CME/UFRGS pela ajuda imprescindível em proporcionar a realização da captação das imagens da microscopia eletrônica de varredura, em especial à **Moema Q. Vieira**, à **Christiane de Q. Lopes**, ao **Leandro M. Baum** e à **Karina Marckmamm**.

A **CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior**, pela bolsa de pesquisa.

À minha querida e amada amiga **Otávia Dorigon (Tatah)**, presente de Deus na minha vida, no momento em que eu mais precisava. Não tenho palavras para expressar a sua importância em todas as etapas deste projeto e na minha vida. Obrigada pela cumplicidade, disponibilidade, humildade, carinho, empenho e por esse coração puro que me ensinou muito e me ensina a cada dia nesse jogo da vida.

À Prof. (a) **Rejane Blauth**, por realizar a revisão deste trabalho, que ajudou com afinco para o enriquecimento do mesmo. Obrigada pela disponibilidade, pela simplicidade e prontidão.

Ao **Mathias Bressel** que diante da minha urgência me ajudou com afinco na realização da análise estatística.

À bibliotecária **Ana Vera**, pela boa vontade e eficiência em todos os momentos.

Aos meus amados amigos da pós-graduação obrigada pela parceria, pelo carinho, pelos momentos de risadas. Obrigada por fazerem meus dias em Porto Alegre e na UFRGS se tornarem mais agradáveis, obrigada pela acolhida! Principalmente **Simone Scherer (Simonão)**, **Aline Gouvêia (Alinão)**, **Anelise Bonilla (Ane)**, **Elisa Neuwald (Elisão)**, **Janete Volpato (Janetão)** e **Liziane Ferraresi (Lizi)**. AMO VOCÊS!!

Aos meus amados amigos **Luciana Queiroga (Lu Boneco de Posto)**, **Marilene D'Avila (Lene)**, **Elaine Streda (Rita Hulk)**, **Karina Magano (Kari)**, **Andrea Gentili (Deia)**, **Ticiano Paludo (Tici)** e **Ataulpa D'Avila (Rick)** que me deram suporte, carinho, muito violão, muitas risadas e que foram minha família em Porto Alegre. Nunca vou esquecer vocês, AMO VOCÊS!!

Aos meus amigos do HCV-UFRGS **Vivian Schwantes (Bibian)**, **Juliana Aguiar (Ju gir)**, **Paula Hunning (Paulinha)** e **Andrea Faraon (Deiazinha)**, obrigada pelas saídas, pelas risadas, pela acolhida e principalmente pelo carinho. Estarão sempre no meu coração.

Aos meus cães **Rolf, Cork** (*in memoriam*) e **Hanna**, meus companheiros e cães de guarda de Brasília. E aos meus queridos gatos **Edubas** e **Gatolha** peças fundamentais nos meus dias em Porto Alegre que me ensinaram a entender a pureza do amor simples e incondicional sem esperar nada em troca.

A todos os residentes do HCV/UFRGS pela amizade, companhia e acolhida de cada um nas semanas que me “mudei” para a UFRGS. Obrigada pela solidariedade companheirismo e torcida.

Às equipes de plantão que de certa forma me ajudaram no projeto. Em especial **Bernardo Stefano Bercht, Fernando Cardoso, Bruno Marimom, Frederico Soares, Gabriel Lima e Verônica Mombach** que foram meus anjos da guardas noturnos no momento dos pós-operatórios dos animais.

A **todos** os professores, à equipe da esterilização e aos funcionários de todos os setores da UFRGS. Obrigada pela paciência e pela ajuda em todas as etapas do meu mestrado.

Aos vigias do HCV/UFRGS, por toda a proteção e auxílio prestados quando eu tinha que fazer a medicação na madrugada em especial a **Roberta Élide Dettenborn** e ao **Eduardo**.

Ao **Igor** responsável técnico pela Cabanha do ETA, que me proporcionou adquirir os animais deste experimento.

Aos **coelhos**, objetos de estudo deste experimento. A vocês minha inestimável gratidão.

À família **Maguilnik (Tio Ismael, Zilá, Samara, Gabriela, Débora e Matheus)** obrigada pela acolhida, pelo carinho. Obrigada por serem a minha família em Porto Alegre, não tenho palavras para expressar tamanho carinho e gratidão.

Aos amigos que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento pessoal, profissional em Porto Alegre e auxiliaram em mais esta etapa, **Carolina Casarin, Fernanda Müller, Juliano Leal, Daniel e Eduardo Perlmman**.

Aos queridos e amados amigos do Forró, **Tassi, Fran, Chamile, Pablo e Nando**, que através de muitas risadas, carinho e muito forró me ajudaram a relembrar dos encantos do forró.

Aos meus novos amigos do grupo de oração do Bom Fim. Obrigada pelo carinho acolhida, preocupação e principalmente interseção em especial **Liege, Duda, Juliano, Renata e Tânia** obrigada por me lembrarem da verdadeira alegria de viver.

Aos meus queridos amigos tão amados de Brasília!! Como não falar da saudade que bate em meu peito quando me lembro de vocês. Obrigada pelo amor, por me provarem que o amor tudo supera e que a amizade perdura até sobre grandes distâncias!! **Ariane, Rejane, Clarissa, Edu, Bela, Ana Paula, Rosana, Simoni's e Fabiana Mendes**.

À minha querida amiga e orientadora de graduação e residência, **Dra. Paula Dinis Galera**, uma das responsáveis pelo meu amor pela oftalmologia. Obrigada pela

confiança depositada em mim. Acredito que saiba do grande respeito e admiração que tenho pelo seu caráter e pelo seu profissionalismo.

Aos meus inesquecíveis amigos do HV da UnB!!! Obrigada por tudo, por acreditarem, por torcerem por mim e pelo apoio quando eu precisei de vocês. À equipe da clínica **Cristhine Martins, Cecília, Fernanda, Dharana, Giovanna, Lires, Carolina e Samara** e à minha amada equipe de cirurgia. Vocês sempre vão estar no meu coração **Martha, Luiza, Prof. Richard, Prof. Ricardo, Laila e Levi** (*in memoriam*), pessoa com a qual eu aprendi a simplicidade de viver e de sorrir.

Ao querido **Mário Sérgio Falcão**, por me conceder o privilégio de uma amizade verdadeira e tão sincera, pois desde o início me apoiou e torceu por mim, mesmo na distância e nos momentos mais difíceis dessa jornada.

Foram tantas as pessoas que contribuíram para a concretização desse trabalho e na minha jornada acadêmica na veterinária e na minha passagem por Porto Alegre, que se torna impossível agradecer nominalmente. Portanto quero agradecer a **TODAS** as pessoas que de alguma forma, com gestos, palavras ou atitudes tiveram participação essencial em mais esta etapa.

AMO VOCÊS!!!

RESUMO

As técnicas de remoção de catarata evoluíram nas últimas décadas. Na tentativa de oclusão da córnea após incisão para remoção da catarata, diversas técnicas têm sido propostas. Objetivou-se avaliar experimentalmente a viabilidade do emprego do adesivo de fibrina na oclusão da incisão de córnea em coelhos. Além disso, comparar os efeitos do adesivo de fibrina e do fio de sutura na oclusão da incisão de córnea em coelhos, utilizando-se os aspectos clínicos, a microscopia eletrônica de varredura e a morfometria. Dezesesseis coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça Nova Zelândia foram submetidos à incisão de córnea bilateral. Para a oclusão da incisão utilizou-se aleatoriamente em um bulbo do olho, adesivo de fibrina e no seu contralateral, fio de sutura. Os períodos de avaliação foram de 7 e 15 dias. As repercussões dos procedimentos foram avaliadas utilizando-se exame oftálmico. Ao final dos períodos determinados, procedeu-se à avaliação da área perincisional desprovida de células endoteliais por meio da microscopia eletrônica de varredura da morfometria e a análise estatística inferencial foi obtida pelo teste t de Student para amostras pareadas. Clinicamente, observaram-se melhores resultados nas amostras ocluídas com fio de sutura. No que se refere à área perincisional desprovida de células endoteliais, comparando-se os dois tipos de oclusão, a área das amostras seladas com fibrina apresentou-se maior que a área ocluída com fio de sutura. Neste estudo, ambas as técnicas foram eficazes na oclusão da córnea de coelhos. Porém, a avaliação valendo-se da microscopia eletrônica de varredura e da morfometria das eletromicrografias das áreas perincisionais do endotélio da córnea desprovidas de células ocluídas com fio de sutura demonstrou maior nível de significância quando comparada ao adesivo de fibrina.

Palavras-chave: Incisão de Córnea. Adesivo de Fibrina. Endotélio da Córnea. Microscopia Eletrônica de Varredura. Morfometria. Coelhos.

ABSTRACT

*The techniques for cataract removal had developed in the last decades. As an attempt to repair the cornea after incision, different techniques are proposed for corneal sealing. The objective of this study was to evaluate experimentally the viability of the use of fibrin adhesive in occlusion of the incision of the cornea in rabbits. Also compare clinically and by scanning electron microscopy and morphometry the fibrin adhesive and the suture on the sealing the cornea incision in rabbits. In this study, 16 rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) New Zealand breed were used. It was performed bilateral corneal incision. In one eye the incision was sealed with suture, in the other eye, with fibrin adhesive randomly. The periods of evaluation varied from 7 to 15 days. The repercussions at the eye were studied using the ophthalmic exam. At the end of the determinate period, it was performed the evaluation of the perincisional area without endothelial cell by means of scanning electron microscopy, morphometry and the inferential statistical analysis was made by Student t test for paired samples. Comparing the two types of sealing, the perincisional average area without endothelial cells was higher in the fibrin tissue than wired in both groups. In this study, both techniques had corneal sealing, however, the evaluation by scanning electron microscopy, and electromicrographs morphometry of the perinsional areas of the corneal endothelium without devoid cells occluded with suture wire has higher level significance when compared with fibrin adhesive.*

Key words: Corneal Incision. Fibrin Tissue. Corneal Endothelium. Scanning Electron Microscopy. Morphometry. Rabbits.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Imagem do *kit* da Beriplast P *Combi-Set*®. Observam-se um *stand* de papelão e duas embalagens distintas com dois frascos cada. Ambos encontravam-se fechados em uma bolsa protetora estéril..... 62
- Figura 2 – Imagem do aplicador devidamente preparado. Visibilizam-se as seringas repletas com adesivos fixadas ao sistema duploejetor com a cânula..... 63
- Figura 3 – Imagem per-operatória do fechamento da incisão de córnea de coelhos com adesivo de fibrina (seta)..... 65
- Figura 4 – Imagem per-operatória do fechamento da incisão da córnea de coelho com ponto simples interrompido (seta)..... 65
- Figura 5 – Representação gráfica dos valores médios da pressão intra-ocular (PIO), de ambos os bulbos dos olhos de coelhos submetidos ao procedimento cirúrgico de incisão de córnea bilateral, ocluídos com adesivo de fibrina (C) e fio de sutura (F) nos períodos pré e pós-operatório de avaliação..... 77
- Figura 6 – Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com fio de sutura (seta), obtida no 1º dia de pós-operatório. 78
- Figura 7 – Imagem fotográfica do bulbo ocular de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com fio de sutura (seta), obtida no 7º dia de pós-operatório..... 78
- Figura 8 – Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea, selada com adesivo de fibrina (seta), obtida no 1º dia de pós-operatório. 79
- Figura 9 – Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com adesivo de fibrina, apresentando prolapso de íris (seta) no 2º dia de pós-operatório..... 80
- Figura 10 – Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea e selamento com adesivo de fibrina (seta), obtida no 7º dia de pós-operatório, com bordas corneanas mal coaptadas..... 80

Figura 11 –	Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea e selamento com adesivo de fibrina (seta) obtida no 7° dia de pós-operatório, com bordas corneanas mal coaptadas.....	81
Figura 12 –	Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com adesivo de fibrina (seta), no 15° dia de pós-operatório.....	82
Figura 13 –	Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com fio de sutura (seta), no 15° dia de pós-operatório.....	82
Figura 14 –	Eletromicrografia de varredura da borda da lesão endotelial da córnea de coelho, submetido à incisão de córnea, ocluída com fio de sutura, obtida no 7° dia de pós-operatório. Notar margem da lesão incisional (LI) e ausência de células endoteliais (AC) próximo ao local da incisão. Aumento original 300 X; Barra = 50 µm.....	83
Figura 15 –	Eletromicrografia de varredura do mosaico endotelial próximo à região perincisional do endotélio corneano de coelho submetido à incisão de córnea. Evidenciam-se células, com tamanho e forma irregulares. Aumento original 1.500 X; Barra = 10 µm.....	84
Figura 16 –	Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e selada com adesivo de fibrina, obtida no 7° dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME) e ausência de células endoteliais (AC) próximo ao local da incisão devido a trauma por manipulação (T). Aumento original 45 X; Barra = 500 µm.....	85
Figura 17 –	Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e selada com adesivo de fibrina, obtida no 7° dia de pós-operatório. Notar defeito no estroma corneano onde houve protrusão de íris no centro da lesão incisional (DE) e ausência de células endoteliais (AC) próximo ao local da incisão. Aumento original 55 X; Barra = 200 µm.....	85
Figura 18 –	Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e selada com adesivo de fibrina, obtida no 7° dia de pós-operatório. Notar defeito no estroma corneano na porção superior da lesão incisional (DE) e presença de fragmento de íris aderido ao estroma corneano (I). Aumento original 40 X; Barra = 500 µm.....	86

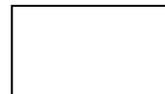


Figura 19 –	Representação gráfica dos valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com adesivo de fibrina, aos sete dias do pós-operatório (grupo 1).....	87
Figura 20 –	Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com fio de sutura, obtida no 7° dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME) e ausência de células endoteliais (AC) próximo ao local da incisão. Aumento original 45 X; Barra = 500 μm	88
Figura 21 –	Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e ocluída com fio de sutura, obtida no 7° dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME), ausência de células endoteliais (AC) próximo ao local da incisão e presença do fio de sutura emergindo do endotélio (F). Aumento original 45 X; Barra = 500 μm	88
Figura 22 –	Representação gráfica dos valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com fio de sutura, aos sete dias do pós-operatório (grupo 1).....	89
Figura 23 –	Representação gráfica dos valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm^2 , das córneas de coelhos, submetidas à incisão de córnea, ocluídas com fio de sutura, comparativamente ao adesivo de fibrina aos sete dias do pós-operatório (grupo 1).....	90
Figura 24 –	Representação gráfica dos valores das médias das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão, ocluídas com fio de sutura e adesivo de fibrina aos sete dias do pós-operatório.....	91
Figura 25 –	Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e selado com adesivo de fibrina, obtida no 15° dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME) e ausência de células endoteliais (AC). Aumento original 45 X; Barra = 500 μm	92
Figura 26 –	Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e selada com adesivo de fibrina, obtida no 15° dia de pós-operatório. Notar área de cicatrização endotelial (C), depressão corneana, com ausência de células endoteliais (AC). Aumento original 43 X; Barra = 500 μm	93

Figura 27 –	Representação gráfica dos valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com adesivo de fibrina, aos 15 dias do pós-operatório (grupo 2).....	94
Figura 28 –	Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio da córnea de coelho submetido à incisão de córnea, selada com fio de sutura, obtida ao 15º dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME) e área de cicatrização endotelial (C) com perda de definição das margens da lesão. Aumento original 45 X; Barra = 500 μm	95
Figura 29 –	Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio da córnea de coelho submetido à incisão de córnea, selada com fio de sutura, obtida ao 15º dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME), área de cicatrização endotelial (C) com perda de definição das margens da lesão e presença do fio emergindo do estroma corneano (F). Aumento original 45 X; Barra = 500 μm	95
Figura 30 –	Representação gráfica dos valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com fio de sutura, aos 15 dias do pós-operatório (grupo 2).....	96
Figura 31 –	Representação gráfica dos valores médios das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais de coelhos, expressos em mm^2 , submetidos à incisão de córnea, comparativamente à oclusão com adesivo de fibrina e fio de sutura, nos períodos de 7 e 15 dias do pós-operatório.....	98
Figura 32 –	Representação gráfica dos valores médios da área perincisional desprovida de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos, submetidas à incisão e ocluídas com adesivo de fibrina ou com fio de sutura.....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tempo cirúrgico, expresso em minutos, para a realização da oclusão da incisão de córnea em coelhos com o fio de sutura (F) e o tempo de aplicação do adesivo de fibrina (C).....	71
Tabela 2 –	Valores quantitativos da pressão intra-ocular (PIO) de ambos os bulbos dos olhos de coelhos submetidos ao procedimento cirúrgico de incisão de córnea bilateral, ocluídos com adesivo de fibrina (C) e fio de sutura (F) no grupo 1 (G1), nos períodos pré e pós-operatório de avaliação.....	74
Tabela 3 –	Valores quantitativos da pressão intra-ocular (PIO) de ambos os bulbos dos olhos de coelhos submetidos ao procedimento cirúrgico de incisão de córnea bilateral, ocluída com adesivo de fibrina (C) e fio de sutura (F) do grupo 2 (G2), nos períodos pré e pós-operatório de avaliação.....	75
Tabela 4 –	Valores mínimos, máximos, médios e o desvio padrão (DP) da pressão intra-ocular (PIO), de ambos os bulbos dos olhos de coelhos submetidos ao procedimento cirúrgico de incisão de córnea bilateral, ocluída com adesivo de fibrina (C) e fio de sutura (F) nos períodos pré e pós-operatório de avaliação.	76
Tabela 5 –	Valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com adesivo de fibrina, aos sete dias do pós-operatório (grupo 1).....	87
Tabela 6 –	Valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com fio de sutura, aos sete dias do pós-operatório (grupo 1)..	89
Tabela 7 –	Valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão, ocluídas com fio de sutura e adesivo de fibrina, comparativamente aos sete dias do pós-operatório (grupo 1).....	90
Tabela 8 –	Valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos, submetidos à incisão de córnea e ocluídas com adesivo de fibrina aos 15 dias do pós-operatório (grupo 2).	93

Tabela 9 –	Valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com fio de sutura, aos 15 dias do pós-operatório (grupo 2).....	96
Tabela 10 –	Valores médios, desvio padrão (DP) e nível de significância das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais de coelhos, expressos em mm^2 , submetidos à incisão de córnea, comparativamente à oclusão com adesivo de fibrina e fio de sutura, nos períodos de 7 e 15 dias do pós-operatório.....	97
Tabela 11 –	Valores médios, desvio padrão (DP) e nível de significância da área perincisional desprovida de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos, submetidas à incisão e ocluídas com adesivo de fibrina ou com fio de sutura.....	98

LISTA DE ABREVIATURAS

I/A - irrigação e aspiração

ARVO - *Association for Research in Vision and Ophthalmology*

ATP - adenosinatrifosfato

BSS - solução salina balanceada

DVD - Disco Digital de Vídeo

cm - centímetro

CME - Centro de Microscopia Eletrônica

CV - coeficiente de variação

EC - edema da córnea

ETA - Escola Técnica de Agricultura de Viamão

et al. - e outros

FACO - facoemulsificação

FEEC - facectomia extracapsular manual

FIC - facectomia intracapsular

FLPC - filme lacrimal pré-corneano

ICC - incisão de córnea clara

ICG - indocianina verde

Ig - imunoglobulinas

JAMs - moléculas de adesão juncional

mg - miligrama

mg/Kg - miligrama por quilograma

mmHg - milímetro de mercúrio

mm - milímetro

mm² - milímetro quadrado

Na⁺ - íon sódio

K⁺ - íon potássio

OCT - tomografia de coerência óptica

O₂ - oxigênio

PIO - pressão intra-ocular

PVPI - polivinilpirrolidona iodo

μ - micra

μm - micrômetro

μm² - micrômetro quadrado

TCA - ácido tricarbóxico

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

US - ultrassonografia

LISTA DE SÍMBOLOS

X - vezes

% - percentual

°C - grau Celsius

= - igual

± - mais ou menos

< - menor que

> - maior que

P - presente

A - ausente

- - negativo

+ - leve

++ - moderado

+++ - severo

; - e

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	OBJETIVOS	26
2.1	Geral.....	26
2.2	Específico	26
3	REVISÃO DE LITERATURA	27
3.1	Córnea.....	27
3.2	Endotélio da córnea	28
3.3.1	Técnicas de avaliação endotelial	35
3.3.2	Morfometria.....	39
3.3	História da Catarata.....	42
3.4	Facoemulsificação	44
3.4.1	Incisão de córnea.....	47
3.5	Selamento da incisão	51
3.5.1	Fios de sutura.....	51
3.5.2	Adesivos sintéticos e biológicos.....	53
4	MATERIAIS E MÉTODOS	60
4.1	Animais	60
4.2	Grupos Experimentais	60
4.3	Procedimentos pré-operatórios	61
4.4	Preparação do adesivo de fibrina.....	62
4.5	Procedimentos per-operatórios.....	63
4.6	Incisão de córnea.....	64

4.7	Procedimentos pós-operatórios	66
4.8	Protocolos de avaliação	66
4.8.1	Exame Oftálmico	67
4.8.2	Microscopia Eletrônica de Varredura	67
4.8.3	Morfometria da superfície interna da incisão	68
4.9	Análise Estatística	69
5	RESULTADOS	70
5.1	Procedimentos cirúrgicos	70
5.2	Avaliação pós-operatória	72
5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura e Morfometria	83
5.4	Análise estatística	97
6	DISCUSSÃO	100
7	CONCLUSÕES	117
	REFERÊNCIAS	118

1 INTRODUÇÃO

O endotélio corneano é uma monocamada de células, achatadas, poligonais interligadas, constituindo a superfície posterior da córnea, que limita a entrada de água e de solutos oriundos da câmara anterior para o estoma corneano (SVEDBERGH; BILL, 1972; JOHNSTON et al., 1979; SLATTER, 2005; BRANDÃO et al., 2006). Para a manutenção da transparência da córnea é necessária uma densidade celular mínima (TUFT; COSTER, 1990; BRANDÃO et al., 2006). As células endoteliais apresentam-se vulneráveis a injúrias decorrentes de trauma, radiação, manipulação cirúrgica intra-ocular, formação de imunocomplexos, envelhecimento, entre outros (WARING et al., 1982; PRASAD, 1998; RODRIGUES, 1999; WALKOW; ANDERS; KLEBE, 2000).

Os estudos que avaliaram a capacidade regenerativa do endotélio da córnea de indivíduos adultos nas espécies humana e felina demonstraram que a reparação corneana ocorre por hipertrofia e migração de células remanescentes (HOFFER, 1979; TREFFERS, 1982; LAING et al., 1983; BOURNE et al., 1994). Em coelhos, além da hipertrofia e da migração celular, a reparação endotelial ocorre devido à mitose celular (OLSEN; DAVANGER, 1984; MATSUDA et al., 1985; ICHIJIMA et al., 1993).

A opacificação da lente, importante causa de cegueira, ocorre principalmente nas espécies humana e canina e o tratamento cirúrgico é a única forma de manejo. Entre as principais técnicas já propostas para a remoção da catarata, incluem-se a extração intracapsular, a extracapsular manual e a facoemulsificação (GILGER, 1997; PIGATTO, 2004).

A facoemulsificação, comparada às demais técnicas de remoção de catarata, proporciona os melhores resultados (WALKOW; ANDERS; KLEBE, 2000; PIGATTO, 2004). Dentre as principais vantagens da facoemulsificação encontram-se a pequena incisão corneana, a manutenção da pressão intra-ocular per-operatória, a minuciosa manipulação das estruturas internas do bulbo do olho e menor tempo operatório (TABAN et al., 2004; WAISWOL, 2004).

As principais etapas da facoemulsificação incluem: incisão principal, capsulorrexe, incisão acessória, hidrodissociação, hidrodelineação, emulsificação da catarata, irrigação, aspiração e sutura (MONTENEGRO; REZENDE, 2002; TEIXEIRA, 2003).

Existem várias técnicas propostas para a realização da incisão cirúrgica visando à remoção da catarata. A incisão limbar com túnel escleral, a incisão córneoescleral com túnel e a incisão de córnea com túnel são algumas delas (MARTINES, 2000). Normalmente, as incisões de córnea auto-selantes não necessitam de sutura (WAISWOL, 2004). A incisão escleral tuneilizada auto-selante, descrita primeiramente por Ernest e MacFarland, trouxe um importante avanço à cirurgia de catarata, pois se trata de uma incisão cirúrgica consistente, segura, facilmente reproduzível e aplicável a diversos pacientes (FADEL, 2004). No entanto, esta incisão apresenta maior demora em sua realização e, conseqüentemente, maior cicatriz ao paciente (WAISWOL, 2004; FADEL, 2004).

A incisão tuneilizada auto-selante em córnea clara representa um dos mais atuais refinamentos no desenvolvimento da cirurgia de catarata (WAISWOL, 2004). É realizada no canto temporal da córnea, diminuindo assim o astigmatismo corneano (FADEL, 2004; BERDAHL; DESTAFENO; KIM, 2007) e a hemorragia escleral (MCDONNELL et al., 2003). Oferece diversas vantagens para a realização da facoemulsificação e uma rápida recuperação da acuidade visual pós-operatória (MCDONNELL et al., 2003). A morfologia da incisão de córnea e da incisão limbar está correlacionada com a angulação do bisturi utilizado na confecção da ferida cirúrgica (FADEL, 2004; TABAN et al., 2004).

Diversos métodos são propostos para a oclusão corneana após incisão. Dentre eles destacam-se as suturas, os adesivos sintéticos e os adesivos biológicos. (HOVANESIAN; KARAGEOZIAN, 2007). Estudos sugerem que a sutura na córnea seja realizada após a cirurgia de facectomia, por promover uma rápida reabilitação visual (RITTERBAND et al., 2005). Se houver dúvida por parte do cirurgião quanto ao selamento da ferida, é necessário realizar sempre a sutura corneana para minimizar os riscos de atalâmia, prolapso de íris e endoftalmite pós-operatória (FADEL, 2004).

Diferentes tipos de adesivos vêm sendo utilizados nas cirurgias oculares. Dentre estes, dois grupos se destacam: os materiais sintéticos derivados do cianoacrilato e os biológicos advindos do adesivo de fibrina (SZURMAN et al., 2006; CHEN et al., 2007).

O adesivo de fibrina é um material biológico e natural, diferindo dos derivados do cianoacrilato nos termos de biocompatibilidade e na característica de ser completamente biodegradável (CHEN et al., 2007). O uso deste agente não promove desconforto e necrose tecidual e causa mínima reação inflamatória. O adesivo biológico de fibrina vem sendo utilizado em diversas situações, como tratamento de úlceras de

córnea (CHEN et al., 2007), cirurgias de estrabismo e conjuntiva, cirurgias de glaucoma, na síntese da incisão escleral após facoemulsificação (KAUFMAN et al., 2003) e na aplicação de membrana biológica em reparações corneanas (SZURMAN et al., 2006).

Várias técnicas têm sido empregadas na análise do endotélio corneano, incluindo métodos de investigação clínica *in vivo* e os estudos *in vitro*. Dentre os métodos de avaliação endotelial *in vitro*, utilizados para análise morfométrica, destacam-se a coloração vital (TAYLOR; HUNT, 1981; GEROSKI; EDELHAUSER, 1989; RUÍZ; MEDRANO; ALIÓ, 1991) e a microscopia eletrônica de varredura (ABIB, 2000; OJEDA et al., 2001; PIGATTO et al., 2005a; PIGATTO et al., 2005b).

A microscopia eletrônica de varredura é o método de avaliação mais comumente utilizado para obter informações sobre a ultraestrutura tridimensional dos organismos (OJEDA et al., 2001). Tem se mostrado de grande valia para estudos relacionados à morfologia corneana (OJEDA et al., 2001), quanto à toxicidade de fármacos intracamerulares (ALP et al., 2000; HOLLEY et al., 2002), à eficácia de meios de preservação de córnea (ARNDT; REESE; KOSTLIN, 2001) e no estudo do endotélio de diferentes espécies (RODRIGUES, 1999; COLLIN; COLLIN, 2000a; COLLIN; COLLIN, 2000b; PIGATTO et al., 2004; PIGATTO et al., 2005a; PIGATTO et al., 2005b).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar experimentalmente a viabilidade do emprego do adesivo de fibrina na oclusão da incisão de córnea em coelhos.

2.2 Específico

Comparar experimentalmente a eficácia do adesivo de fibrina com o fio de sutura na oclusão da incisão de córnea em coelhos, avaliados clinicamente, pela microscopia eletrônica de varredura e morfometria.

Avaliar a eficiência da microscopia eletrônica de varredura e da morfometria na análise da área perincisional desprovida de células endoteliais.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Córnea

A córnea e a esclera são as estruturas mais externas e resistentes do bulbo do olho, compõem a túnica fibrosa, conferindo proteção às estruturas intra-oculares. A córnea é a principal superfície refrativa do bulbo do olho (GELATT, 1991; ALVES; KARA-JOSE, 1997; POWER; NEVES, 1997), constituindo a porção transparente da túnica fibrosa. Sua transparência é decorrente da ausência de vasos sanguíneos, da superfície epitelial não queratinizada, da ausência de pigmentação, da organização das fibras de colágeno do estroma corneano e do seu estado de deturgescência (GELATT, 1991; RODRIGUES, 1999; GELATT; GELATT 2001).

A córnea de cães, gatos e coelhos é constituída de quatro camadas: o epitélio e sua membrana basal, estroma, membrana de Descemet e endotélio corneano (PRINCE, 1964; GELATT, 1991). Alguns autores consideram o filme lacrimal pré-corneano como a quinta camada corneal (SLATTER, 1990; SLATTER, 2005). A espécie humana e os primatas apresentam ainda a membrana de Bowman (ALVES; KARA-JOSE, 1997).

A córnea em cães e gatos apresenta forma quase circular, devido à semelhança entre o diâmetro horizontal e o vertical. Raramente ultrapassa 1 mm de espessura, variando com as espécies (GWIN et al., 1982; GELATT, 1991; SLATTER, 2005). Os coelhos apresentam a córnea proeminente em relação à órbita e é relativamente larga. Sua forma não é circular, apresentando diâmetro horizontal de 15 mm e vertical de 13.5 a 14 mm. A espessura corneana de coelhos encontra-se entre 0.3 a 0.4 mm no centro e 0.45 mm na periferia, próximo ao limbo corneal (PRINCE, 1964).

Nos coelhos, o raio de curvatura encontra-se entre 7.0 e 7.5 mm, porém o raio está diretamente relacionado à idade, ao tamanho do animal e, às vezes, ao seu peso. Nos primeiros 15 meses de vida dos coelhos, o raio de curvatura corneal sofre constantes alterações (PRINCE, 1964).

A córnea é densamente inervada pelos nervos sensoriais, particularmente pelos receptores da dor. Estes receptores auxiliam no sistema de proteção corneana, para que ocorra a manutenção da sua transparência. As fibras mielínicas, localizadas na conjuntiva e episclera, advêm dos nervos ciliares longos que se originam da divisão

oftálmica do nervo trigêmeo. Ao penetrarem no ponto médio do estroma corneal, a bainha de mielina desaparece depois de 1 a 2 mm do limbo. Aproximadamente 80 grandes troncos de fibras nervosas entram no interior da córnea, ramificam-se, fazem conexões entre si e emitem filamentos anteriores e posteriores, formando uma malha regular de distribuição homogênea (PRINCE, 1964; GELATT, 1991; NASSARALLA, 2000).

As células epiteliais superficiais da córnea são altamente inervadas por fibras nervosas amielínicas e ricas em receptores da dor. Anteriormente, conforme as fibras vão se ramificando, ficam cada vez mais superficiais, curtas, finas e escassas, até atingir o epitélio, onde se entremeiam pelas células epiteliais. Nas espécies humana e canina, nenhum ou poucos são os ramos que atingem o estroma profundo e nenhum deles ultrapassa a membrana de Descemet para suprir o endotélio (GELATT, 1991; NASSARALLA, 2000). Contudo, a extensão da inervação do estroma é desconhecida em diferentes animais. Porém, sabe-se que nos coelhos, as terminações das fibras nervosas amielínicas são observadas na membrana de Descemet, bem como no endotélio corneal (PRINCE, 1964; GELATT, 1991).

3.2 Endotélio da córnea

A superfície corneal posterior é coberta por uma monocamada de células, cuja superfície anterior e posterior se apresenta como um mosaico regular de células poligonais, em sua maioria hexagonais, ocasionalmente pentagonais, mas que podem apresentar quatro, sete ou até oito lados (PRINCE, 1964; SVEDBERGH; BILL, 1972; RAO et al., 1982; DOUGHTY, 1989; BOTEON, 2000; PIGATTO, 2004; PIGATTO et al., 2006). Esse mosaico celular foi visibilizado pela primeira vez por Vogt, em 1920 (POWER; NEVES, 1997; BOTEON, 2000).

O endotélio corneano apresenta sua face anterior voltada para a membrana de Descemet e a posterior limitando-se com o humor aquoso, revestindo assim a câmara anterior (PRINCE, 1964; TUFT; COSTER, 1990; PIGATTO, 2004; SLATTER, 2005; BOTEON, 2000). Lateralmente, continua como endotélio do trabeculado escleral (BOTEON, 2000). As células endoteliais limitam a entrada de água e de solutos

oriundos da câmara anterior para o estroma corneano (TUFT; COSTER, 1990; BRANDÃO et al., 2006).

Para a manutenção da transparência da córnea é necessária uma densidade celular mínima (TUFT; COSTER, 1990; BRANDÃO et al., 2006). O bom desempenho da função endotelial depende da densidade celular, sendo esta prejudicada quando atinge o limiar de 400 a 700 células por mm^2 , com aparecimento de edema do estroma e do epitélio da córnea. As perdas de células nos dois terços centrais da córnea do adulto são substituídas por achatamento e aumento celular (DOUGHTY, 1989; BOTEON, 2000).

A superfície posterior da córnea de indivíduos da espécie humana, recoberta pelo endotélio, é de cerca de 100 mm^2 (SVEDBERGH; BILL, 1972). Nesta espécie, o recém nascido apresenta 3.500 a 4.000 células por mm^2 , o jovem tem uma densidade endotelial de 3.500 células por mm^2 e no adulto a densidade baixa para 1.400 a 2.500 células por mm^2 (BOTEON, 2000).

Pigatto et al. (2006) avaliaram, através da microscopia especular, a morfometria do endotélio corneal de caninos. Constataram que nesta espécie a área celular média encontra-se entre $395 \pm 36 \mu\text{m}^2$ e a densidade endotelial de 2.555 ± 240 células por mm^2 , sendo similar à densidade endotelial de córneas humanas de adultos.

Em humanos, o endotélio da córnea apresenta uma população de 400 a 500 mil células, com cerca de $20 \mu\text{m}$ de diâmetro e de $4\text{-}6 \mu\text{m}$ de espessura, área média de $250 \mu\text{m}^2$ e núcleo de $7 \mu\text{m}$ de diâmetro (TUFT; COSTER, 1990; BOTEON, 2000). Contudo, os coelhos apresentam uma densidade endotelial média de 3.200 células por mm^2 , com cerca de $20 \mu\text{m}$ de diâmetro e de $3\text{-}5 \mu\text{m}$ de espessura (PRINCE, 1964).

Ao seccionar-se o endotélio de coelhos observa-se o núcleo largo, alongado, com formato de rim, paralelo à membrana de Descemet. Nos coelhos, não é incomum encontrar dois núcleos por célula endotelial, sendo que estes apresentam diferentes formas e tamanhos. Porém, os núcleos duplos são raramente encontrados em coelhos jovens (PRINCE, 1964). Outrossim, o núcleo de primatas e carnívoros é achatado, grande e oval, que preenche uma porção significativa da célula endotelial e sua disposição é regular através da córnea (POWER; NEVES, 1997; BOTEON, 2000).

Na maioria das espécies, indivíduos jovens exibem homogeneidade quanto ao tamanho e à forma das células endoteliais (YEE; EDELHAUSER; STERN, 1987; DOUGHTY, 1989; TUFT; COSTER, 1990; COLLIN; COLLIN, 1998).

A membrana basal do endotélio encontra-se aderida à membrana de Descemet. Porém, não se observam hemidesmossomas, complexos juncionais típicos de associação da membrana celular com a lâmina basal (PIGATTO, 2004). Sendo assim, devido à ausência de complexos juncionais, a membrana endotelial é facilmente deslocada em situações de injúrias mecânicas, como os procedimentos cirúrgicos intra-oculares (WARING et al., 1982; TUFT; COSTER, 1990; PIGATTO, 2004).

Estudos valendo-se da microscopia eletrônica de varredura demonstraram que a membrana celular apresenta um curso oblíquo e tortuoso. Apresenta também interdigitações entre as células endoteliais vizinhas, caracterizando o complexo juncional (*zona occludens, macula occludens e macula adherens*) (TUFT; COSTER, 1990; RODRIGUES, 1999; BOTEON, 2000). Os Complexos juncionais, compostos por moléculas de adesão juncionais (JAMs), interligam as células endoteliais e atuam em grande variedade dos processos celulares. São classificados como uma superfamília de imunoglobulinas (Ig). A JAM-A atua na regulação da permeabilidade, migração de leucócitos, angiogênese e agregação plaquetária, através da polimerização das células (MANDELL et al., 2006).

A membrana celular posterior do endotélio apresenta cerca de 20 a 30 microvilosidades por célula, que na espécie humana medem 0,1 a 0,2 μm de largura por 0,5 a 0,6 μm de altura (DOUGHTY, 1989; DOUGHTY, 1998; BOTEON, 2000; COLLIN; COLLIN, 2000b). Estas estruturas são características constantes das células endoteliais de humanos, primatas, coelhos e aves (COLLIN; COLLIN, 2000b).

O citoplasma das células endoteliais é rico em organelas, responsáveis pelo transporte ativo, síntese de proteínas e síntese de componentes da membrana de Descemet. As células endoteliais contêm inúmeras mitocôndrias, apresentando morfologia longa e com suas cristas orientadas longitudinalmente, retículo endoplasmático liso e rugoso proeminentes e aparelho de Golgi bem desenvolvido, com a presença de vesículas citoplasmáticas ligadas a essa estrutura (PRINCE, 1964; TUFT; COSTER, 1990; BOTEON, 2000).

No citoplasma endotelial ainda são encontrados grânulos de pigmentos parecendo melanina das células uveais, fagocitados do humor aquoso e lisossomas ocasionais (RODRIGUES, 1999; BOTEON, 2000). As aberturas das vesículas pinocíticas, cujo diâmetro médio é de 0,1 μm , fazem faces para a membrana de Descemet e são encontradas nas superfícies internas das membranas laterais e

posteriores de cada célula endotelial. Sua presença indica haver pinocitose (TUFT; COSTER, 1990; BOTEON, 2000).

A estrutura endotelial vem sendo estudada em humanos (RAO et al., 1982; ABIB, 2000; YUNLIANG et al., 2007), macacos, cães (GWIN et al., 1982; PIGATTO et al., 2006; RODRIGUES et al., 2006; PIGATTO et al., 2008), gatos (LING; VANNAS; HOLDEN, 1988; HUANG; NELSON; BOURNE, 1989; ARNDT; REESE; KOSTLIN, 2001; FRANZEN, 2007), jacarés do pantanal (PIGATTO et al., 2004), pingüins de Magalhães (PIGATTO et al., 2005b), lhamas (ANDREW; WILLIS; ANDERSON, 2002), ovinos (BRANDÃO et al., 2006), peixes (COLLIN; COLLIN, 2000a), equinos (ANDREW et al., 2001), avestruzes (PIGATTO et al., 2009), suínos (TAMAYO-ARANGO et al., 2009), espécies experimentais, tais como coelhos (PRINCE, 1964; DOUGHTY, 1998; PIGATTO et al., 2005a; MANDELL et al., 2006), porcos da Índia, ratos (TUFT; WILLIAMS; COSTER, 1986) e em vertebrados em geral (COLLIN; COLLIN, 1998).

A principal função do endotélio corneano é manter uma barreira efetiva do humor aquoso, manter uma bomba metabólica e criar condições para transparência corneana (LANDSHMAN et al., 1988; POWER; NEVES, 1997). Para o controle da hidratação relativa da córnea é necessário energia, que advém em sua maior parte do metabolismo da glicose (TUFT; COSTER, 1990; NASSARALLA, 2000; RODRIGUES et al., 2006). A principal fonte de glicose é o humor aquoso. Duas cadeias de metabolismo da glicose estão presentes na córnea: ciclo de Krebs, isto é, glicólise com oxidação através da via do ácido tricarboxílico (TCA), basicamente ativo no epitélio corneal e via hexose-1-fosfato (ciclo da pentose) (NASSARALLA, 2000).

O equilíbrio osmótico da córnea ocorre pela diferença na concentração de eletrólitos em cada uma de suas camadas. O epitélio contém grande concentração de íons potássio, enquanto que no estroma abundam os íons sódio. Nos líquidos que circundam a córnea (FLPC, humor aquoso e o plasma dos vasos da periferia) há uma grande concentração de íons de sódio. O transporte ativo de Na^+ é mediado pela enzima $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, localizada na parede lateral da membrana plasmática (NASSARALLA, 2000; MANDELL et al., 2006). A degradação do ATP fornece a energia necessária, que induz à movimentação de íons de bicarbonato, sódio e potássio, gerando gradiente osmótico que mobiliza o líquido do estroma corneano (NASSARALLA, 2000; PIGATTO, 2004).

A maior parte do oxigênio consumido pela córnea é utilizado pelo epitélio e pelo endotélio para realizar suas atividades metabólicas. O endotélio recebe oxigênio do humor aquoso. No caso de ausência do oxigênio, a cadeia glicolítica fica impossibilitada de manter a função corneana por si só e, como consequência, a córnea pode se edemaciar e se tornar opaca (NASSARALLA, 2000).

A córnea conserva seu conteúdo aquoso em um nível estável de relativa desidratação, oscilando entre 75% a 80% do seu peso. Os fatores que podem influenciar diretamente nesta taxa de hidratação são basicamente: a integridade anatômica do epitélio e endotélio, o equilíbrio osmótico e eletrolítico, o metabolismo, a evaporação da água através da superfície anterior e a pressão intra-ocular (NASSARALLA, 2000).

Estudo afirmam que na maioria das espécies, como nos humanos, macacos, ratos, felinos, cães e coelhos (GWIN et al., 1982; ABIB; 2000; PIGATTO et al., 2006; RODRIGUES et al., 2006), ocorre decréscimo fisiológico na densidade endotelial e modificações da morfologia celular com o avanço da idade (PRINCE, 1964; GWIN et al., 1982; WARING et al., 1982; BAHN et al., 1986; RODRIGUES, 1999; TUFT; COSTER, 1990; ABIB; BARRETO JR, 2001; ANDREW et al., 2001; PIGATTO, 2004). De acordo com Prince (1964), os coelhos senis apresentam diminuição da área celular de 18-24 μm^2 para 8 μm^2 .

No primeiro ano de vida, os indivíduos da espécie humana apresentam um declínio acentuado na densidade endotelial, influenciado principalmente pelo diâmetro da córnea (BAHN et al., 1986; TUFT; COSTER, 1990). É estimado que entre 20 e 80 anos de idade, a densidade endotelial em córneas hípidas de indivíduos da espécie humana, diminui gradativamente a uma taxa de 0,5% ao ano (TUFT; COSTER, 1990).

Além do declínio da densidade endotelial decorrente da idade, as funções do endotélio podem ser alteradas por inúmeros fatores, incluindo *diabetes mellitus*, trauma, glaucoma, distrofia ou inflamação intra-ocular e perfusão da câmara anterior com substâncias livres de cálcio ou pH incompatível entre outros (WARING et al., 1982; LANDSHMAN et al., 1988; DOUGHTY, 1989; TUFT; COSTER, 1990; PILLAI et al., 2000; PIGATTO et al., 2006). Defeitos endoteliais podem causar edema estromal, levando à perda parcial ou completa da transparência da córnea (LANDSHMAN et al., 1988; NASSARALLA, 2000; ABIB; BARRETO JR, 2001; PIGATTO et al., 2006).

Sabe-se que a atividade mitótica das células endoteliais é mais intensa em indivíduos jovens, comparativamente aos idosos (MACCALLUM et al., 1983; TUFT; WILLIAMS; COSTER, 1986; PIGATTO, 2004). Na fase de crescimento do coelho, a

maior parte da atividade mitótica ocorre irregularmente na periferia da córnea, e a atividade é melhor no período da manhã. Nos animais adultos ocorre um decréscimo na atividade mitótica (PRINCE, 1964). Hoffer e Phillipi (1978) verificaram que o estímulo a partir do qual se inicia a reparação endotelial decorre da perda do contato entre as células.

Durante a fase inicial do processo de reparação, ocorre hipertrofia de células adjacentes, resultando em aumento do seu tamanho e diminuição da densidade endotelial (MISHIMA, 1982; PIGATTO, 2004; STUMPF; NOSÉ, 2006). Adjudoriamente às alterações associadas à contagem celular, ocorre também o declínio do número de células com formato hexagonal (LAING et al., 1976; RAO et al., 1982; MATSUDA et al., 1985; PIGATTO, 2004). Após o recobrimento da área lesada, há a reorganização da camada celular, que reassume o seu aspecto usual de mosaico endotelial (YEE et al., 1985).

O tempo necessário para restauração morfofuncional do endotélio corneano é variável. Além das características específicas relacionadas a cada espécie, ele é dependente, principalmente, da extensão da lesão (PRINCE, 1964; MATSUDA et al., 1985; YEE et al., 1985; PIGATTO, 2004).

Já é conhecida a inabilidade do endotélio humano em se regenerar por mitose, bem como a capacidade regenerativa limitada do endotélio canino (MACCALLUM et al., 1983). Estudos avaliaram a capacidade regenerativa das células endoteliais de indivíduos adultos nas espécies humana e felina, demonstrando que a reparação do endotélio corneano ocorre por hipertrofia e migração de células remanescentes (HOFFER, 1979; TREFFERS, 1982; LAING et al., 1983; LANDSHMAN et al., 1988; HUANG; NELSON; BOURNE, 1989; BOURNE et al., 1994). Portanto, nos casos onde o comprometimento endotelial é extenso, ocorre edema acentuado com perda de transparência corneana, geralmente de forma irreversível, pois nestas espécies não ocorre regeneração endotelial (LANDSHMAN et al., 1988; NASSARALLA, 2000).

Maccallum et al. (1983), através da microscopia eletrônica de varredura, avaliaram o endotélio corneano de felinos de um mês de idade e de animais adultos. Observaram que as células endoteliais dos filhotes apresentaram-se com um alto grau de pleomorfismo, com uma superfície hexagonal regular, sugerindo a ocorrência de mitose celular. Não obstante, nos animais adultos, ocorreram processos de hipertrofia celular (MACCALLUM et al., 1983). Outrossim, alguns estudos revelam que nos humanos e felinos ocorre alguma atividade mitótica em indivíduos jovens. Contudo, ela é

insuficiente para substituir as células que foram lesadas e a reparação ocorre sempre associada à hipertrofia e à migração de células remanescentes (BAHN et al., 1986; TUFT; WILLIAMS; COSTER, 1986; LANDSHMAN et al., 1988; LANDSHMAN; SOLOMON; BELKIN, 1989; PIGATTO, 2004).

Nos cães, Gwin et al. (1982), Maccallum et al. (1983) e Pigatto (2004) notificaram que a reparação endotelial decorre da hipertrofia das células remanescentes e que, em função da idade, ocorrem alterações na forma das células, com grande contingente de células com tamanho aumentado e com forma alterada.

Em coelhos, além de hipertrofia e migração celular, observa-se uma intensa capacidade regenerativa do endotélio corneal (MACCALLUM et al., 1983; MATSUDA et al., 1985; YEE et al., 1985; LANDSHMAN; SOLOMON; BELKIN, 1989). A mitose endotelial em coelhos adultos é encontrada apenas após injúrias endoteliais (PRINCE, 1964; YEE et al., 1985; TUFT; WILLIAMS; COSTER, 1986). Entretanto, existe um período no processo de regeneração onde a densidade endotelial apresenta-se diminuída, mesmo com o total reestabelecimento do tecido corneal (MATSUDA et al., 1985; BAHN et al., 1986; LANDSHMAN et al., 1988; LANDSHMAN; SOLOMON; BELKIN, 1989).

Yee et al. (1985), após induzirem congelamento transcorneal em coelhos, avaliaram e compararam a função fisiológica das bombas de Na^+ e K^+ e sua barreira endotelial, estudando a diferenciação morfológica presente no momento do processo de cicatrização endotelial. Concluíram que a normalização do tecido corneal central lesionado, da densidade endotelial e da permeabilidade foram precedidos pelo estabelecimento do mosaico endotelial normal, sendo que a cobertura da ferida ocorreu por migração e mitose celular. Para tanto, afirmaram que durante o período de cicatrização endotelial as células sofreram significativa remodelação. Conforme observaram aumento da densidade celular, as células tornaram-se mais uniformes em tamanho e assumiram sua configuração hexagonal normal. Após 30 dias, todos os parâmetros morfológicos voltaram à normalidade.

Silverstein; Khodadoust; Prendergast (1982), após induzirem, por congelamento, uma lesão endotelial na córnea de coelhos, observaram que decorridas 72 horas, a área lesada apresentava-se recoberta por células endoteliais. Os autores atribuíram o processo reparativo à atividade mitótica das células endoteliais e à migração das células adjacentes.

Matsuda et al. (1985) induziram trauma mecânico no endotélio de coelhos e, valendo-se da microscopia especular, efetivaram a avaliação da cicatrização endotelial. Concluíram que após as primeiras 3 horas da ocorrência da lesão, as células endoteliais migram sobre a ferida, caracterizadas por leves alterações em sua aparência morfológica. Matsuda et al. (1985) e Yee et al. (1985) evidenciaram ainda, após 24 a 48 horas, células grandes e irregulares, caracterizando figuras de mitose.

3.3.1 Técnicas de avaliação endotelial

Várias técnicas têm sido empregadas na análise do endotélio corneano, incluindo métodos de investigação clínica *in vivo* e os estudos *in vitro*.

A microscopia especular, desenvolvida por Maurice em 1968, permitiu a avaliação das células endoteliais *in vivo* sem que fossem lesadas. É a modalidade semiológica mais objetiva para avaliação endotelial (ABIB; GUIMARÃES, 2000). Além disso, tem sido utilizada na avaliação *in vivo* do endotélio corneano em diversas espécies incluindo a humana, a canina, a felina, os ratos, os coelhos, entre outros (GWIN et al., 1982; MATSUDA et al., 1985; YEE et al., 1985; TUFT; WILLIAMS; COSTER, 1986; LING; VANNAS; HOLDEN, 1988; HUANG; NELSON; BOURNE, 1989; COLLIN; COLLIN, 1998; ABIB; GUIMARÃES, 2000; ABIB; BARRETO JR, 2001; ANDREW et al., 2001; PIGATTO et al., 2006; PIGATTO et al., 2008).

A microscopia especular é baseada na reflexão de um feixe luminoso incidente sobre o endotélio da córnea, possuidor de comportamento de superfície regular. Desta forma, parte do feixe luminoso incide sobre o endotélio corneal e reflete de forma especular (o ângulo do raio luminoso incidente é igual ao ângulo do raio luminoso refletido, em relação à normal) e é captado pelo microscópio especular, que apresenta a imagem especular magnificada (LAING; SANDSTROM; LEIBOWITZ, 1979; ABIB; GUIMARÃES, 2000). Esta técnica permite avaliar os parâmetros morfológicos e morfométricos das células endoteliais, bem como a espessura corneana (LAING; SANDSTROM; LEIBOWITZ, 1979; MÓDIS; LANGENBUCHER; SEITZ, 2002; STUMPF; NOSÉ, 2006).

O equipamento fornece a densidade endotelial estimada, a área celular, o pleomorfismo, o polimegatismo, a maior e menor célula e o percentual de células

hexagonais (ABIB, 2000; PIGATTO et al., 2006; STUMPF; NOSÉ, 2006). A área celular é expressa em μm^2 e a densidade celular expressa em mm^2 . Fornece ainda as respectivas médias e desvios padrões das amostras analisadas (DAVANGER; OLSEN, 1984; ABIB; GUIMARÃES 2000).

Tem sido amplamente empregada na avaliação pré e pós-operatória do endotélio de indivíduos que passarão ou passaram por procedimentos cirúrgicos no segmento anterior do bulbo do olho (DICK et al., 1996; PIGATTO, 2004; PIGATTO et al., 2006), sendo utilizada também na avaliação das repercussões dos fármacos aplicados internamente ao bulbo do olho e na avaliação de meios de preservação de córneas (ALP et al., 2000; ALVES, 2001; PIGATTO et al., 2006).

Outra opção de análise endotelial é a microscopia confocal. É um método não invasivo, que permite a realização, além da morfometria endotelial, de estudos *in vivo* de todas as camadas da córnea, com excelente resolução de imagem (CANAVAGH et al., 2000; HARA et al., 2003; JALBERT et al., 2003; ECKARD; STAVE; GUTHOFF, 2006).

Klais; Bühren; Kohlen, (2003), ao compararem a contagem de células endoteliais em indivíduos da espécie humana à microscopia especular e à confocal, concluíram que, relativamente à densidade endotelial, as técnicas apresentaram valores equivalentes. Discordaram parcialmente de Hara et al. (2003), que afirmaram que a biomicroscopia confocal é superior à microscopia especular de não contato para examinar o endotélio corneano de indivíduos que apresentam esta estrutura irregular. Portanto, é importante optar pela técnica apropriada para a observação do endotélio corneal nos pacientes, objetivando-se obter uma precisa avaliação da função endotelial.

A avaliação corneana pode, ainda, se dar por sua anatomia através do exame de tomografia de coerência óptica (OCT). A tomografia de coerência óptica é uma nova tecnologia desenvolvida para se obter imagens de alta resolução (2-10 μm) de tecido biológico *in vivo*. Este é um método não destrutivo e de não contato para obtenção de imagens, similares às imagens de ultra-sonografia (US), exceto, pelo fato das imagens serem geradas pela infusão de raios de infravermelho, para obtenção da imagem (MCDONNELL et al., 2003; TORRES et al., 2006).

Em estudo realizado por Taban et al. (2004), a tomografia de coerência óptica foi utilizada para avaliar a estabilidade das incisões de catarata, ou seja, a dinâmica da morfologia da incisão cirúrgica, influenciada pela flutuação da pressão intra-ocular

(PIO), avaliando o posicionamento auto-selante da ferida cirúrgica. Este estudo revelou que a pressão intra-ocular, o ângulo da incisão, a localização e o tipo de incisão são fatores determinantes na estrutura da lesão cirúrgica. Portanto, podem proporcionar o acesso de organismos patogênicos ao interior do bulbo do olho, levando a uma endoftalmite, quando a integridade da incisão cirúrgica não é mantida.

Dentre os métodos de avaliação endotelial *in vitro* utilizados para análise endotelial, destacam-se a coloração vital e a microscopia eletrônica de varredura. Valendo-se dos corantes vitais e da microscopia óptica, a coloração intercelular obtida pela técnica de vermelho de alizarina é um efetivo método para visibilização das bordas celulares (TAYLOR; HUNT, 1981; GEROSKI; EDELHAUSER, 1989). Este método é tão efetivo quanto à técnica de impregnação de prata, quando relacionada à demarcação das margens celulares. Ambos os testes vêm sendo utilizados na avaliação da integridade endotelial (GEROSKI; EDELHAUSER, 1989).

Ruíz; Medrano; Alió (1991), valendo-se dos corantes vitais e da microscopia óptica na avaliação do endotélio corneano, afirmaram ser uma técnica de baixo custo, de fácil execução e aprendizado e rápida aplicabilidade na investigação do endotélio corneano.

Sperling (1977) e Ruíz; Medrano; Alió (1991) descreveram a utilização do azul tripan concomitante ao vermelho de alizarina como método de coloração vital do endotélio corneano. A combinação dos corantes permitiu observar as bordas celulares, núcleos das células e áreas com ausência de células endoteliais.

Geroski; Edelhauser (1989), comparando o estudo da morfometria endotelial de córneas humanas e de coelhos, obtidas pela microscopia especular e pela coloração de vermelho de alizarina, demonstraram que a técnica de vermelho de alizarina pode ser utilizada para obter dados fidedignos sobre a morfometria endotelial. Nas córneas doadoras da espécie humana, os dados morfométricos, obtidos pela coloração de vermelho de alizarina, são comparáveis inteiramente aos dados obtidos pela microscopia especular das córneas doadoras *in situ*.

Means et al. (1995), valendo-se dos corantes vitais, estudaram as repercussões endoteliais decorrentes da preservação de córneas humanas no Optisol-GS destinadas a ceratoplastias totais e relataram que a viabilidade endotelial é mantida por até 21 dias, após a conservação das mesmas.

A microscopia eletrônica de varredura é o método de avaliação mais comumente utilizado para obter informações sobre a ultra-estrutura tridimensional dos organismos

(OJEDA et al., 2001). Tem se mostrado de grande valia para estudos relacionados à morfologia (OJEDA et al., 2001) e morfometria corneanas (PIGATTO et al., 2004), quanto à toxicidade de fármacos intracamerulares (ALP et al., 2000; HOLLEY et al., 2002), à eficácia de meios de preservação de córnea (ARNDT; REESE; KOSTLIN, 2001), às superfícies das estruturas, como o epitélio (OJEDA et al., 2001) e na investigação do endotélio de diferentes espécies (RODRIGUES, 1999; COLLIN; COLLIN, 2000a; COLLIN; COLLIN, 2000b; PIGATTO et al., 2004; PIGATTO et al., 2005a; PIGATTO et al., 2005b).

Ojeda et al. (2001) afirmaram que a maioria dos estudos de MEV da córnea é restrito às superfícies epiteliais e endoteliais, visto que o interior da córnea é muito compacto para ser explorado e os componentes celulares são completamente embebidos por matrizes extracelulares. Valendo-se da MEV, estudaram a organização tridimensional das células e das substâncias extracelulares da córnea de humanos e coelhos após digestão enzimática destes materiais com HCL e NaOH e pela microdisseção.

Rodrigues (1999), valendo-se das microscopias óptica e eletrônica de varredura, avaliou 30 cães de diferentes faixas etárias. Os resultados obtidos demonstraram que em cães, o endotélio sofre alterações decorrentes da idade similarmente aos indivíduos da espécie humana. Isto foi confirmado posteriormente por Abib (2000), que realizou este exame em células endoteliais de humanos de diferentes faixas etárias, demonstrando que em idosos elas encontram-se aumentadas, devido à diminuição da densidade celular endotelial decorrente principalmente do avanço da idade. As respostas endoteliais a diversas injúrias variam com a espécie acometida (PIGATTO et al., 2005a).

Pigatto et al. (2004), através da MEV estudaram a morfometria do endotélio do jacaré-do-pantanal. A análise morfométrica demonstrou que o endotélio corneano desta espécie apresenta formas poligonais, em sua maioria hexagonal e pentagonal, com tamanhos uniformes e interdigitações em suas bordas celulares. Concluíram que o endotélio corneano de jacaré-do-pantanal é similar ao endotélio da córnea das demais espécies de vertebrados.

Binder; Akers; Zavala (1979), valendo-se da microscopia eletrônica de varredura, observaram densidade celular endotelial significativamente maior quando comparada à encontrada pela microscopia especular, em córneas humanas.

Pigatto (2004) afirmou que, ao se realizarem as etapas de preparo das amostras para estudos ultra-estruturais, ocorrem graus variáveis de retração celular, corroborando

com o estudo de Schurttén e Van Horn (1980), que verificaram a ocorrência de 29% de retração endotelial após o preparo corneano para estudos à microscopia eletrônica de varredura. Doughty; Bergmanson; Blocker, (1997), relataram não haver diferenças significativas quanto à retração celular entre as regiões central e periférica da córnea de coelhos, após o preparo destas estruturas para a microscopia eletrônica de varredura.

Mishima et al. (1982) afirmaram que o endotélio de coelhos, ao sofrer algum tipo de lesão, pode sofrer dois tipos de reparações. A primeira é por migração celular e a segunda por mitose celular. Logo após a injúria, as junções intercelulares desaparecem, são visibilizadas células com formatos irregulares e com processos citoplasmáticos extensos. Quando a área desnuda é coberta por células e as mesmas entram em contato entre si, os complexos juncionais são restaurados. Afirmaram ainda, que o processo de proliferação mitótica se inicia após 24 a 48 horas da lesão endotelial. Concordando com Matsuda et al. (1985) e Yee et al. (1985), que afirmaram ainda, que após 24 a 48 horas evidenciaram células grandes e irregulares, caracterizando figuras de mitose.

Mishima et al. (1982) relataram ainda, que o endotélio de coelhos, três meses após sofrer lesões mecânicas decorrentes de procedimento de facoemulsificação, a área lesionada encontra-se completamente regenerada.

Visando-se à análise endotelial, Doughty; Dilts (1994) após a captação de eletromicrografias da córnea humana e de coelhos, por microscopia eletrônica de varredura, desenvolveram um método que permitiu ilustrar como o mosaico endotelial e as células poligonais podem ser matematicamente descritas em parâmetros estatísticos convencionais em relação à variância e por representação gráfica. Permitiram identificar a distribuição topográfica dos polígonos de vários tamanhos, tendo como métodos preconizados a planimetria, *software* específico e computador pessoal. Concluíram que os métodos desenvolvidos podem ser aplicados na comparação quantitativa das células da monocamada encontradas nas secções dos tecidos.

3.3.2 Morfometria

Nas ciências biomédicas, a quantificação tem como metas aferir as medidas e proporcionar a objetividade para estabelecer o diagnóstico e até mesmo o prognóstico, no campo da anatomia patológica (TEIXEIRA et al., 2005).

A morfometria é formada pelo radical grego - *morphé*, que significa forma, associada ao radical grego - *metrikós*, ou do latim - *metricu*, que significa ato de medir ou processo de estabelecer dimensões. Embora o termo tenha aplicação ampla na ciência, o sentido em biomedicina seria “a atividade de medir estruturas anatômicas”. Esse método tem por função tornar mais objetiva e precisa a coleta de dados, a apresentação e a análise dos resultados obtidos em pesquisas e na rotina de laboratório, permitindo ainda relacionar as diferentes estruturas anatômicas com as suas funções específicas (UTHSCSA, 2002; TEIXEIRA et al., 2005).

As análises macro e microscópicas devem ser precedidas pela calibragem das medidas nos equipamentos e acessórios usados. É utilizada uma régua de precisão ou uma lâmina micrometrada, que geralmente está disponível com um milímetro impresso, subdividido em 100 partes. Portanto, cada subdivisão é equivalente a 10 μ m (UTHSCSA, 2002; PRIOLLI et al., 2003; IMAGE J, 2004; TEIXEIRA et al., 2005). Esta calibração permitirá a obtenção de dados em tempo real, tais como as dimensões em milímetros, microns, pés, milhas e dimensões lineares e de áreas (UTHSCSA, 2002).

Para realizar a morfometria macroscópica, os acessórios utilizados vão desde os mais simples, como a régua e a fita métrica, até os mais sofisticados associados à computação gráfica, como a ultrassonografia, a tomografia computadorizada e a ressonância magnética. Um método que utiliza tanto recursos da macro quanto da microscopia é a projeção digital de imagens, na qual as imagens obtidas no microscópio de luz ou eletrônico podem ser projetadas e avaliadas a olho nu ou utilizando-se outros acessórios morfométricos, como uma matriz integrada de pontos (IMAGE J, 2004; TEIXEIRA et al., 2005).

Na morfometria microscópica, a ocular integradora é um recurso freqüentemente utilizado. O princípio de utilização é a identificação da sobreposição dos pontos ou linhas da ocular com determinada estrutura, por exemplo, células, vasos, colágeno, etc. Pode ser substituída por uma matriz de pontos colocada na tela de um monitor ligado a uma câmera de vídeo acoplada ao microscópio. O seu uso ainda é atual, pois não há forma de substituição pela morfometria computadorizada. Outros recursos deste grupo seriam a câmara-clara, que pode ser acoplada ao microscópio de luz ou uma lupa (microscópio estereoscópico). Esse conjunto permite o desenho do campo observado ao microscópio/lupa em uma folha de papel ou uma mesa digitalizadora. Embora esses recursos ainda sejam empregados, eles foram mais freqüentemente utilizados antes do

advento da morfometria computadorizada (PRIOLLI et al., 2003; TEIXEIRA et al., 2005).

A morfometria computadorizada pode ser classificada como interativa, onde os primeiros aparelhos que surgiram na década de 70 permitiam apenas que as medidas fossem mensuradas com a participação direta do pesquisador contornando as estruturas a serem aferidas (UTHSCSA, 2002; TEIXEIRA et al., 2005). E a morfometria automática, que foi disponibilizada em larga escala à comunidade científica a partir do final da década de 80 e permite a medição automática, mais rápida e com menor interação do pesquisador, inclusive com a utilização de "Macros". São gravações da rotina do procedimento morfométrico que agilizam ainda mais a coleta de dados. (TEIXEIRA et al., 2005).

3.3 História da Catarata

A catarata é definida como qualquer opacidade do cristalino ou de sua cápsula, unilateral ou bilateral, podendo apresentar vários estágios de desenvolvimento. Nos estágios iniciais e intermediários, quando aparecem opacidades localizadas, em geral a visão está preservada. Nos estágios avançados, se os dois bulbos dos olhos forem afetados, o animal apresenta perda funcional da visão, sendo necessário tratamento cirúrgico (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; TEIXEIRA, 2003).

Diversas técnicas cirúrgicas para remoção de catarata surgiram, como a da extração intracapsular, descrita inicialmente por St. Yves em 1722 (SOUZA; RODRIGUES; SOUZA, 2006). Esta técnica consiste na facectomia, removendo-se o córtex, o núcleo, bem como as cápsulas lenticulares, através de uma incisão de aproximadamente 180°, próximo ao limbo (DZIEZYC, 1990).

Todavia, a primeira grande evolução na cirurgia de catarata começou em 13 de abril de 1752, quando Jacques Daviel sugeriu a remoção da catarata por meio da abertura da cápsula anterior e incisão na córnea de 180°, conhecida como extração extracapsular (SOUZA; RODRIGUES; SOUZA, 2006).

Em 1884, Carl Koller descobriu o efeito anestésico local da cocaína, possibilitando o aprimoramento da técnica cirúrgica (TEIXEIRA, 2003; SOUZA; RODRIGUES; SOUZA, 2006). A sutura corneana contribuiu para a recuperação mais precoce e menor índice de complicações pós-operatórias, tendo sido descrita pela primeira vez por Williams em 1865. Nesse procedimento, eram utilizadas agulha de costura e seda de luva feminina (SLATTER, 1990; TEIXEIRA, 2003).

Os primeiros relatos de extração de catarata em cães são atribuídos a Moller, (1886 *apud* GELATT; GELATT, 2001; TEIXEIRA, 2003) e posteriormente a Berlin (1887 *apud* GELATT; GELATT, 2001; TEIXEIRA, 2003), referem-se a técnicas *couching* e discisão. A primeira extração intracapsular relatada em cães foi realizada em 1936, por Bartholomew. Posteriormente, Uberreiter descreveu a técnica intracapsular para remoção de lentes luxadas com boa taxa de sucesso (BARTHOLOMEW, 1936 *apud* GELATT; GELATT, 2001; TEIXEIRA, 2003). Porém, Knight (1957 *apud* PIGATTO, 2004) reportou bons resultados em apenas 29% dos cães operados.

Grandes avanços médicos foram alcançados durante a segunda metade do século XX, como resultado da Segunda Guerra Mundial, e isto repercutiu na

oftalmologia. O primeiro acontecimento foi a introdução da microcirurgia. Os equipamentos para amplificação, inicialmente as lupas, e após 1950, quando Harms e Barraquer modificaram os microscópios, adaptando-os ao uso oftalmológico. (WHITLEY et al., 1993; TEIXEIRA, 2003; SOUZA; RODRIGUES; SOUZA, 2006).

Nos cães, a facectomia intracapsular causa severas conseqüências pós-operatórias. Sendo assim, atualmente, é preconizada apenas para remoção de lente luxada ou subluxada, onde a maioria das zônulas ciliares encontram-se rompidas. Como complicações, observaram-se prolapso do vítreo anterior, descolamento de retina, hemorragia coroidal e deiscência de sutura (DZIEZYC, 1990; WHITLEY et al., 1993).

Com a melhora do conhecimento anatômico e fisiológico do bulbo do olho dos animais, estabeleceram-se normas para a cirurgia nessas espécies, o que contribuiu para aumentar a taxa de sucesso cirúrgico (BARROS, 1990). No procedimento de facectomia em cães preconiza-se uma incisão corneana de aproximadamente 180°, próximo ao limbo. É necessário realizar a capsulorrexe anterior, para a remoção total do núcleo e córtex lenticular. Como conseqüências observam-se colapso ocular e uveíte severa, risco de deiscência cirúrgica e cicatrizes (DZIEZYC, 1990; WHITLEY et al., 1993; HONSHO et al., 2007).

A técnica extracapsular convencional foi empregada em cães, por Rooks et al. (1985), apresentando 79% de retorno da percepção visual, decorridas aproximadamente seis semanas do procedimento cirúrgico. Não obstante, Barros (1990), valendo-se da mesma técnica operatória, constatou a recuperação visual em 85,7% dos cães operados.

Entretanto, na extração extracapsular convencional da lente, as lesões endoteliais são atribuídas, principalmente, à grande incisão corneana e ao contato do núcleo da lente e do instrumental cirúrgico com o endotélio (WILLIAMS; BOYDELL; LONG, 1996; PIGATTO, 2004)

A introdução da facoemulsificação por Charles Kelman, em 1967, sugerindo que o equipamento de ultra-som utilizado pelos dentistas poderia ser adaptado para fragmentar o cristalino trouxe uma mudança revolucionária no método de tratamento cirúrgico da catarata. A idéia de se remover a catarata por uma pequena incisão corneana de 3,5mm, utilizando menos sutura e com uma recuperação mais precoce, modificou todos os conceitos vigentes (KELMAN, 1967 *apud* MARTINES, 2000; TEIXEIRA, 2003; SOUZA; RODRIGUES; SOUZA, 2006).

3.4 Facoeulsificação

A facoeulsificação comparada às demais técnicas de remoção de catarata é a que proporciona os melhores resultados (DZIEZYC, 1990; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; PRASAD, 1998; WALKOW; ANDERS; KLEBE, 2000; FELCHLE; SIGLER, 2002; RENWICK, 2003; PIGATTO, 2004; HONSHO et al., 2007). É atualmente a técnica de eleição para o tratamento da catarata tanto em medicina quanto em veterinária (BOLDY, 1988; DZIEZYC, 1990; NASISSE et al., 1991; WHITLEY et al., 1993; GILGER, 1997; COREY; OLSON, 1998, HONSHO et al., 2007).

Dentre as principais vantagens da facoeulsificação encontram-se a pequena incisão corneana, a manutenção da pressão intra-ocular per-operatória, a minuciosa manipulação das estruturas internas do bulbo do olho e o menor tempo operatório (MILLER et al., 1987; DZIEZYC, 1990; WHITLEY et al., 1993; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; TEIXEIRA, 2003; PIGATTO, 2004; TABAN et al., 2004; WAISWOL, 2004; HONSHO et al., 2007). Destaca-se também o fato de que, as incisões de córnea auto-selantes não necessitam de sutura. (WAISWOL, 2004). Honsho et al. (2007) relataram, ainda, como vantagens, a reabilitação precoce da visão e a indução do mínimo de astigmatismo.

A facoeulsificação consiste na fragmentação ultra-sônica do cristalino, que é aspirado do olho por uma incisão corneana mínima (WHITLEY et al., 1993; TEIXEIRA, 2003; LAKE, 2004; MARTINO; CASANOVA; ROCHA, 2004). A execução adequada das etapas cirúrgicas, com utilização do instrumental apropriado, é fundamental para o sucesso da cirurgia. Na facoeulsificação, cada tempo cirúrgico interfere na realização do tempo seguinte, ou seja, é passo dependente. Apesar das diferenças entre as diversas técnicas cirúrgicas, as principais etapas incluem: incisão, capsulorrexe, paracentese lateral, hidrodissociação, hidrodelimitação, facoeulsificação, irrigação, aspiração e sutura (MONTENEGRO; REZENDE, 2002; TEIXEIRA, 2003).

Para melhor observar a cápsula anterior da catarata madura, com liberação de material cortical, pode-se lançar mão de corantes que se impregnam na cápsula, facilitando a confecção da capsulorrexe (ANDO et al., 2004; DAVID; CHANG, 2005). De acordo com Chung et al. (2005), tanto o azul de tripano 0,5% quanto a indocianina

verde 1%, não provocam repercussões endoteliais significativas, ou seja, não alteram as contagens de células endoteliais e a transparência corneana.

Diversos fatores durante a facoemulsificação levam a danos das células endoteliais, incluindo: o tamanho e forma da incisão (DICK et al., 1996), a técnica da facoemulsificação (WHINTLEY et al., 1993), a dureza do núcleo, a quantidade total de energia de ultra-som, a composição dos fluidos de irrigação (POLACK; SUGAR, 1976) e a formação de radicais livres (HOLST et al., 1993; STORR-PAULSEN et al., 2007).

O surgimento das substâncias viscoelásticas trouxe maior segurança ao procedimento cirúrgico da facoemulsificação, por facilitar a manipulação, realizar a manutenção da profundidade da câmara anterior e proteger as estruturas intra-oculares (DZIEZYC, 1990; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; WILKIE; WILLIS, 1999; TEIXEIRA, 2003; PIGATTO, 2004). Não obstante, a descompensação corneana ainda se apresenta como intercorrência pós-operatória (DZIEZYC, 1990; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; RENWICK, 2003; PIGATTO, 2004). Dentre as principais propriedades dos viscoelásticos a ser consideradas encontram-se a viscosidade, elasticidade, pseudoelasticidade e a tensão de superfície (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

A capsulorrexe curvilínea contínua, proposta por Gilbel e Neuhann na década de 80, proporciona grande parte da segurança necessária à execução da facoemulsificação, mas compõe também uma das etapas mais difíceis. Este orifício deve ser grande o suficiente para permitir a remoção do cristalino e a introdução da LIO, e pequeno o suficiente para manter a capsulorrexe centralizada no eixo visual (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; TEIXEIRA, 2003; ANDO et al., 2004).

A paracentese é uma incisão acessória realizada por lâmina de bisturi de 1,2 mm. Tem como objetivo permitir a introdução de um segundo instrumento cirúrgico, bem como, para injeção de líquido de solução salina balanceada ou substâncias viscoelásticas (TEIXEIRA, 2003; CREMA; FREITAS, 2004).

A hidrodissecção tem a finalidade de liberar o material da lente e de suas aderências capsulares, permitindo o movimento livre do mesmo no interior do saco capsular (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; ANDO et al., 2004).

Ato contínuo, a hidrodelineação aplicada a pacientes humanos é indicada em núcleos menos densos para separar sua porção interna (mais densa) do seu epinúcleo. (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; TEIXEIRA, 2003; BUOSANTI, 2004). No entanto, nos pacientes caninos a realização da hidrodelineação pode não ser benéfica, no

procedimento cirúrgico de facoemulsificação, não sendo recomendada. Esta assertiva está relacionada ao fato dos cães apresentarem as regiões lenticulares menos distintas que os humanos (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

Existem diversas técnicas de facoemulsificação *in situ*, que podem ser agrupadas como: técnica de emulsificação por inteiro, técnica de núcleo-fratura e técnicas de *chop* (MONTENEGRO; REZENDE, 2002; TEIXEIRA, 2003; JR-JOSÉ et al., 2004).

Miller et al. (1987), utilizando o facoemulsificação em cães, notificaram êxito em 94,6% dos casos no pós-operatório imediato, e em 71,4% deles após quatro anos do procedimento cirúrgico.

Warren (2004) afirmou que a técnica de “phaco chop,” utilizando o *chopper* de Nagahara, apresentou vantagens ao paciente canino semelhantes ao paciente humano. Dentre elas, observaram menor estresse zonular e capsular, menor tempo e baixa quantidade de ultra-som quando comparado a outras técnicas cirúrgicas.

Özgencil (2005) confere o sucesso da facoemulsificação aos cães jovens comparado aos cães senis, ao estágio da catarata, dentre elas as cataratas intumescentes e imaturas e a utilização da pinça de Utrata na confecção da capsulorrexe. Afirma que a maioria das complicações observadas em seu estudo foram decorrentes da idade avançada dos cães e da catarata madura em estágio final.

Não obstante, Stumpf; Nosé (2006) avaliaram o dano endotelial em cirurgias de catarata com núcleo duro, através das técnicas de extração extracapsular e facoemulsificação em humanos. Afirmaram não haver variação significativa dos índices de polimegatismo e pleomorfismo pré e pós-operatórios nos dois grupos estudados. Apesar do grupo da facotomia extracapsular ter apresentado perda endotelial equiparável ao grupo da facoemulsificação, as medidas paquimétricas mantiveram-se alteradas por mais tempo, demonstrando uma recuperação da função endotelial mais lenta neste grupo. Portanto, além das medidas paquimétricas, a facoemulsificação apresentou vantagens em relação à extração extracapsular convencional, por necessitar de menor incisão e a indução de astigmatismo pós-operatório ser menor.

3.4.1 Incisão de córnea

A incisão corneana é uma das etapas mais importantes e é decisiva na evolução da cirurgia. Portanto, deve ser adequadamente realizada e o instrumental utilizado para este tempo cirúrgico ser de boa qualidade (OLIVEIRA; REZENDE, 2000).

Existem várias técnicas propostas para a realização da incisão cirúrgica visando à remoção da catarata. Dentre elas, a incisão limbar direta, incisão limbar com túnel escleral, incisão córneoescleral com túnel e incisão de córnea com túnel (MARTINES, 2000). Em meio às várias incisões propostas para a facoemulsificação, aquelas que mais evoluíram na cirurgia foram as de válvulas corneanas, também chamadas de auto-selantes, que possibilitam a realização da cirurgia sem a necessidade de suturas (OLIVEIRA; REZENDE, 2000). Porém, no caso dos animais, não é recomendável esta técnica, pois não é possível ter um controle pós-operatório satisfatório sobre as ações dos mesmos, aumentando assim os riscos de atalamia, fazendo-se necessária a oclusão da incisão corneana como medida profilática (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; FADEL, 2004; KHAROD; KIM, 2007).

Albrecht Von Graefe propôs, em 1864, sugeriu uma nova abordagem para abertura do olho: a incisão limbar periférica. Esta nova técnica proporcionou uma incisão menor, mais eficiente e que protegia melhor o bulbo ocular, reduzindo drasticamente a incidência de endoftalmite e elevando a taxa de sucesso cirúrgico (CREMA, 2000; SOUZA; RODRIGUES; SOUZA, 2006). O objetivo da pequena incisão corneal na facoemulsificação é realizar a quebra lenticular em pequenos pedaços, para que estes possam ser adequadamente emulsificados e removidos do interior do globo ocular de forma rápida e atraumática (GLOVER; CONSTANTINESCU 1997).

A forma da incisão de córnea clara e da incisão limbal está correlacionada com a angulação do bisturi utilizado na confecção da ferida cirúrgica (FADEL, 2004; TABAN et al., 2004). Primeiro, nas incisões tradicionais, no mínimo dois planos são formados, um muito próximo do outro. Na prática, significa que a córnea é incisionada praticamente em toda a sua extensão, propiciando então, no momento da sutura, transmitir alterações importantes para uma porção extensa da córnea. Porém, na incisão tunelizada, existem três planos de tecidos na região da incisão primária que são distantes

da entrada da câmara anterior. Portanto, qualquer força induzida atua somente no primeiro ou no segundo plano, sem que haja total alteração da curvatura corneal. Isso confere uma maior estabilidade e regularidade dentro do túnel propriamente dito (MARTINES, 2000).

Segundo, numa incisão tradicional, a distância entre o ponto de entrada na esclera e na córnea é muito pequena. Isso representa uma facilidade de manipulação dos instrumentos no interior da câmara anterior. No entanto, em incisões tunelizadas, o comprimento da incisão permite que o acesso dos instrumentais oftálmicos na câmara anterior seja mais distante, o que vai dificultar as manobras com os instrumentos no interior, devido à formação de dobras ou pregas na córnea durante o ato cirúrgico (MARTINES, 2000).

As incisões auto-selantes, sejam esclerais ou corneanas, quando menores que 4 mm, induzem astigmatismo pequeno não significativo (ALMODIN, 2000; CREMA, 2000; MARTINES, 2000). Estudando a relação entre o tamanho das incisões e sua localização, Koch, em 1991, observou que as incisões limbares apresentavam uma relação linear entre o seu tamanho e o astigmatismo induzido, enquanto que as incisões esclerais apresentavam uma relação inversa entre o astigmatismo e o cubo do tamanho da incisão. Deu-se aí a criação do funil incisional escleral, uma área imaginária de esclera onde, teoricamente, as incisões cirúrgicas não induziriam astigmatismo (MARTINES, 2000).

Não obstante, Singer (1991) propôs uma variação da técnica da incisão em funil escleral, chamada *frown incision*, a qual passou a ser utilizada nas cirurgias extracapsulares, nas nucleofragmentações e mininúcleos e posteriormente em facoemulsificação. Esta técnica consiste em uma primeira incisão perfazendo cerca de 3 mm, posterior ao limbo, encurvada em relação a este e com aproximadamente 250 μ de profundidade. Posteriormente, com auxílio de uma lâmina crescente, confecciona-se um túnel esclerocorneal paralelo ao globo ocular. Uma entrada oblíqua, de aproximadamente 45° com relação à câmara anterior, fundamenta o terceiro passo, criando assim uma situação auto-selante (MARTINES, 2000).

A incisão escleral tunelizada auto-selante, descrita primeiramente por Ernest e MacFarland, trouxe um importante avanço à cirurgia de catarata, pois se trata de uma incisão cirúrgica consistente, segura, facilmente reprodutiva e aplicável a diversos pacientes. Autores, no entanto, afirmam que esta incisão apresenta maior demora em

sua confecção e conseqüentemente maior cicatriz ao paciente (WAISWOL, 2004; FADEL, 2004).

A incisão corneoescleral auto-selante é feita em três etapas: com uma incisão escleral, um túnel escleral e a entrada na câmara anterior formando uma válvula corneana auto-selante (CREMA, 2000).

Visando o aperfeiçoamento da cirurgia de catarata, Fine, em 1992, propôs a realização de uma incisão tunelizada auto-selante em córnea clara (CREMA, 2000; WAISWOL, 2004), realizada no canto temporal da córnea, diminuindo assim o astigmatismo corneano (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; CREMA, 2000; FADEL, 2004; BERDAHL; DESTAFENO; KIM, 2007) e a hemorragia escleral (CREMA, 2000; MCDONNELL et al., 2003). Esta técnica oferece diversas vantagens para a realização da facoemulsificação, pois permite a implantação da LIO, um adequado selamento da câmara anterior, bem como menores cicatrizes e uma rápida recuperação da acuidade visual no pós-operatório (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; MCDONNELL et al., 2003).

As incisões de córnea clara são utilizadas nas cirurgias de catarata nos cães. Para tanto, deverão ser de fácil acesso, preconizando-se a incisão dorsal e lateral ao limbo corneano, na região de 11 horas (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997). Devido à presença de pequena hemorragia dos vasos limbares, coagulação e formação de uma malha de fibrina, a realização da incisão mais próxima ao limbo teoricamente levaria a uma cicatrização mais rápida e mais segura (CREMA, 2000).

Gonçalves; Rodrigues (2007) referiram que a incisão de córnea realizada no meridiano mais curvo em humanos, visando a facoemulsificação, reduz o astigmatismo ceratométrico pré-existente. Não obstante, no cão o grau significativo de astigmatismo resultante da incisão da córnea está relacionado ao tamanho da incisão corneana (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

Para se realizar uma incisão auto-selante com perfeição, devem ser utilizadas lâminas trifacetadas para o sulco, uma crescente angulada para cima para a tunelização, uma de 15° para a paracentese lateral e uma de 2,75, 3,0 ou 3,2 mm para a entrada na câmara anterior. Pode-se utilizar tanto lâminas descartáveis quanto de diamantes. As lâminas de metais descartáveis apresentam menor poder de corte, porém são melhores nas incisões esclerais (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; ALMODIN, 2000; WAISWOL, 2004; BERDAHL; DESTAFENO; KIM, 2007). Incisões corneanas maiores do que 4 mm, quando localizadas no meridiano mais curvo, diminuem o

astigmatismo corneano pré-operatório, levando a um melhor controle do grau do astigmatismo pré-operatório (CREMA, 2000).

Estas incisões corneanas podem ser realizadas em um plano, dois planos, ou três planos. Nas incisões de um plano, entra-se diretamente na câmara anterior, como uma paracentese. Porém, nas incisões em dois planos inicia-se com um túnel paralelo à córnea, seguido da entrada na câmara anterior. Não obstante, as incisões em três planos iniciam-se com um sulco perpendicular à córnea, uma tunelização, seguida então pela entrada na câmara anterior do globo ocular (CREMA, 2000). Contudo, as incisões corneanas devem promover completo selamento da incisão ao redor da ponteira do facoemulsificador (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

Hardman; Mcilnay; Dugan (2001) optaram pela realização da incisão de córnea de 3.2 mm em dois planos para realizarem a facoemulsificação em um equino, pela redução do risco de deiscência incisional após a cirurgia de catarata.

Dentre as principais complicações operatórias das incisões cirúrgicas encontradas, relatam-se o prolapso de íris, hifema, lesão da cápsula anterior ou de íris pelas lâminas de bisturi, descolamento da membrana de Descemet, queimaduras de incisão e astigmatismo (CREMA, 2000). Estudos recentes afirmam que a incisão de córnea apresenta maior risco de endoftalmite, quando comparada à incisão de túnel escleral (COOPER et al., 2003; MCDONNELL et al., 2003; TABAN et al., 2004; BERDAHL; DESTAFENO; KIM, 2007). Essa afirmativa advém do fato do endotélio apresentar propriedade de barreira mecânica e física em relação ao estroma anterior, conferindo um selamento anterior, mantendo a estabilidade da arquitetura, nos casos das incisões de córnea clara auto-selante, conferindo assim a necessidade de uma atenção especial a estas áreas (TORRES et al., 2006).

As fontes de microorganismos nas infecções de feridas auto-selantes não são conhecidas, mas podem ser semelhantes às infecções convencionais das feridas e endoftalmite. As principais fontes de infecções incluem alterações nas próprias pálpebras e conjuntivas, instrumentais contaminados, lentes ou soluções de irrigação contaminadas, infecções aerotransportadas, e técnica de esterilização inadequada (GARG et al., 2003). Porém, no estudo de Cooper et al. (2003), apesar da incidência de endoftalmite ser mais alta nas incisões de córnea clara, não foram observados dados significantes. Recentes meta-análises da literatura especularam que a integridade da ICC, no período do pós-operatório, pode ser um fator importante na predisposição de endoftalmite (CALLADINE; PACKARD, 2007).

Outra importante causa de infecção, que pode representar um desafio diagnóstico e terapêutico, é a infecção fúngica da incisão de córnea auto-selante. Para facilitar diagnóstico precoce, esta deve ser considerada no diagnóstico diferencial dos casos que se apresentam com esclerite ou com excesso reação pós-operatória de cirurgia de catarata em áreas geográficas com um clima quente e úmido (GARG et al., 2003).

Cosar et al. (2001) referem não identificar especificamente os fatores predisponentes da infecção da incisão. No entanto, apresentam suspeitas que a utilização de corticóides sem adição de antibióticos é um importante fator predisponente.

Garg et al. (2003) e Jain et al. (2008) afirmam que a arquitetura da incisão pode criar um espaço virtual na região do túnel escleral. Este espaço pode predispor a formação de abscesso, em uma eventual infecção ocular.

3.5 Selamento da incisão

3.5.1 Fios de sutura

Henry Willard Williams foi o primeiro a reportar a técnica de sutura para o fechamento da incisão da córnea. Para tanto, ao suturar o limbo utilizou uma agulha de costura e um fino fio de seda. Devido ao fato do material utilizado ser muito grosseiro, esta idéia não foi bem aceita, tendo permanecido esquecida por mais 30 anos. Em 1894, o francês Jean Eugène Kalt reintroduziu a técnica de sutura corneo-escleral, utilizando agulhas e fios melhor adaptados aos interesses oftalmológicos (SOUZA; RODRIGUES; SOUZA, 2006).

A sutura da córnea promove uma rápida reabilitação visual após a facoemulsificação. O material preconizado para a adequado oclusão da incisão é a poliglactina 910. Comumente o diâmetro indicado é o 8-0 em caninos e felinos e 10-0 em humanos. Apresenta como característica o mínimo de propriedade elástica, induz a uma resposta inflamatória moderada e é absorvível sintético (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

Estudos sugerem que a sutura em córnea seja realizada após a cirurgia de facectomias. Se houver dúvidas por parte do cirurgião quanto ao selamento da ferida, é necessário sempre realizar a sutura corneal para evitar atalamia, prolapso de íris e endoftalmite no pós-operatório (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; FADEL, 2004). Concordando com Kharod; Kim (2007), que afirmam que tradicionalmente, o nylon tem sido amplamente empregado como método fechamento de incisão corneana em cirurgia de catarata.

Moreira; Belfort Jr (1997) preconizaram que a sutura corneana seja efetivada no menor tempo possível, para evitar extravasamento significativo do humor aquoso e inflamação ocular grave.

Kongsap (2007) relatou as repercussões intra-operatórias e complicações pós-operatórias, após realizar a remoção de catarata pela técnica de Kongsap e colocação da LIO, por pequena incisão corneana. Preconizou o selamento corneano sem sutura. Porém, em alguns casos, afirma ser necessário aumentar a incisão, visando facilitar a remoção nuclear, indicando assim a sutura da ferida. Não obstante, referiu um caso no qual, após o procedimento cirúrgico, observou vazamento do humor aquoso preconizando-se a sutura da lesão.

Outras complicações observadas nas suturas corneanas foram as infecções locais. Garg et al. (2003) sugeriram que na infecção fúngica, da sutura da incisão auto-selante para cirurgia de catarata, a apresentação inicial da infecção depende do tipo de incisão realizada e da sua localização, o que explicaria a diversidade de apresentações das infecções. Relatam que na incisão corneana pela técnica do túnel escleral, a localização primária da infecção é externa à incisão, podendo manifestar esclerite. Porém, na infecção localizada na porção interna da ferida, manifesta-se a ceratite. Já Santos et al. (1999) apontaram, dentre os fatores de risco para formação de ceratites ou mesmo endoftalmites, é a remoção de pontos corneanos, ruptura precoce de pontos e a presença de pontos frouxos.

Sedlakova; Filipec (2007), que ao estudarem o efeito do fio de sutura na rejeição de transplantes xenógenos em córnea de ratos, constataram que a utilização do fio de sutura, com as pontas aparadas, provoca menor desconforto e limita o grau de irritação inespecífica, pelo contato com a córnea e com a conjuntiva palpebral, provocando assim menor índice de rejeição e indução de neovascularização.

Fong et al. (1988) e Santos et al. (1999) referem a ocorrência de deposição de secreção mucosa sobre os pontos, devido ao estímulo por eles causado, nas células caliciformes da conjuntiva, sugerindo assim o sepultamento correto dos nós.

3.5.2 Adesivos sintéticos e biológicos

A utilização de materiais adesivos na terapia ocular foi introduzida por Katzin em 1945, em estudo experimental, em córnea de coelhos abrangendo o transplante corneal (KATZIN, 1945 *apud* ALIÓ et al., 2004). Em 1968, Webster foi o primeiro a relatar a aplicação de adesivos em córneas humanas (WEBSTER, 1968 *apud* ALIÓ et al., 2004).

Desde então, diferentes tipos de adesivos vêm sendo utilizados nas cirurgias oculares. Dentre estes, dois grupos se destacam: os materiais sintéticos derivados do cianoacrilato e os biológicos advindos do adesivo de fibrina (ALIÓ et al., 2004; SZURMAN et al., 2006; CHEN et al., 2007; OZDAMAR et al., 2008).

Para tanto, a utilidade dos adesivos em cirurgia é determinada pelo comportamento físico-químico, que devem ajustar-se aos parâmetros biológicos do tecido em questão (MOTA et al., 2004).

Os adesivos sintéticos são empregados como substitutos de suturas convencionais. Foram utilizados diferentes tipos de cianoacrilato em cirurgias, dentre eles encontram-se os metil, etil, n-propil, n-butil n-heptil, isopropil e o 2-Octil-cianoacrilato (SHARMA et al., 2003; MOTA et al., 2004; MESKIN et al., 2005; RITTERBAND et al., 2005; CHEN et al., 2007). O modo de ação dos adesivos de cianoacrilato dá-se por penetração da película monomérica no tecido onde ocorre atração eletrostática por meio de pontes de hidrogênio e por atração geral das massas (SCHMEISSNER, 1970; MOTA et al., 2004), levando à solidificação, ou seja, polimeriza ao entrar em contato com substâncias básicas como água e sangue (RITTERBAND et al., 2005).

O adesivo sintético 2-Metil-cianoacrilato foi o primeiro a ser utilizado experimentalmente em procedimentos oftálmicos, mas atualmente apresenta uso restrito. Estudos sugerem a utilização ponderada deste material em lesões corneanas menores de três milímetros de diâmetro, pois apresenta efeitos citotóxicos. Possui

característica de ser uma substância não biodegradável e ao realizar polimerização pode induzir a reação inflamatória, neovascularização e necrose tecidual devido à presença do corpo estranho (ALIÓ et al., 2004; KAUFMAN et al., 2003; RITTERBAND et al., 2005; CHEN et al., 2007; OZDAMAR et al., 2008). Contudo, os adesivos sintéticos cianoacrilato são os únicos com propriedades físico-químicas e biológicas avaliadas para o uso médico. São auto-esterilizáveis e podem promover uma barreira adequada contra invasão bacteriana (MOTA et al., 2004), além de apresentarem propriedades antimicrobianas (RITTERBAND et al., 2005) e podem prevenir infecções corneanas secundárias (CHEN et al., 2007).

A propriedade bacteriostática do adesivo de cianoacrilato vem sendo estudada, porém não se encontra completamente elucidada. No entanto, especula-se que pode estar associada aos efeitos citotóxicos deste agente (LEHMAN; WEST; LEONARD, 1966; EIFERMAN; SNYDER, 1983). Chen et al. (2007) testaram os efeitos bacteriostáticos de diferentes adesivos teciduais em diferentes cepas bacterianas, comumente encontrados nas ceratites infecciosas. Concluíram que tanto o N-butil-cianoacrilato, quanto o metox-propil-cianoacrilato, apresentavam um efeito bacteriostático significativo contra *S. aureus*, *S. pneumoniae* e *M. chelona*. Afirmam ainda que, anteriormente, não eram encontrados relatos em relação ao efeito bacteriostático parcial, apenas do metox-propil-cianoacrilato.

Mota et al. (2004), relataram que o adesivo sintético N-butil cianoacrilato e a sutura com fio poliglactina 910, aplicados em córneas perfuradas de forma linear em coelhos, estabilizam o conteúdo intra-ocular sem apresentar deiscência das pontas. Notaram ainda, que o processo de cicatrização corneal em coelhos ocorre mais rapidamente nas perfurações lineares obliteradas com o adesivo sintético N-butil cianoacrilato, quando comparado às perfurações lineares aproximadas com fio poliglactina 910.

Não obstante, Sharma et al. (2003) ao compararem a aplicabilidade do N-butil-cianoacrilato com o adesivo de fibrina, aplicados como alternativa de reparo em perfurações corneanas, concluíram que ambos os adesivos são efetivos para a cicatrização de perfurações corneanas de 3 mm de diâmetro. Contudo, em virtude das características biológicas do adesivo de fibrina, este promove cicatrização mais próxima da cicatrização fisiológica e menor quantidade de neovascularização corneana.

Ritterband et al. (2005) após utilizarem modelos laboratoriais com bulbos oculares adquiridos no banco de olhos, concluíram que o 2-octil-cianoacrilato promove

uma barreira de proteção à córnea, não permitindo que o humor aquoso extravase, através da incisão corneana. Afirmam ainda, que suas propriedades físicas o tornam um agente ideal para o fechamento da lesão corneal decorrente da incisão de córnea, quando comparada à sutura. Corroboram com a assertiva de Taravella; Chang (2001) que descreveram resultado favorável ao utilizar 2-octil-cianoacrilato no selamento de perfuração corneal.

Meskin et al. (2005) demonstraram e indicaram a aplicabilidade do uso do 2-Octil-Cianoacrilato para selamento de incisões de em 51 pacientes humanos. Como principais vantagens, citam a fácil aplicabilidade, ausência de toxicidade corneana, baixo custo e ideal para prevenir extravasamento do humor aquoso. No entanto, referem que no pós-operatório imediato 61% dos pacientes manifestaram desconforto ocular.

Outras opções atualmente utilizadas para o selamento das incisões corneanas são os adesivos de fibrina (KAUFMAN et al., 2003; SZURMAN et al., 2006). O adesivo de fibrina é um material biológico e natural, diferindo dos derivados do cianoacrilato nos termos de biocompatibilidade e por ser completamente biodegradável (CHEN et al., 2007). Apresenta a característica de mimetizar a cascata de coagulação, ou seja, o processo cicatricial fisiológico (OZDAMAR et al., 2008). Portanto, o uso deste agente promove uma mínima reação inflamatória, desconforto e necrose tecidual (PFISTER; SOMMERS, 2005; HOVANESIAN; KARAGEOZIAN, 2007; OZDAMAR et al., 2008).

Desde 1970, devido a essas características, passou a ser utilizada experimentalmente em procedimentos oftálmicos (KAUFMAN et al., 2003). Esta técnica de reparo vem apresentando ascensão de uso em procedimentos oftálmicos e sendo utilizada em diversos tecidos oculares *in situ*, incluindo a trabectomia, ceratoplastia lamelar (HOVANESIAN; KARAGEOZIAN, 2007), transplantes de limbo (PFISTER; SOMMERS, 2005) e em cirurgias de pterígio (UY et al., 2005; BAHAR et al., 2006; MARTICORENA et al., 2006; JIANG et al., 2008; KHEIRKHAH et al., 2008), bem como nas úlceras de córnea (CHEN et al., 2007), cirurgias de estrabismo e conjuntiva, aplicação de membrana biológica em reparações corneanas (SZURMAN et al., 2006), na síntese da incisão após facoemulsificação (KAUFMAN et al., 2003; ALIÓ et al., 2004; REYES et al., 2005; CHEN et al., 2007; HOVANESIAN; KARAGEOZIAN, 2007).

O adesivo tecidual conhecido como Quixil® (Omrix Biopharmaceuticals, Rehovot, Israel), foi o primeiro selante tecidual. A principal diferença do Quixil® em

relação aos outros adesivos é a presença de fibrina humana. É utilizada como alternativa para promover vedação adequada de lesões ortopédicas, em ouvidos, nariz, garganta, fígado e cirurgia de tecidos moles, por apresentar características hemostáticas. É composto de dois componentes biológicos provenientes do plasma sanguíneo humano. Os doadores devem apresentar componentes biológicos ativos, dentre eles, uma solução concentrada de proteínas plasmáticas (40-60 mg/mL), constituída por fibrinogênio, fibronectina, fator XIII, e fator de von Willebrand e uma solução de trombina (900-1100 UI/mL), contendo cálcio. Cada componente sofre duas fases distintas para inativação viral ou remoção dos patogênicos contaminantes e evitar potencialmente a transmissão do mesmo. Ao ser aplicado na superfície corneana, eles são combinados passivamente através de um sistema de ejeção duplo. Na presença de cálcio, a trombina catalisa e ocorre a coagulação do plasma a coagulação de proteínas. Portanto, quando misturamos ambos os componentes, uma das soluções é responsável por formar coágulo de fibrina ao término de 30 segundos, reproduzindo também as fases finais da cascata de coagulação. O coágulo é absorvido após alguns dias da aplicação e o colágeno promove ligamento cruzado, auxiliando na cicatrização de feridas (OMRIX, 2003; SINTLER et al., 2005; BAHAR et al., 2006).

Segundo Sintler et al. (2005), o tempo de precipitação do Quixil® é de aproximadamente 1 minuto. Afirmam que a diferença no seu processo de preparação e a presença de concentração alta de trombina podem justificar o menor tempo de precipitação do Quixil® comparados com outros adesivos de fibrina.

Em 1990, com o advento da adição da aprotinina na composição de adesivos de fibrina, a dissolução da adesão da fibrina no tecido foi retardada (KAUFMAN et al., 2003). Surge assim, outro conhecido adesivo tecidual: o Tissel® (Baxter Healthcare Corporation, Glendale), utilizado em diversos procedimentos oftálmicos (BAHAR et al., 2006). Como nas ceratoplastias lamelares reparados com patch escleral (KAUFMAN et al., 2003), cirurgias corretivas de pterígio (JIANG et al., 2008; KHEIRKHAH et al., 2008; OZDAMAR et al., 2008), transplantes de células tronco epiteliais (PFISTER; SOMMERS, 2005) e selamento de incisão de córnea clara (HENRICK et al., 1991; KIM et al., 1995; HOVANESIAN; KARAGEOZIAN, 2007; BELLINI; BRUM, 2008).

O Tissel® apresenta-se como um pó liofilizado que deve ser reconstituído antes da sua utilização. Consiste de um componente purificado de fibrinogênio humano que deverá ser acondicionada ao solvente, a aprotinina. Esta é uma proteína de origem

bovina, que é submetida ao mesmo método de inativação do vírus utilizado na proteína do Quixil, também por duas vezes (SINTLER et al., 2005; BAHAR et al., 2006). A outra solução é composta de cloridrato de cálcio e deverá se adicionada à trombina (500 UI/mL). As duas soluções devem ser aplicadas conjuntamente, para tanto, o duploejetor permite a injeção simultânea dos mesmos. Como principal desvantagem encontra-se o tempo de cerca de 20 minutos de preparação do produto. (KAUFMAN et al., 2003; PFISTER; SOMMERS, 2005; HOVANESIAN; KARAGEOZIAN, 2007; JIANG et al., 2008; OZDAMAR et al., 2008).

Kaufman et al. (2003) concluíram que o adesivo de fibrina Tissel® promove uma satisfatória aderência do patch de membrana amniótica na córnea, em procedimentos de ceratoplastias lamelares, sem a necessidade de sutura corneana.

Kheirkhah et al. (2008) foram os primeiros a demonstrarem redução significativa na inflamação conjuntival, após utilização de adesivo de fibrina Tissel® comparada à sutura em cirurgia de pterígio, utilizando membrana amniótica criopreservada. Além disso, ressaltam menor tempo cirúrgico na técnica de selamento com adesivo de fibrina.

Ozdamar et al. (2008) utilizaram o Tissel® como adesivo tecidual no reparo de enxerto conjuntival de limbo e para selar a abertura conjuntival criada. Afirmam que uma camada de fibrina é formada em 30 segundos, reproduzindo o estágio final da cascata de coagulação, promovendo ligação cruzada com o fator XIII de coagulação e a cicatrização da ferida. Esta camada é absorvida em alguns dias.

Pfister; Sommers (2005) concluíram que o adesivo de fibrina Tissel®, ao ser utilizado sozinho, é efetivo e seguro para o tratamento corneal através do transplante de células troncos do sítio limbal.

Nos estudos realizados por Henrick et al. (1991) e Kim et al. (1995), o adesivo de fibrina foi efetivo no selamento da incisão do túnel escleral na cirurgia de catarata. Corroborando com Hovanesian; Karageozian (2007), que experimentalmente demonstraram que as incisões corneanas realizadas nas cirurgias de catarata podem ser reparadas com os adesivos de fibrina. Afirmam ainda que as superfícies corneanas seladas com estes adesivos apresentaram resistência positiva às altas flutuações da pressão intra-ocular e às compressões externas. Complementam ainda que estas resistências internas são decorrentes também da fusão da superfície epitelial e das atividades das bombas endoteliais, iniciadas ao longo do 1º e 2º dias de pós-operatório. Para tanto, o cirurgião deve ter conhecimento do tempo de permanência do adesivo de

fibrina na superfície corneana e compreender o tempo de cicatrização fisiológica da córnea.

Outra opção de adesivo biológico também indicado para o tratamento da hemostasia em hemorragias difusas e preenchimento e adesão de tecidos, durante intervenções cirúrgicas é o Tissucol®. Diferente dos outros adesivos, é composto por cinco frascos constituídos de fibrinogênio liofilizado, aprotinina bovina como solvente, trombina (4 UI/mL), para uma solidificação lenta do adesivo, trombina (500 UI/mL), para uma solidificação rápida do adesivo, ambas liofilizadas e solução de cloreto de cálcio, para reconstituição da trombina liofilizada. Habitualmente, um Tissucol KIT 1,0® (1 mL de solução de Tissucol®, mais 1 mL de solução de trombina), permite a adesão de superfícies com uma área de 10 cm², no mínimo. A velocidade de adesão do adesivo depende também da solução de trombina utilizada. Enquanto o adesivo poderá demorar um minuto a solidificar com a trombina 4 UI/mL, o processo de solidificação fica concluído em poucos segundos, se for utilizada a trombina 500 UI/mL. A concentração menor de trombina é suficiente para promover a aderência dos tecidos, por permitir a adequada aproximação dos bordos das feridas. Para evitar formação excessiva de tecido granuloso e assegurar a absorção gradual do adesivo de fibrina, deve aplicar-se uma camada delgada de solução Tissucol-trombina (INFARMED, 2005).

O Tissucol® apresenta um preparo um tanto quanto complexo, divergindo da diluição dos outros adesivos de fibrina. Primeiro passo é a preparação da solução de Tissucol em solução de Aprotinina, diluindo-a na concentração de 100 UI/mL. Para o preparo da solução de trombina é necessário determinar qual tipo irá ser utilizada: se é a de solidificação rápida ou solidificação lenta. Para auxiliar na preparação desse adesivo, pode valer-se do Fibrinotherm, o qual permite que a temperatura do adesivo permaneça constante em 37°C e reduz o tempo de diluição do Tissucol®. Neste sistema, colocam-se os frascos de Tissucol liofilizado, a aprotinina, a trombina liofilizada e cloreto de cálcio, para que ocorra a agitação dos componentes no período de 5 a 10 minutos. Nesse momento deve-se transpassar a solução de aprotinina para o frasco-ampola do Tissucol liofilizado. Concomitante a esta manobra transvaza-se a solução de cloreto de cálcio para o frasco-ampola que contém a trombina liofilizada. Em caso de indisponibilidade do Fibrinotherm, realizar o aquecimento do adesivo em banho-maria. Para aplicação simultânea, em quantidades iguais, da pré-mistura, pode-se utilizar o duploejetor. Contudo, também é recomendado o uso de uma Solução de Trombina de 4 UI de trombina/mL (INFARMED, 2005).

Marticorena et al. (2006), por sua vez, avaliaram a eficiência e a confiabilidade do adesivo de fibrina Tissucol Duo® (Baxter AG, Vienna, Austria). Após alguns segundos da aplicação no sítio receptor, foi possível observar a perda da transparência do adesivo e a presença da fibrina semi-rígida realizando a adesão do enxerto com a conjuntiva. Observaram redução do tempo cirúrgico, conforto pós-cirúrgico e uma eficiente opção para substituição da sutura simples no tratamento cirúrgico de pterígio pela técnica de auto-enxerto conjuntival.

O adesivo Beriplast T® Combi-Set I (frascos azuis) é composto de um frasco contendo fibrinogênio (115-223 mg), plasminogênio, fibronectina plasmática (65-115 mg) e fator XIII de coagulação (40 – 80 UI), todos liofilizados. Já o segundo frasco contém 1 mL de aprotinina (1000 UI), advinda de pulmão bovino. O Combi-Set II (frascos vermelhos) é constituído de um frasco de trombina liofilizada humana (400-600 UI) e outro frasco composto de solução de cloreto de cálcio (5,88mg) (AVENTIS BEHRING, 2003). O sistema de duplojetor permitiu a injeção de ambos os componentes simultaneamente, ou seja, no ato da aplicação do adesivo as soluções são misturadas nas concentrações adequadas (HOVANESIAN; KARAGEOZIAN, 2007; OZDAMAR et al., 2008). Ao entrarem em contato com a superfície do tecido, o fibrinogênio é convertido em fibrina por meio de trombina. A fibrina apresenta uma ligação cruzada com o fator XIII de coagulação, criando assim uma rede estável de fibrina. Já a aprotinina impede a fibrinólise rápida. Na presença de cálcio, a trombina catalisa a coagulação do plasma e proteínas da coagulação (OZDAMAR et al., 2008).

Uy et al. (2005) compararam a aplicação do adesivo de fibrina (Beriplast T®) com a sutura com nylon 10-0 para reparo de enxertos conjuntivais em cirurgias de pterígio. Observaram sucesso de todos os enxertos reparados com o adesivo. Referem que dentre as principais vantagens do seu uso encontram-se o menor tempo cirúrgico e melhor conforto pós-operatório comparativamente aos pacientes reparados com suturas.

Chen et al. (2007) testaram os efeitos bacteriostáticos do adesivo de fibrina contra cinco cepas diferentes de bactérias e não observaram nenhum ação. Contudo, afirmam que o antibiótico impregnado no adesivo de fibrina no momento da preparação, pode significar redução do risco de infecção e ser utilizado como veículo de condução de antibióticos para o bulbo ocular no tratamento de infecções oculares pré-existentes, compensando a ausência do efeito bacteriostático e bactericida observados nos adesivos sintéticos (KRAM et al., 1991).

Dentre as principais vantagens da utilização do adesivo de fibrina relata-se o menor tempo operatório, menor formação de granulomas, menor desconforto no pós-operatório (PFISTER; SOMMERS 2005; KHEIRKHAH et al., 2008), bem como menor citotoxicidade (CHEN, et al., 2007). Portanto, Hovanesian; Karageozian (2007) sugerem que os adesivos de fibrina deveriam ser amplamente utilizados na rotina de cirurgias de catarata. Afirmam, porém, que novos estudos devem ser realizados enfocando a toxicidade do adesivo de fibrina, pois não está bem elucidado pela literatura.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram estudados 32 bulbos oculares de 16 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça Nova Zelândia, albinos, machos ou fêmeas, com 90 dias de idade, pesando entre 1,8 e 2,3 Kg, hípidos, selecionados junto ao criadouro da Escola Técnica de Agricultura de Viamão/RS. Todo o experimento foi baseado nos critérios preconizados pela *Association for Research in Vision and Ophthalmology* (ARVO) para o uso de animais em pesquisa oftálmica.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, alimentados com ração comercial padronizada peletizada e água potável *ad libitum*. O estudo foi realizado no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

4.2 Grupos Experimentais

Todos os animais foram submetidos à incisão de córnea bilateral. Num bulbo do olho a incisão foi ocluída com adesivo de fibrina e no seu contralateral com fio de sutura. Os coelhos foram distribuídos em dois grupos, o grupo 1 composto por nove

animais, que foram avaliados durante sete dias, e o grupo 2 de sete animais, avaliados durante 15 dias.

4.3 Procedimentos pré-operatórios

Todos os animais foram submetidos ao exame oftálmico, que incluiu avaliação dos reflexos pupilares, teste da lágrima de Schirmer¹, biomicroscopia com lâmpada de fenda², documentação fotográfica digital³, tonometria digital de aplanção⁴ e prova da fluoresceína⁵, utilizada com frequência na identificação de úlceras de córnea, não penetrando em epitélio intacto. Este teste será positivo na presença de lesões ulcerativas corneanas superficiais ou estromais.

Após jejum alimentar de 12 horas e hídrico de seis horas, foi instilada uma gota do colírio de tropicamida a 1%⁶ alternado com uma gota do colírio de cloridrato de fenilefrina a 10%⁷, duas horas antes do procedimento cirúrgico, em intervalos regulares de 10 minutos. Posteriormente, os animais foram encaminhados para a sala de preparo cirúrgico e pré-medicados com acepromazina a 0,2%⁸, na dose de 0,2 mg/Kg, adicionado a cloridrato de petidina⁹, na dose de 6 mg/Kg, por via intramuscular. Decorridos quinze minutos da pré-medicação, realizou-se indução anestésica com cetamina¹⁰, na dose de 2-4 mg/Kg, por via intramuscular, associado a midazolam¹¹ na dose de 0,2-0,4 mg/Kg. A veia auricular foi canulada para infusão de solução de Ringer com Lactato¹², na dose de 10 mg/Kg/hora e manutenção da anestesia geral com cetamina, na dose de 1-3 mg/kg. Procedeu-se à tricotomia da área operatória.

¹ Teste da Lágrima de Schirmer, Ophthalmos Ind. Com. Produtos Farmacêuticos Ltda.

² Portable Slit HSL 150, Heine Company.

³ Máquina fotográfica, Sony Cybershot, DSC- W80, Câmera Digital com 3x Zoom Óptico.

⁴ Tonopen XL, Mentor Medical Systems.

⁵ Fluoresceína tiras, Ophthalmos Ind. Com. Produtos Farmacêuticos Ltda.

⁶ Mydriacyl, Alcon Lab. do Brasil, Ltda.

⁷ Fenilefrina 10%, Allergan Produtos Farmacêuticos, Ltda.

⁸ Acepran 0,2%, Univet, Rhobifarma Indústria Farmacêutica, Ltda.

⁹ Dolosal 50mg/mL, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos, Ltda.

¹⁰ Cetamin 10%, Syntec do Brasil, Ltda.

¹¹ Midazolam 5mg/mL, B. Braun, Medical, S. A.

¹² Solução de Ringer com Lactato de Sódio. Indústrias Farmacêuticas Texon, Ltda.

4.4 Preparação do adesivo de fibrina

O adesivo de fibrina¹³ foi preparado de acordo com as instruções do fabricante e mantido armazenado em geladeira a 2.8°C, até o início dos procedimentos. O *kit* era constituído de dois pacotes distintos, fechados em uma bolsa protetora estéril. Cada pacote consistia de dois frascos, codificados em cores. Um contendo solução líquida e o outro com conteúdo liofilizado. O *Combi-Set I* (frascos azuis) era composto de um frasco contendo fibrinogênio (115-223 mg), plasminogênio, fibronectina plasmática (65-115 mg) e fator XIII de coagulação (40 – 80 UI), todos liofilizados. Já o segundo frasco continha 1 mL de aprotinina (1000 UI), advinda de tecido pulmonar bovino. O *Combi-Set II* (frascos vermelhos) era constituído de um frasco de trombina liofilizada (400-600 UI) e outro frasco composto de solução de cloreto de cálcio (5,88mg). O kit incluía ainda um *stand* de papelão, duas seringas de 1 mL, um aplicador de seringas (duploejetor) e duas cânulas (Figura 1).

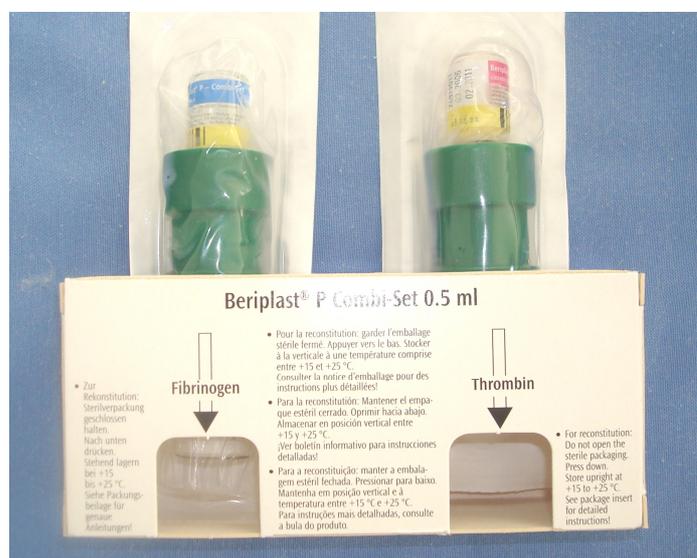


Figura 1 - Imagem do *kit* da Beriplast P *Combi-Set*®. Observam-se um *stand* de papelão e duas embalagens distintas com dois frascos cada. Ambos encontravam-se fechados em uma bolsa protetora estéril.

¹³ Beriplast® ZLB Behring, Gmbh, D-35041, Marburg, Germany.

Todos os passos do preparo do adesivo foram realizados de maneira asséptica. Primeiramente, o adesivo foi removido da refrigeração e da bolsa protetora. Posteriormente os *Combi-Sets* foram acondicionados no *stand* até que atingissem a temperatura ambiente. Ato contínuo, as soluções contidas em cada *Combi-Set* foram adicionadas aos componentes liofilizados respectivos, permitindo que os mesmos se dissolvessem durante alguns minutos.

Após o fibrinogênio e trombina serem completamente dissolvidos, o conteúdo de cada frasco foi aspirado pela seringa respectiva e ambas foram fixadas ao aplicador (Figura 2). O sistema de duploejetor permitiu a injeção dos dois componentes simultaneamente. No ato da aplicação do adesivo, as soluções foram misturadas nas concentrações adequadas.

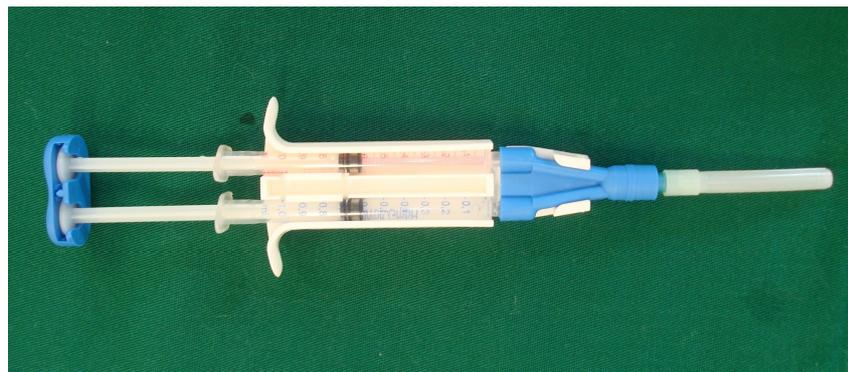


Figura 2 - Imagem do aplicador devidamente preparado. Visibilizam-se as seringas repletas com adesivos fixadas ao sistema duploejetor com a cânula.

4.5 Procedimentos per-operatórios

Os procedimentos foram realizados no bloco cirúrgico do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS. Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados com auxílio de microscópio cirúrgico¹⁴, filmados e gravados como arquivos digitais em Disco Digital de Vídeo (DVD).

¹⁴ Microscópio cirúrgico, SM-2002 com microfocalização, Opto Eletrônica S.A.

4.6 Incisão de córnea

Os coelhos foram posicionados em decúbito lateral e foi realizada a anti-sepsia das superfícies periorbital e ocular com polivinilpirrolidona iodo¹⁵ diluído em solução salina¹⁶ (1:100). Após colocação do campo cirúrgico estéril descartável¹⁷, realizou-se a blefarostase mecânica.

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados pelo mesmo cirurgião, utilizando instrumental adequado para microcirurgia oftálmica. Empregou-se bisturi de lâmina metálica angular de 3,2 mm¹⁸ de largura para a confecção da incisão de córnea auto-selante biplanar, na posição entre 11 e 1 hora, distante cerca de 1 mm do limbo de todas as camadas corneanas. Para o fechamento da incisão cirúrgica, utilizou-se uma gota do adesivo de fibrina. Após a aplicação do adesivo, aguardou-se por cinco minutos para que o mesmo aderisse à córnea (Figura 3). Ato contínuo, a incisão corneana foi reparada. Posteriormente, alterou-se o decúbito do coelho, para a realização da incisão de córnea no bulbo do olho contralateral. As bordas corneanas foram aproximadas com fio inabsorvível sintético 10-0¹⁹, encastado de fábrica, utilizando-se um ponto simples interrompido (Figura 4). Após o fechamento de córnea, realizou-se em todos os animais o teste de Seidel, que consiste na visibilização do humor aquoso diluindo-se com a fluoresceína, com auxílio do azul de cobalto após instilação de fluoresceína na área suspeita. Tem como objetivo constatar a ocorrência de vazamento de humor aquoso através de alguma lesão corneana.

¹⁵ Riodeine, Iodopovidona Tópico, Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda.

¹⁶ Solução de Cloreto de Sódio 0,9%, Indústrias Farmacêuticas Texon, Ltda.

¹⁷ Plast Campo, Plast Luvas Com. e Ind de Artefatos Plásticos, Ltda.

¹⁸ ClearCut Satin Slit Knife 3.2 mm, Alcon.

¹⁹ Fio mononaylon 10-0, Ethicon, a Johnson; Johnson company INC.

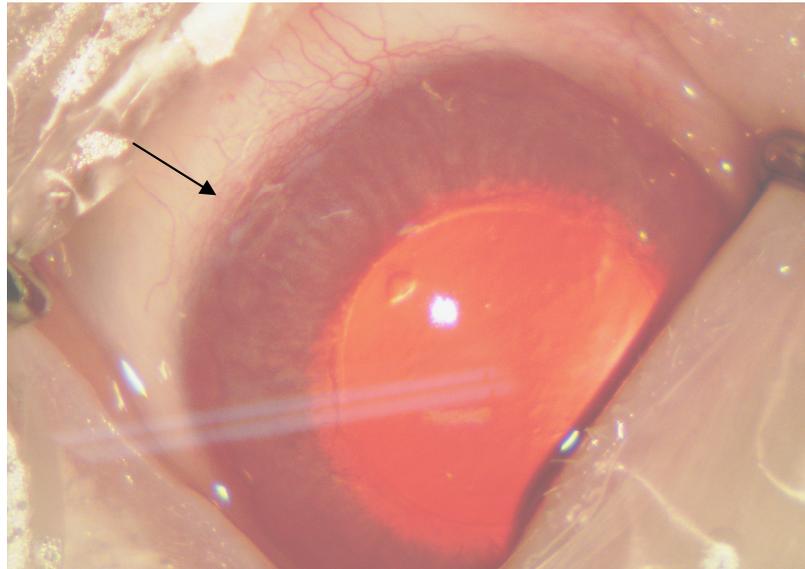


Figura 3 - Imagem per-operatória do fechamento da incisão de córnea de coelho com adesivo de fibrina (seta).

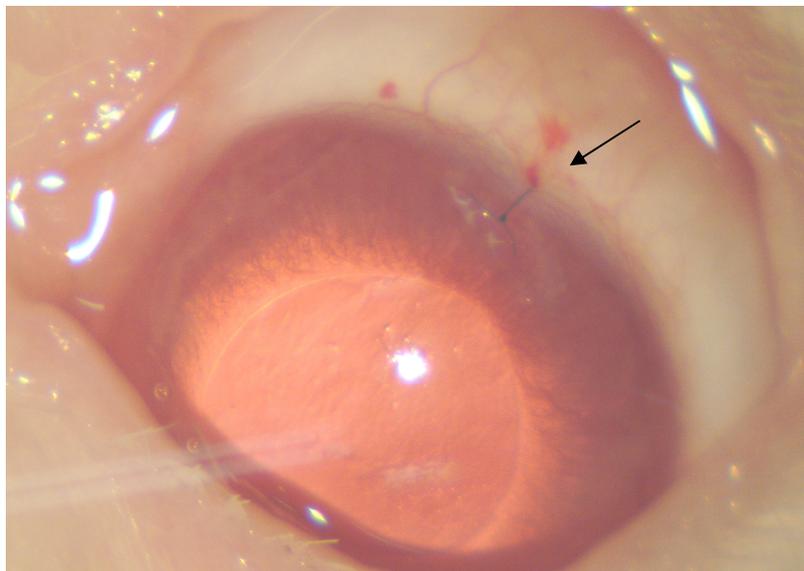


Figura 4 - Imagem per-operatória do fechamento da incisão da córnea de coelho com ponto simples interrompido (seta).

4.7 Procedimentos pós-operatórios

Imediatamente após os procedimentos operatórios, administrou-se cetoprofeno a 10%²⁰ na dose de 2 mg/Kg e cloridrato de tramadol, na dose de 2 mg/ Kg²¹, por via intramuscular. Decorridos 10 minutos, instilou-se colírio tobramicina a 0,3% associado à dexametasona a 0,1%²². Após 10 minutos instilou-se colírio de diclofenaco sódico 0,1%²³, decorridos mais 10 minutos instilou-se tropicamida a 1%.

No pós-operatório, foi instilado colírio de dexametasona associado à tobramicina no período diurno, a cada seis horas, em ambos os olhos, durante sete dias. Optou-se ainda pela utilização de colírio de diclofenaco de sódio e tropicamida a 1%. Para tanto, aguardou-se 10 minutos entre os colírios prescritos, em caso de coincidência de horários. A posologia empregada foi uma gota, a cada seis horas, no período de sete dias. No período noturno, optou-se pela aplicação única de pomada oftálmica de dexametasona, associada à tobramicina²⁴, durante sete dias.

Para evitar intercorrências quanto à automutilação, todos os animais foram mantidos com colar elisabetano durante o período pós-operatório.

4.8 Protocolos de avaliação

Constaram do protocolo de avaliação o exame oftálmico, as intercorrências per-operatórias, a microscopia eletrônica de varredura e a morfometria da região perincisional do endotélio da córnea.

²⁰ Ketofen 10%, Merial Saúde Animal, Ltda.

²¹ Cloridrato de Tramadol 50mg/mL, Teuto.

²² Tobradex, Alcon Lab. Brasil, Ltda.

²³ Still, Allergan, Produtos Farmacêuticos, Ltda.

²⁴ Tobradex, Pomada Oftálmica, Alcon Lab. Brasil, Ltda.

4.8.1 Exame Oftálmico

Foram realizadas avaliações clínicas e oftálmicas diárias em todos os animais, durante todo o período pós-operatório. O exame oftálmico incluiu avaliação dos reflexos pupilares, teste da lágrima de Schirmer, biomicroscopia com lâmpada de fenda, documentação fotográfica digital, tonometria digital de aplanção e prova da fluoresceína.

Para avaliar a condição visual, empregou-se o teste do reflexo à ameaça. Avaliaram-se, subjetivamente pelo mesmo pesquisador, a condição visual, o prurido, a fotofobia e o blefarospasmo, a congestão conjuntival, a secreção ocular, o edema corneano, a transparência do humor aquoso e a presença de sinéquias. Conceberam-se os níveis de intensidade: (-): ausente; (+): discreto; (++) : moderado e (+++) : severo. Além disso, realizaram-se aferições da pressão intra-ocular a cada 24 horas, durante todo o período de pós-operatório. Visando avaliar a integridade da córnea, utilizou-se a prova da fluoresceína. Avaliou-se a permanência do adesivo de fibrina e do fio de sutura na córnea. Durante todo o período pós-operatório, foram realizadas documentações fotográficas digitais, que foram armazenadas como arquivos digitais em DVD.

4.8.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Após o término de cada período de observação os animais foram eutanasiados. Para tanto, foram novamente anestesiados com tiopental sódico²⁵ intravenoso, na dose de 100 mg/kg. Posteriormente, foi provocada parada cardiorrespiratória com cloreto de potássio intravenoso. A seguir, realizou-se enucleação por via subconjuntival. Ato contínuo, foram aplicadas algumas gotas de solução de glutaraldeído a 2.5%²⁶, em tampão cacodilato de sódio 0,1M e pH 7.4²⁷ sobre a superfície corneana.

Após fixação prévia, as córneas foram excisadas em 360°, tomando-se a região límbica como referência, a uma distância de 2 a 3 mm em direção à esclera. As amostras

²⁵ Thiopentax® 1,0g, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos, Ltda.

²⁶ Glutaraldeído 2,5%, Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA.

²⁷ Cacodilato de Sódio, C₂H₆AsNaO₂, PM= 159,98, Vetec Química Fina, Ltda.

colhidas foram acondicionadas individualmente e mantidas imersas em solução de glutaraldeído a 2.5%, com tampão cacodilato de sódio 0,1M e pH 7.4, durante 8 horas, à temperatura de 4°C e a temperatura ambiente durante 7 dias.

O preparo e a análises das amostras foram realizados junto ao Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFRGS.

As amostras, após serem fixadas, foram submetidas a uma nova lavagem em solução tampão de cacodilato de sódio e desidratadas em concentrações ascendentes de álcool etílico²⁸ (30, 50, 70, 85, 90, 95 e 100%) e acetona P.A. (100%), sendo mantidas nas soluções pelo período de 15 minutos, para cada concentração, repetindo três vezes este protocolo na concentração de 100%.

Ato contínuo, foram secas em secador de ponto crítico²⁹, utilizando-se dióxido de carbono líquido. Foram fixadas em porta-espécime, com fita condutiva de cola de carbono e metalizadas no metalizador³⁰ com uma camada de ouro e paládio de 35 nm de espessura, em íon *sputter coater* durante dois minutos. Na seqüência, cada amostra foi avaliada no microscópio eletrônico de varredura³¹ operado com 15 Kv. Três eletromicrografias de varredura, com aumentos entre 35 e 55 vezes da região perincisional do endotélio corneano foram obtidas de cada amostra. Ocasionalmente, obtiveram-se imagens com outros aumentos. As imagens foram gravadas em arquivo digital.

4.8.3 Morfometria da superfície interna da incisão

Foi realizada morfometria computadorizada interativa empregando-se o *software* para análise morfométrica *Image Tool*³² em computador³³. Selecionou-se para a aferição da área perincisional desprovida de células endoteliais apenas uma eletromicrografia de cada amostra. Cada imagem foi devidamente calibrada em μm^2 , na barra de calibragem encontrada no canto direito da eletromicrografia. A área a ser

²⁸ Álcool Etílico Absoluto P.A.-A.C.S., Synth, Labsynth, Produtos para laboratório, Ltda.

²⁹ Critical Point Dryer Baltec EMS 850.

³⁰ Sputer Coater, Baltec- SCD 050.

³¹ Scanning Electron Microscope, JSM 6060, JEOL.

³² UTHSCSA ImageTool 3.0, Department of Dental Diagnostic Science at The University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas.

³³ Notebook, Toshiba, Intel Core Duo T 2350, Windows Vista.

mensurada foi contornada manualmente com auxílio do *software* e computador. A medida foi expressa em μm^2 e convertida em mm^2 .

4.9 Análise Estatística

A análise estatística objetivou avaliar comparativamente as áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais ocluídas com adesivo de fibrina ou fio de sutura. Além disso, comparar as áreas médias perincisionais do endotélio de coelhos, ocluídas com fio de sutura ou adesivo de fibrina, em diferentes tempos de observação pós-operatória. Para tanto, foi realizada uma análise descritiva dos dados, através de cálculo de média, desvio padrão, mínimo e máximo. As comparações das médias foram realizadas pela análise inferencial pelo teste de t de Student, para amostras pareadas, com nível de significância de 0,05. Os dados foram analisados no programa SPSS 12.0 e o alfa adotado foi de 5%

5 RESULTADOS

5.1 Procedimentos cirúrgicos

O tempo médio dispendido para a realização da oclusão da incisão corneana com fio de sutura foi de 2 minutos e 53 segundos e no selamento com adesivo de fibrina o tempo médio de aplicação foi de 9 segundos. Sendo que, a duração média para a aderência do adesivo sobre a córnea foi de 5 minutos e 9 segundos (Tabela 1), considerando o intervalo entre início da sutura corneana até o encerramento da mesma em um olho e a colocação do adesivo sobre a incisão e até a secagem do mesmo, no olho contralateral. O tempo médio para a oclusão foi maior no selamento com o adesivo de fibrina, pois preconizou-se aguardar 5 minutos após colocação até que o mesmo aderisse sobre a córnea.

As intercorrências per-operatórias observadas durante a realização da incisão de córnea foram quatro casos de hemorragia perincisional, quatro casos de ruptura da cápsula anterior, dois casos de miose e dois casos de hifema. Todas as ocorrências foram constatadas em coelhos do grupo 1.

Tabela 1 - Tempo cirúrgico, expresso em minutos, para a realização da oclusão da incisão de córnea em coelhos com o fio de sutura (F) e o tempo de aplicação do adesivo de fibrina (C).

Coelhos	F	C
1	2'35''	0'05''
2	2'47''	0'10''
3	3'05''	0'11''
4	2'58''	0'08''
5	3'04''	0'10''
6	3'10''	0'11''
7	3'06''	0'10''
8	1'57''	0'06''
9	3'10''	0'18''
10	1'30''	0'10''
11	1'48''	0'12''
12	2'39''	0'10''
13	3'58''	0'05''
14	2'40''	0'12''
15	2'41''	0'09''
16	1'44''	0'11''
Médias	2'40''	0'09''

5.2 Avaliação pós-operatória

Nenhum animal apresentou perda da percepção visual decorrente dos procedimentos operatórios.

Com relação ao prurido, todos os animais o apresentaram no pós-operatório imediato. Já no segundo dia de observação, apenas sete animais manifestaram tais episódios e destes, apenas cinco animais continuaram a apresentar prurido até o quinto dia de acompanhamento. Estas manifestações eram observadas com maior intensidade após a administração das medicações tópicas.

Relativo à fotofobia e ao blefarospasmo, as manifestações foram interpretadas como leve a moderada nos olhos submetidos ao selamento com adesivo biológico e de moderada a severa nos olhos submetidos a oclusão com fio de sutura. Tais eventos iniciaram no pós-operatório imediato e desapareceram no curso da primeira semana de pós-operatório.

No que se refere à congestão conjuntival, foram encontradas diferenças entre a intensidade, de acordo com o tempo de acompanhamento pós-operatório. Observou-se congestão conjuntival em todos os animais, sendo que em 25 olhos apresentavam-se de forma moderada (++) a severa (+++) nos períodos iniciais de avaliação e leve (+) em sete olhos. Todavia, não houve alteração quanto à intensidade da hiperemia no primeiro dia de pós-operatório comparativamente aos dois tipos de oclusões avaliadas. Em ambas as técnicas de fechamento da incisão corneana, a hiperemia ao terceiro dia encontrava-se de leve (+) a moderada (++) , cessando por completo na segunda semana de avaliação.

A secreção ocular observada era predominantemente seromucosa. A mesma apresentou-se na intensidade de leve (+) a moderada (++) em ambos os olhos. No entanto, após o quarto dia de pós-operatório, cessou a secreção ocular dos olhos reparados com o adesivo de fibrina. Em contrapartida, quatro animais permaneceram a apresentar secreção mucosa dos bulbos dos olhos fechados com fio de sutura.

O edema corneano resultante da técnica cirúrgica de incisão de córnea apresentou-se de forma leve (+) a severa (+++), em todos os animais. Localizou-se, em todos os casos, nas regiões perincisionais. Quando moderado (++) , o edema tornou-se

leve (+), após o quarto dia de pós-operatório. No grupo 1, o edema de córnea, mesmo leve, persistiu até a eutanásia do animal. Não obstante, no grupo 2, o edema leve desapareceu completamente, após o oitavo dia de avaliação. No entanto, quando se apresentavam de forma severa (+++), a redução foi gradativa, porém o edema persistiu até o momento da eutanásia, em ambos os grupos.

Quanto à presença de hifema, foram observados apenas dois casos de intensidade moderada (++) . Até o momento da eutanásia o hifema foi reabsorvido parcialmente.

A sinéquia anterior também estava presente. Foi evidenciada em quatro olhos, sendo que dois eram referentes ao selamento com adesivo biológico e dois relativos a oclusão com fio de sutura. E quanto à sinéquia posterior, três casos foram observados. Destes, dois foram nos olhos ocluídos com adesivo de fibrina e um com fio.

Com relação à pressão intra-ocular, observou-se sua diminuição 24 horas após os procedimentos cirúrgicos em todos os animais. Após o terceiro dia de pós-operatório foi observado aumento leve das pressões intra-oculares, porém em sete bulbos dos olhos, continuaram a apresentar baixa da pressão. Destes, três foram ocluídos com adesivo biológico e quatro com fio de sutura. A partir do décimo dia, todos os animais do grupo 2 passaram a apresentar valores da PIO semelhantes ao dia 0 (Tabelas 2, 3).

Os valores médios da PIO avaliados pelo teste t de Student revelaram que, a partir do terceiro dia de observação, os bulbos dos olhos selados com adesivo de fibrina comparativamente aqueles ocluídos com fio de sutura encontravam-se semelhantes. Ocorrendo a partir do quinto dia aumento do valor médio da PIO nos bulbos dos olhos fechados com fio de sutura. Ao décimo dia de pós-operatório, os valores médios da pressão intra-ocular encontrados, comparando ambos os tipos de reparo corneano, apresentavam-se semelhantes aos valores médios da PIO do dia 0 (Tabela 4 e figura 5).

Em três animais foi observada úlcera de córnea, sendo que apenas um animal apresentou teste da fluoresceína positivo bilateral e em dois animais foi unilateral, sem influência do tipo de reparo corneano empregado, pois um dos animais tinha sido ocluído com fio de sutura e dois com adesivo de fibrina. Nestes casos, em decorrência da úlcera de córnea, foi observado edema de córnea leve na região da lesão. Estes animais foram medicados com colírio de tobramicina a cada oito horas, até cicatrização completa da córnea. Após cinco dias de tratamento a lesão corneana apresentava-se cicatrizada.

Tabela 2 - Valores quantitativos da pressão intra-ocular (PIO) de ambos os bulbos dos olhos de coelhos submetidos ao procedimento cirúrgico de incisão de córnea bilateral, ocluídos com adesivo de fibrina (C) e fio de sutura (F) no grupo 1 (G1), nos períodos pré e pós-operatório de avaliação.

Coelhos	PIO		PIO		PIO		PIO	
	D0		D1		D3		D5	
	C	F	C	F	C	F	C	F
1	22,6	25,3	10	12	18	24	-	-
2	24,3	22,3	13	18	14	7	10	17
3	27	21,3	18	20	19	18	18	22
4	21,3	25,3	16	14	12	16	13	19
5	11,6	21	11	8	13	14	17	21
6	20,6	19	11	19	9	13	22	19
7	20,6	18,3	19	21	19	17	9	24
8	18,3	18,6	2	2	17	14	7	9
9	16,6	14,3	7	9	19	15	18	17

*medidas em mmHg

D0 – período pré-operatório

D1 – período pós-operatório 1^o dia

D3 – período pós-operatório 3^o dia

D5 – período pós-operatório 5^o dia

Tabela 3 - Valores quantitativos da pressão intra-ocular (PIO) de ambos os bulbos dos olhos de coelhos submetidos ao procedimento cirúrgico de incisão de córnea bilateral, ocluída com adesivo de fibrina (C) e fio de sutura (F) do grupo 2 (G2), nos períodos pré e pós-operatório de avaliação.

Coelhos	PIO		PIO		PIO		PIO		PIO		PIO	
	D0		D1		D3		D5		D10		D15	
	C	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C	F
10	16,3	19	2	10	10	10	17	17	19	18	13	14
11	16,6	17,6	2	6	4	13	10	11	18	18	18	15
12	14,3	13	6	10	12	11	18	10	14	16	20	22
13	16	15,33	4	9	13	12	16	16	16	13	13	20
14	13,6	14,66	8	11	12	10	13	12	13	18	16	17
15	11,3	15,33	2	16	8	8	13	15	18	21	15	14
16	12	12	8	11	12	14	13	19	21	21	14	16

*medidas em mmHg

D0 – período pré-operatório

D1 – período pós-operatório 1^o dia

D3 – período pós-operatório 3^o dia

D5 – período pós-operatório 5^o dia

D10 – período pós-operatório 10^o dia

D15 – período pós-operatório 15^o dia

Tabela 4 - Valores mínimos, máximos, médios e o desvio padrão (DP) da pressão intra-ocular (PIO), de ambos os bulbos dos olhos de coelhos submetidos ao procedimento cirúrgico de incisão de córnea bilateral, ocluída com adesivo de fibrina (C) e fio de sutura (F) nos períodos pré e pós-operatório de avaliação.

Período	Mín		Max		Média		DP	
	C	F	C	F	C	F	C	F
D0	10,67	11,67	25,33	27,00	17,16	18,18	4,14	4,84
D1	2	2	19	21	8,69	12,25	5,712	5,348
D3	4	7	19	24	13,19	13,50	4,355	4,147
D5	7	9	22	24	14,27	16,53	4,166	4,454
D7	8	9	19	20	14,60	16,60	4,336	4,393
D10	13	13	21	21	17,00	17,86	2,828	2,795
D15	13	14	20	22	15,57	16,86	2,637	3,078

*medidas em mmHg

DP – desvio padrão

D0 – período pré-operatório

D1 – período pós-operatório 1^o dia

D3 – período pós-operatório 3^o dia

D5 – período pós-operatório 5^o dia

D7 – período pós-operatório 7^o dia

D10 – período pós-operatório 10^o dia

D15 – período pós-operatório 15^o dia

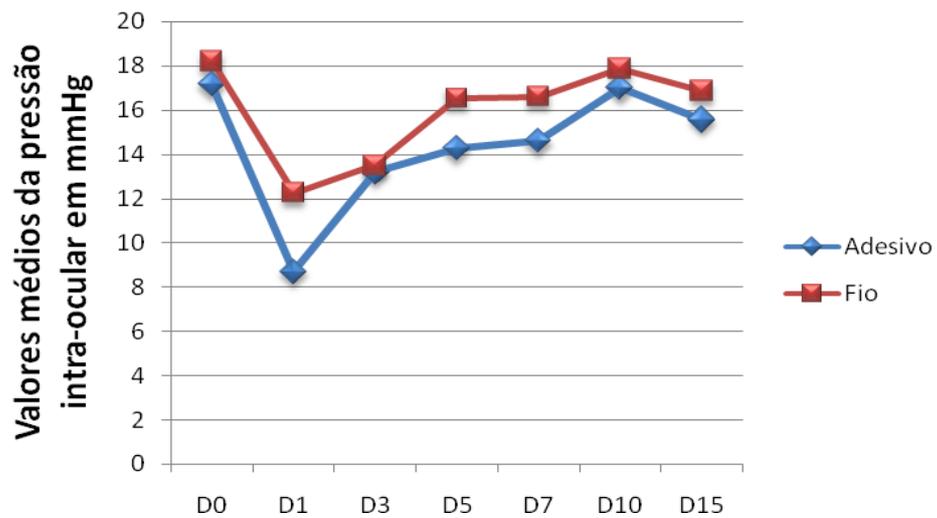


Figura 5 - Representação gráfica dos valores médios da pressão intra-ocular (PIO), de ambos os bulbos dos olhos de coelhos submetidos ao procedimento cirúrgico de incisão de córnea bilateral, ocluídos com adesivo de fibrina (C) e fio de sutura (F) nos períodos pré e pós-operatório de avaliação.

No pós-operatório imediato, as bordas da incisão corneana apresentavam-se devidamente coaptadas (Figura 6). O aposicionamento de todas as bordas corneanas ocluídas com fio de sutura foi considerado satisfatório a partir do quinto dia de pós-operatório, sendo adequado em todos os animais ocluídos por esta técnica. Ao sétimo dia de pós-operatório já apresentavam cicatrização epitelial (Figura 7).

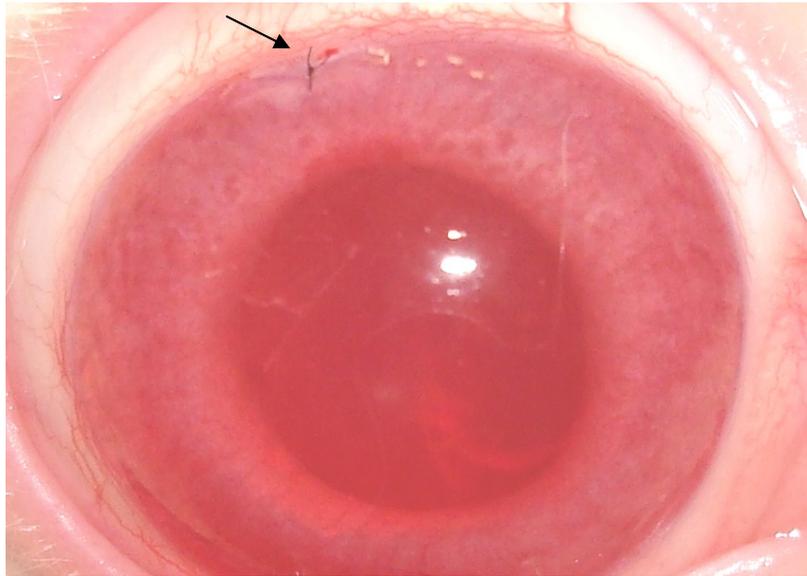


Figura 6 - Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com fio de sutura (seta), obtida no 1º dia de pós-operatório.

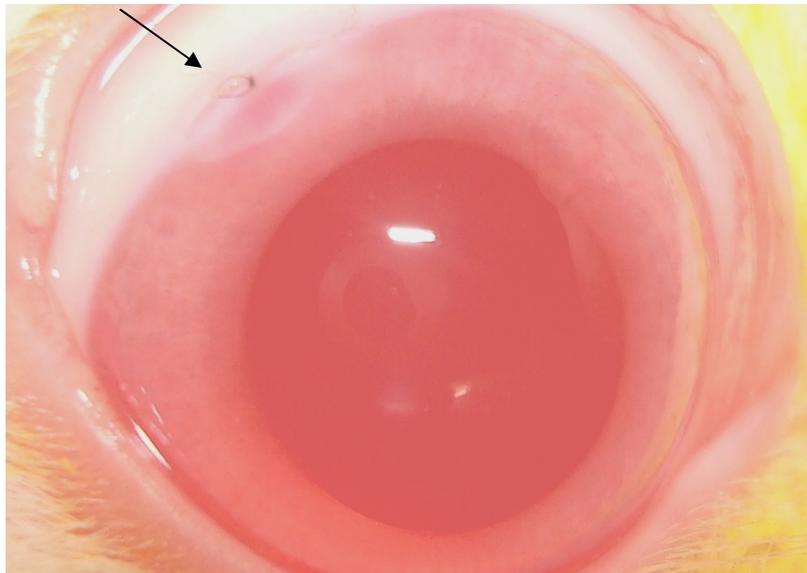


Figura 7 - Imagem fotográfica do bulbo ocular de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com fio de sutura (seta), obtida no 7º dia de pós-operatório.

Já os animais submetidos ao selamento com adesivo biológico, o aposicionamento das bordas corneanas mostrou-se satisfatório no pós-operatório imediato (Figura 8). No entanto, no segundo dia de acompanhamento, três animais apresentaram prolapso de íris, dois pertencentes ao grupo 1 e um ao grupo 2 (Figura 9). Ao sétimo dia, dois casos apresentavam as bordas corneanas epiteliais separadas e conseqüentemente coradas com fluoresceína (Figuras 10 e 11). Porém evidenciou-se o teste de Seidel negativo.

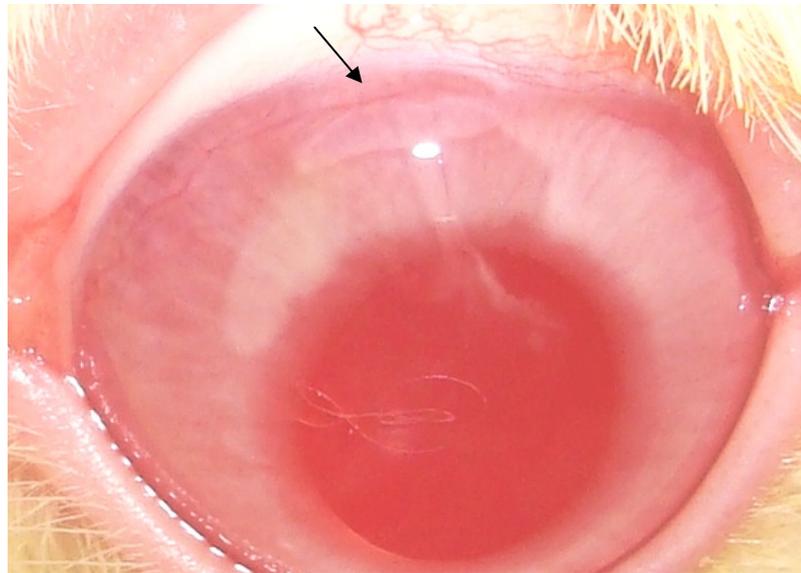


Figura 8 - Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea, selada com adesivo de fibrina (seta), obtida no 1º dia de pós-operatório.

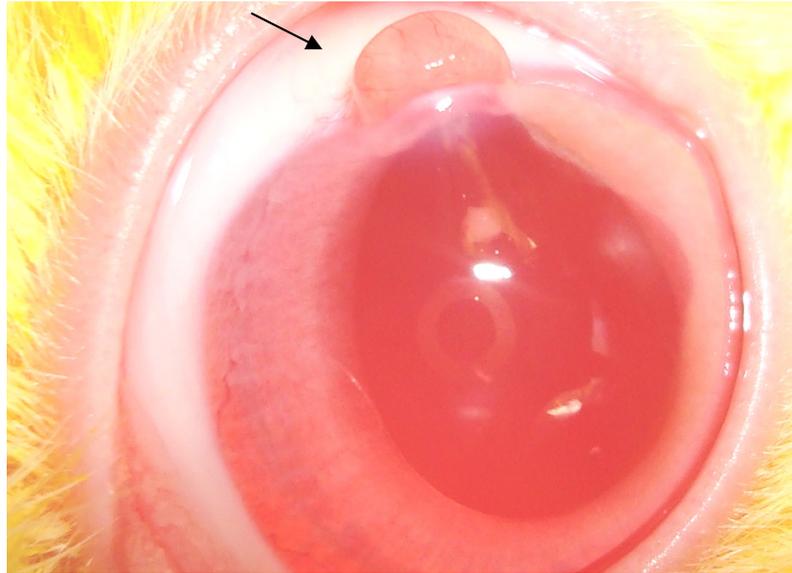


Figura 9 - Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com adesivo de fibrina, apresentando prolapso de íris (seta) no 2º dia de pós-operatório.

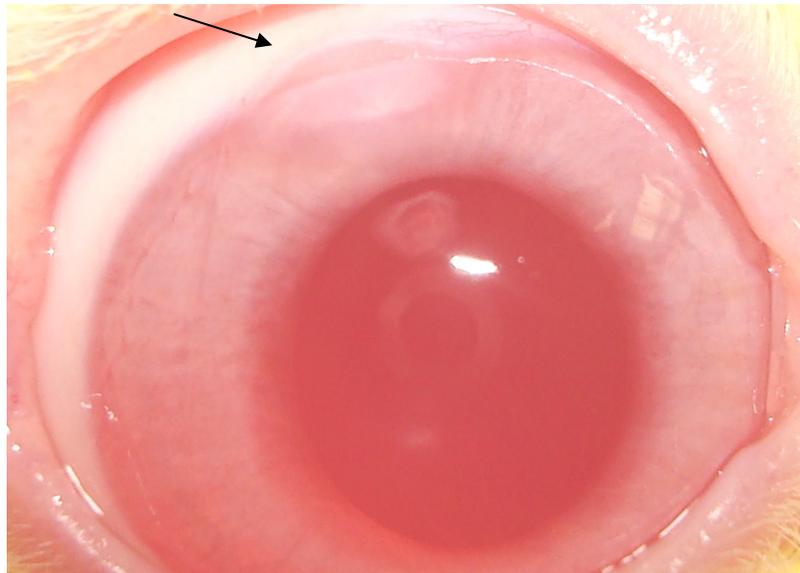


Figura 10 - Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea e selamento com adesivo de fibrina (seta), obtida no 7º dia de pós-operatório, com bordas corneanas mal coaptadas.

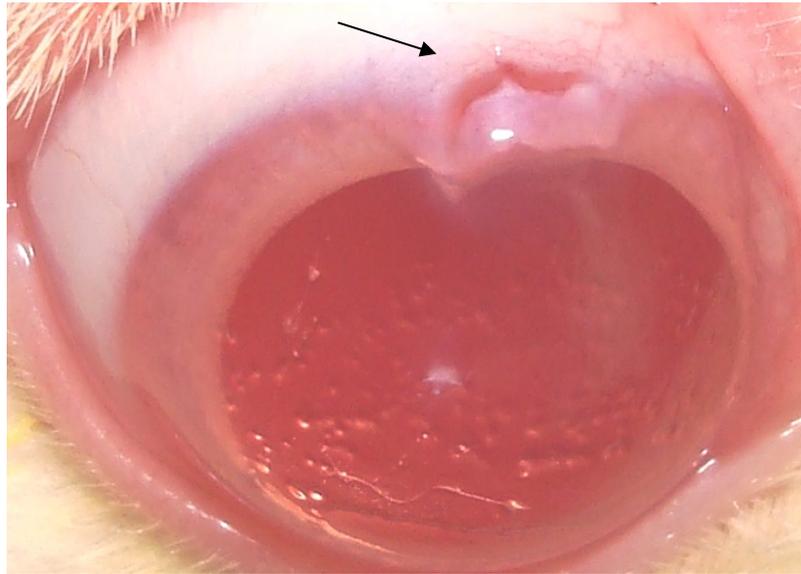


Figura 11 - Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea e selamento com adesivo de fibrina (seta) obtida no 7º dia de pós-operatório, com bordas corneanas mal coaptadas.

Não obstante, ao 15º dia, as bordas das incisões corneanas, tanto dos animais ocluídos com fio de sutura, como dos animais selados com adesivo de fibrina, apresentavam-se cicatrizadas (Figuras 12 e 13).

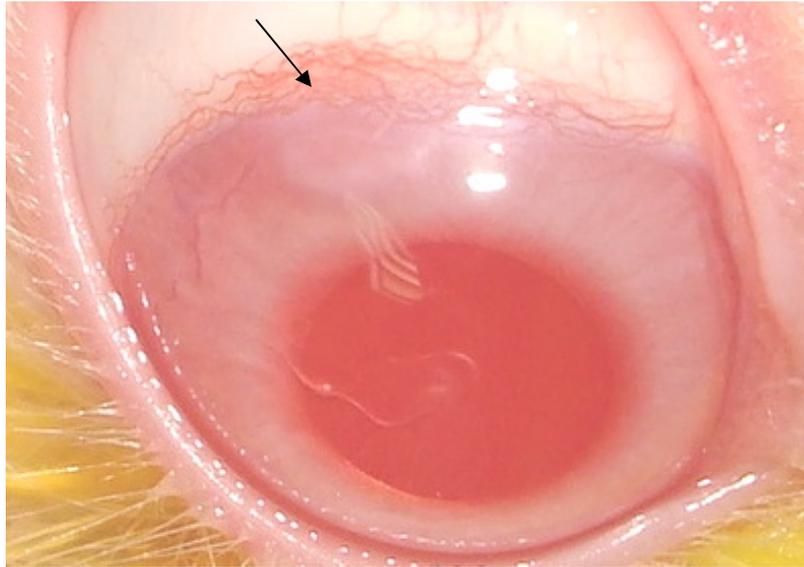


Figura 12 - Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com adesivo de fibrina (seta), no 15º dia de pós-operatório.

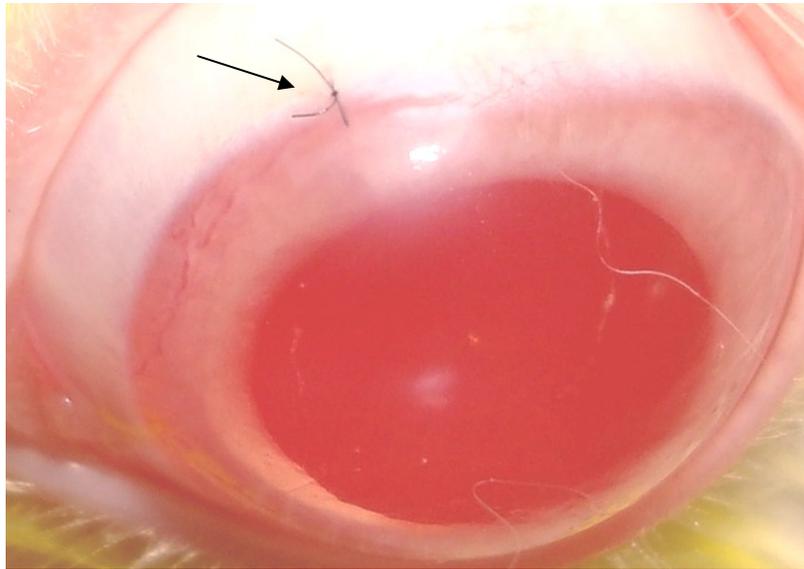


Figura 13 - Imagem fotográfica do bulbo do olho de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com fio de sutura (seta), no 15º dia de pós-operatório.

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura e Morfometria

Não foram observadas alterações nas eletromicrografias avaliadas decorrentes do preparo das córneas para o estudo, utilizando-se a microscopia eletrônica de varredura. Com exceção de uma amostra, que em decorrência da manipulação no momento do preparo, evidenciaram-se áreas de perdas celulares em sua eletromicrografia.

Com os aumentos entre 35 e 50 vezes foi possível visibilizar a área perincisional e aferir a região desprovida de células endoteliais. A obtenção de eletromicrografias com aumentos maiores possibilitou observar as células endoteliais e estabelecer com segurança os limites das áreas desprovidas de células (Figura 14) e visibilizar o mosaico endotelial (Figura 15)

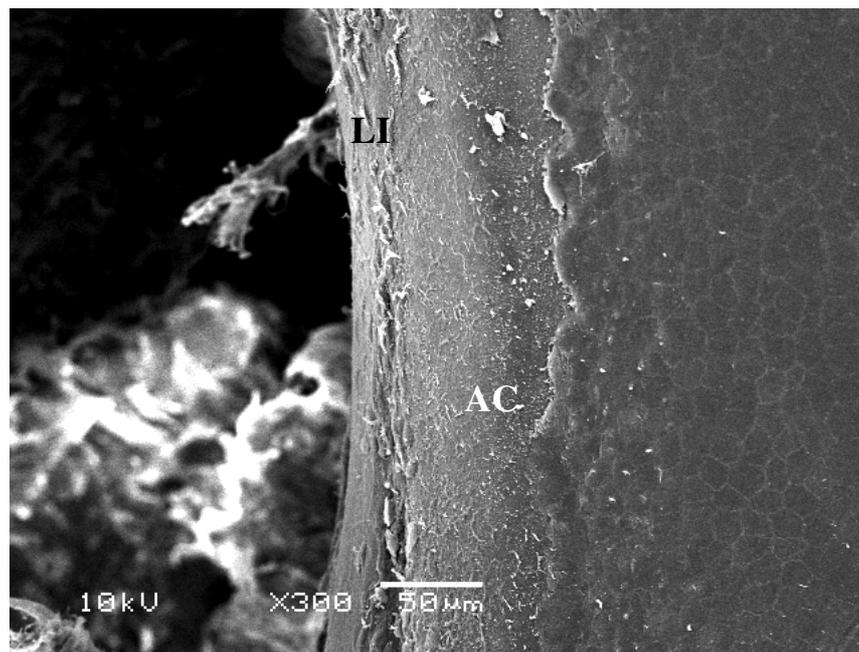


Figura 14 - Eletromicrografia de varredura da borda da lesão endotelial da córnea de coelho, submetido à incisão de córnea, ocluída com fio de sutura, obtida no 7º dia de pós-operatório. Notar margem da lesão incisional (LI) e ausência de células endoteliais (AC) próximo ao local da incisão. Aumento original 300 X; Barra = 50 µm.

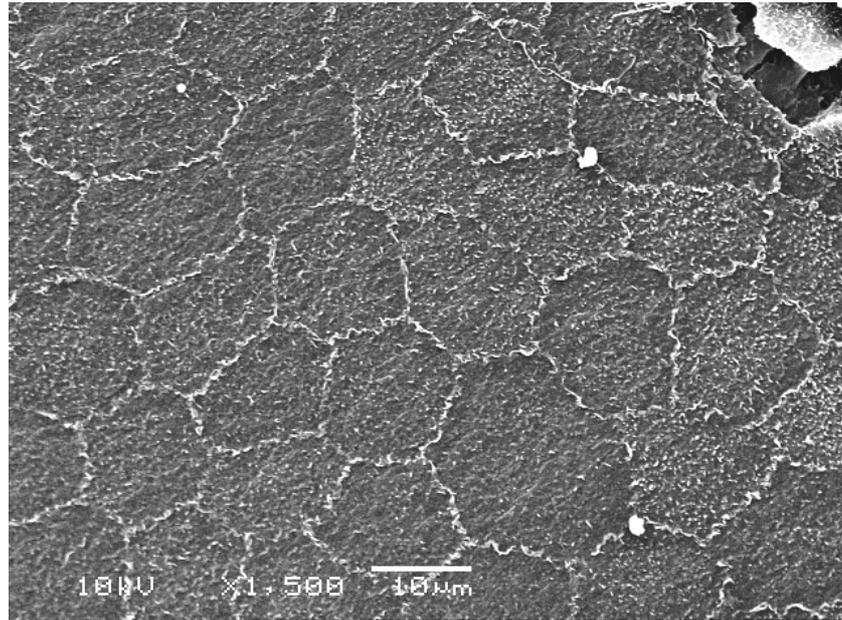


Figura 15 - Eletromicrografia de varredura do mosaico endotelial próximo à região perincisional do endotélio corneano de coelho submetido à incisão de córnea. Evidenciam-se células, com tamanho e forma irregulares. Aumento original 1.500 X; Barra = 10 µm.

Nas eletromicrografias do grupo 1, onde a incisão de córnea foi ocluída com adesivo de fibrina e avaliadas aos sete dias, observaram-se áreas perincisionais com ausência de células endoteliais (Figura 16). Notou-se neste mesmo grupo, num caso, onde houve prolapso de íris, a ocorrência de acentuada ausência de células endoteliais (Figura 17). E na outra amostra foi visibilizado fragmento da íris aderido ao estroma corneano, havendo ausência de endotélio nesta região (Figura 18).

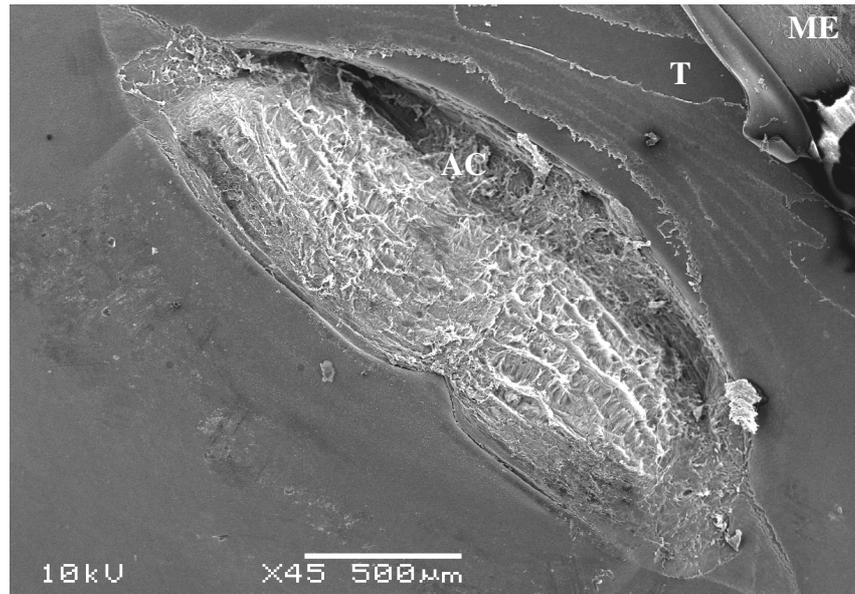


Figura 16 - Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e selada com adesivo de fibrina, obtida no 7º dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME) e ausência de células endoteliais (AC) próximo ao local da incisão devido a trauma por manipulação (T). Aumento original 45 X; Barra = 500 µm.

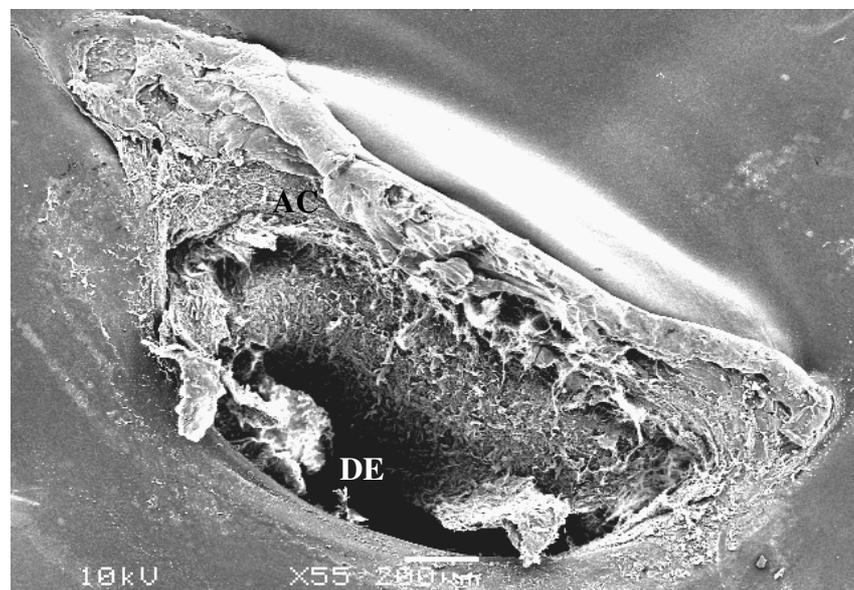


Figura 17 - Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e selada com adesivo de fibrina, obtida no 7º dia de pós-operatório. Notar defeito no estroma corneano onde houve protrusão de íris no centro da lesão incisional (DE) e ausência de células endoteliais (AC) próximo ao local da incisão. Aumento original 55 X; Barra = 200 µm.

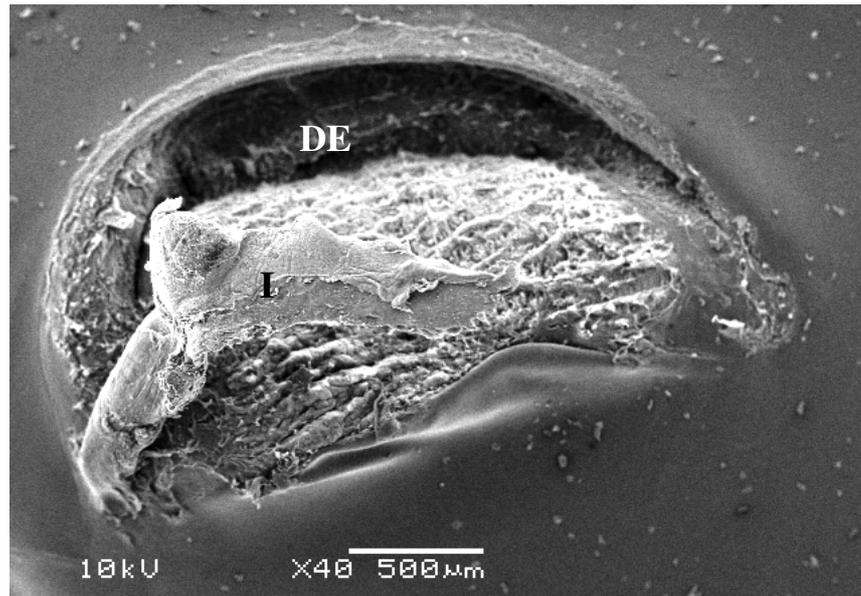


Figura 18 - Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e selada com adesivo de fibrina, obtida no 7º dia de pós-operatório. Notar defeito no estroma corneano na porção superior da lesão incisional (DE) e presença de fragmento de íris aderido ao estroma corneano (I). Aumento original 40 X; Barra = 500 µm.

Relativamente às áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, no grupo 1, ocluídas com adesivo de fibrina, mensuradas em mm^2 , foi observado aumento significativo das mesmas em dois casos (Tabela 5 e Figura 19). Ambos os casos apresentaram prolapso de íris. A média das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais dos animais ocluídos com adesivo de fibrina do grupo 1 foi de $2,12 \text{ mm}^2$.

Tabela 5 - Valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com adesivo de fibrina, aos sete dias do pós-operatório (grupo 1).

Coelhos G1	Área Média Adesivo
1	1,781
2	1,729
3	3,264
4	2,272
5	2,829
6	1,326
7	2,288
8	1,903
9	1,690

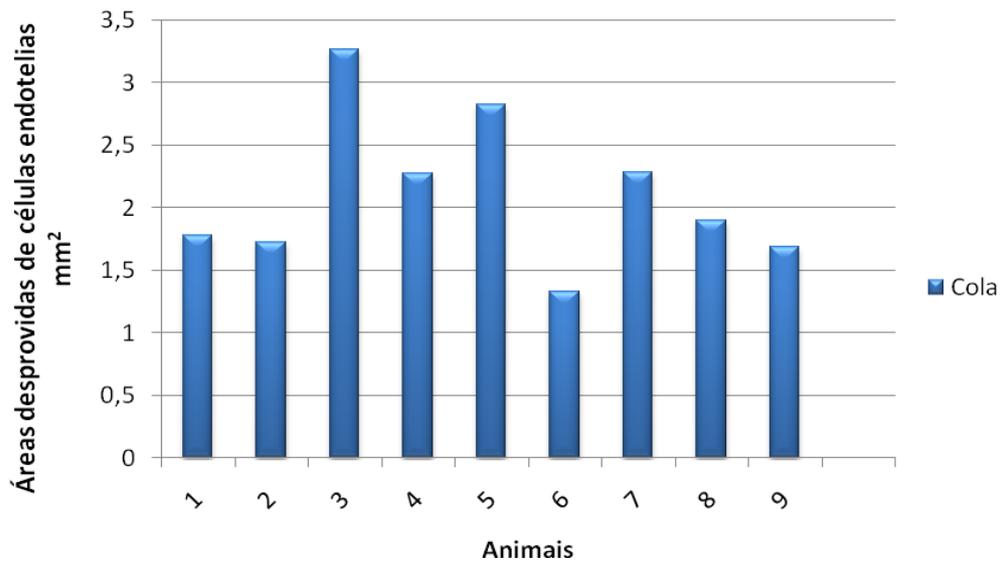


Figura 19 - Representação gráfica dos valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com adesivo de fibrina, aos sete dias do pós-operatório (grupo 1).

Relativamente às amostras advindas de córneas ocluídas com fio de sutura e avaliadas aos sete dias de pós-operatório, perdas celulares foram observadas (Figura 20). Evidenciou-se, em três casos, o fio de sutura emergindo na câmara anterior (Figura 21).

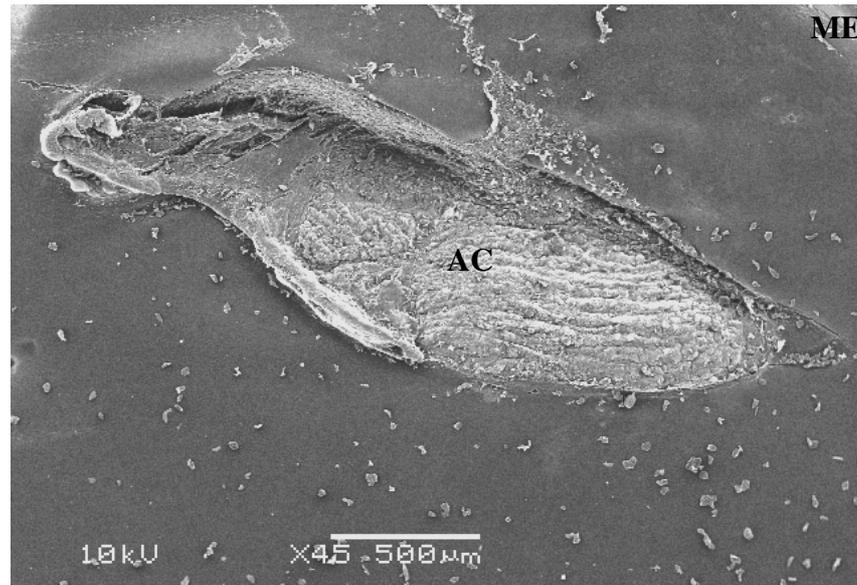


Figura 20 - Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea, ocluída com fio de sutura, obtida no 7º dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME) e ausência de células endoteliais (AC) próximo ao local da incisão. Aumento original 45 X; Barra = 500 µm.

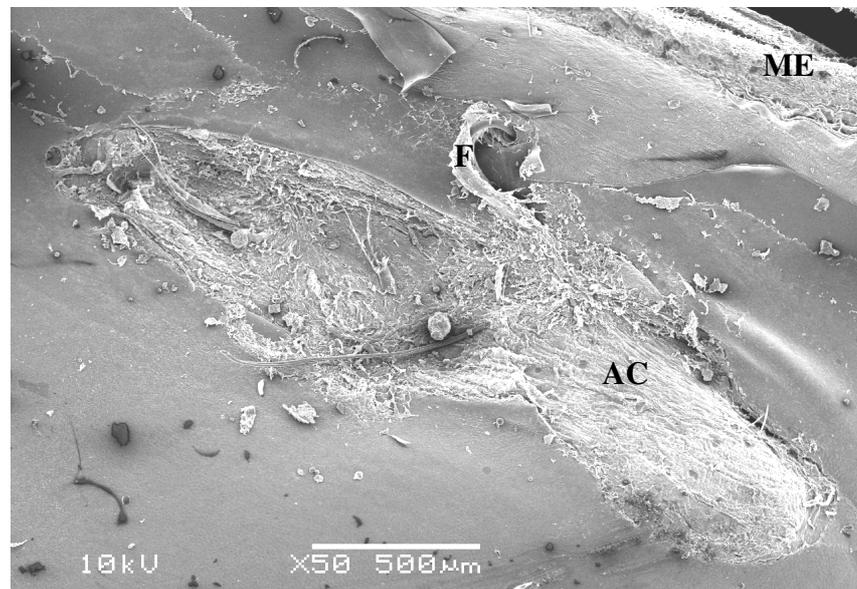


Figura 21 - Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e ocluída com fio de sutura, obtida no 7º dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME), ausência de células endoteliais (AC) próximo ao local da incisão e presença do fio de sutura emergindo do endotélio (F). Aumento original 45 X; Barra = 500 µm.

Os valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , da córnea de coelhos grupo 1 ocluídas com fio de sutura estão apresentadas na Tabela 6 e representadas graficamente na Figura 22. Neste grupo as áreas médias perincisionais desprovidas de células endoteliais da córnea de coelhos ocluídas com fio de sutura foi de $1,69 \text{ mm}^2$.

Tabela 6 - Valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com fio de sutura, aos sete dias do pós-operatório (grupo 1).

Coelhos G1	Área Fio
1	1,240
2	1,496
3	2,630
4	2,259
5	1,844
6	0,937
7	1,226
8	1,820
9	1,808

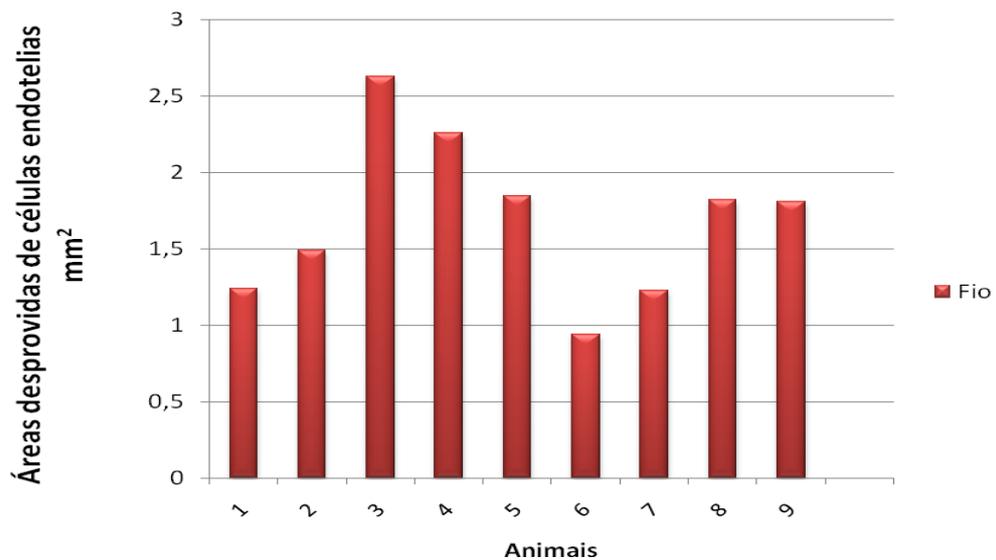


Figura 22 - Representação gráfica dos valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com fio de sutura, aos sete dias do pós-operatório (grupo 1).

Quando foram comparadas as áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, observou-se que essas foram maiores nas córneas onde a incisão foi ocluída com o adesivo de fibrina (Tabela 7 e Figura 23).

Tabela 7 - Valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão, ocluídas com fio de sutura e adesivo de fibrina, comparativamente aos sete dias do pós-operatório (grupo 1).

Coelhos	Área	
	Adesivo	Fio de sutura
1	1,781	1,240
2	1,729	1,496
3	3,264	2,630
4	2,272	2,259
5	2,829	1,844
6	1,326	0,937
7	2,288	1,226
8	1,903	1,820
9	1,690	1,808

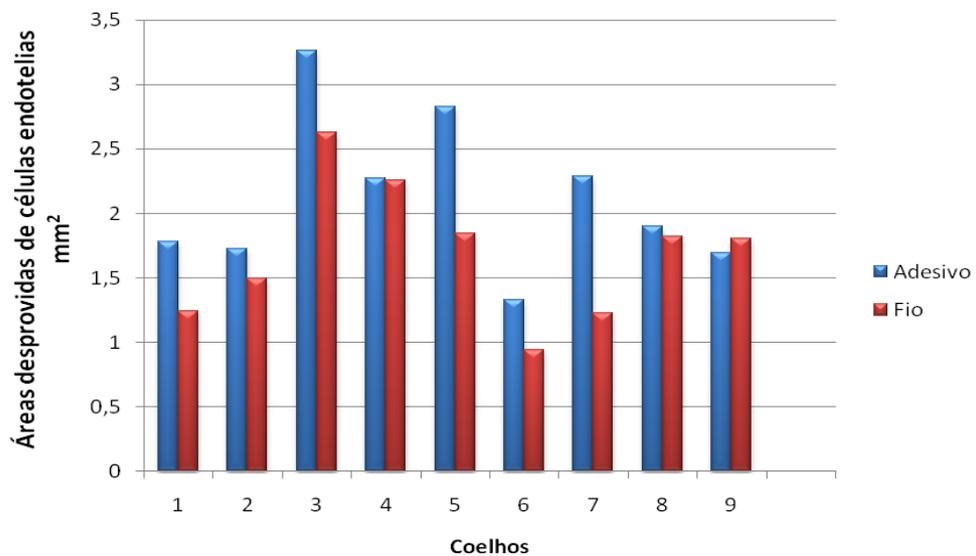


Figura 23 - Representação gráfica dos valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm^2 , das córneas de coelhos, submetidas à incisão de córnea, ocluídas com fio de sutura, comparativamente ao adesivo de fibrina aos sete dias do pós-operatório (grupo 1).

Ainda no grupo 1, as médias das áreas desprovidas de células endoteliais foi maior nas amostras submetidas ao selamento com adesivo de fibrina comparativamente ao fio de sutura (Figura 24).

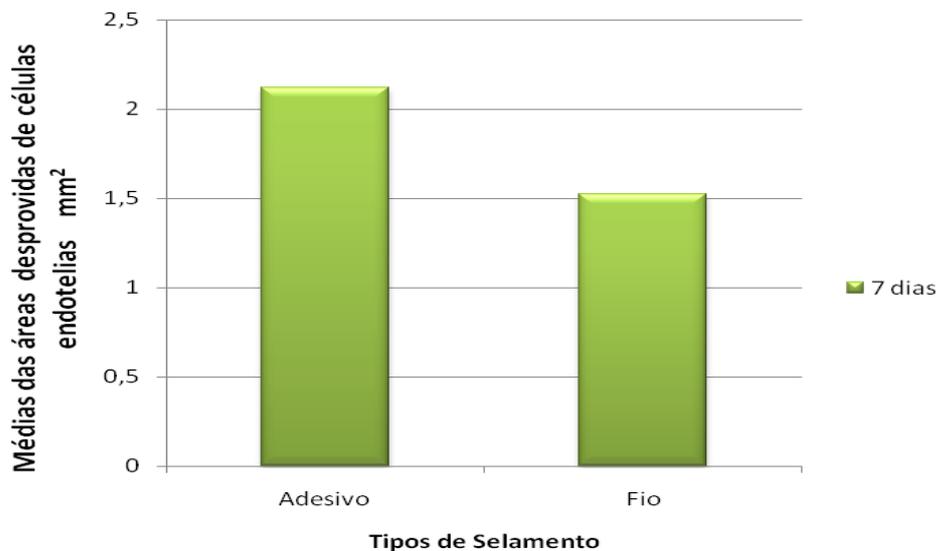


Figura 24 - Representação gráfica dos valores das médias das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão, ocluídas com fio de sutura e adesivo de fibrina aos sete dias do pós-operatório.

Nas eletromicrografias do grupo 2, onde a incisão de córnea foi ocluída com adesivo de fibrina, observou-se diminuição das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, comparativamente às áreas encontradas no grupo 1 (Figura 25).

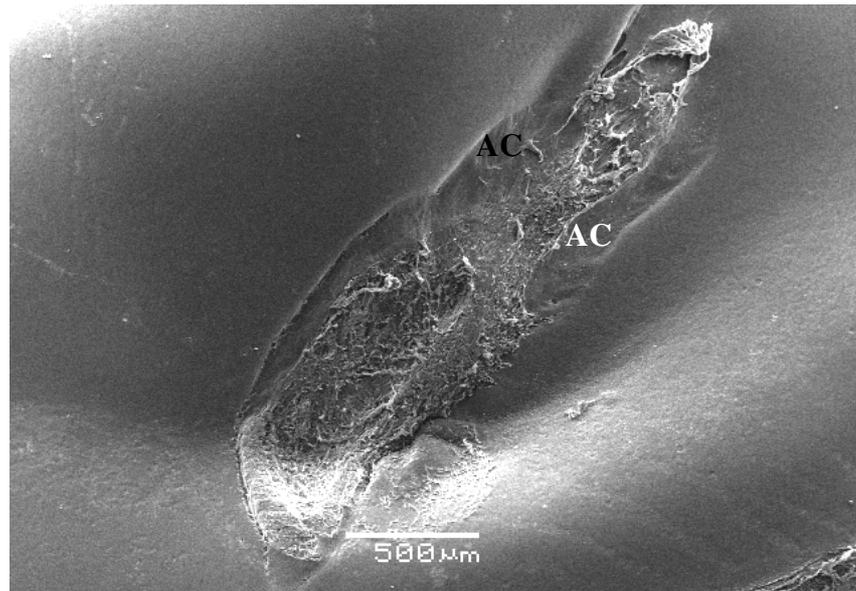


Figura 25 - Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e selado com adesivo de fibrina, obtida no 15º dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME) e ausência de células endoteliais (AC). Aumento original 45 X; Barra = 500 μm .

Notou-se, neste mesmo grupo, na amostra advinda de uma incisão selada com adesivo de fibrina e que apresentou o prolapso de íris, acentuada ausência de células endoteliais (Figura 26). Os valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , da córnea de coelhos grupo 2, ocluídas com adesivo de fibrina, estão apresentadas na Tabela 8 e representadas graficamente na Figura 27. Neste grupo, as áreas médias perincisionais desprovidas de células endoteliais da córnea de coelhos ocluídas com fio de sutura foi de $1,566 \text{ mm}^2$.

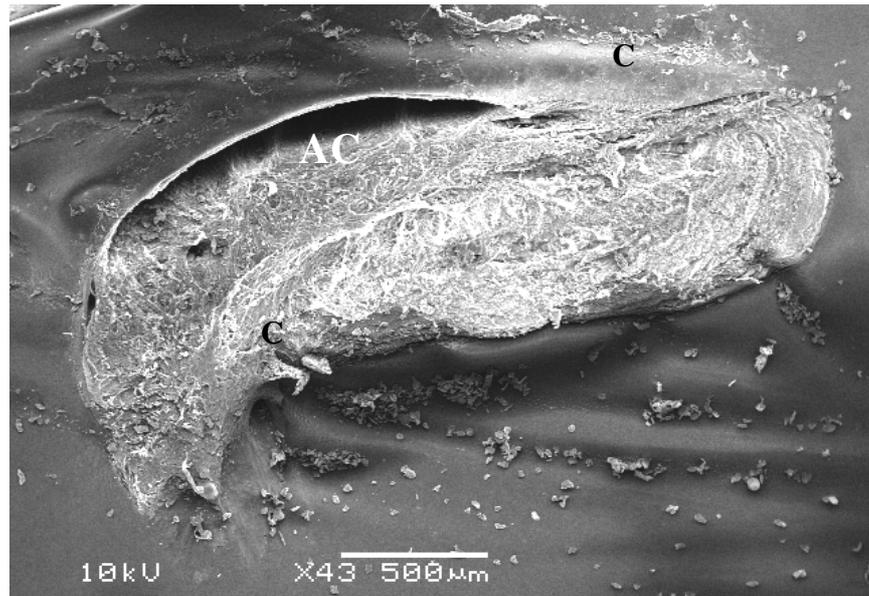


Figura 26 - Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio de coelho submetido à incisão de córnea e selada com adesivo de fibrina, obtida no 15º dia de pós-operatório. Notar área de cicatrização endotelial (C), depressão corneana, com ausência de células endoteliais (AC). Aumento original 43 X; Barra = 500 µm.

Tabela 8 - Valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com adesivo de fibrina, aos 15 dias do pós-operatório (grupo 2).

Coelhos G2	Área Média Adesivo
10	2,551
11	2,091
12	1,528
13	1,236
14	1,466
15	1,037
16	1,056

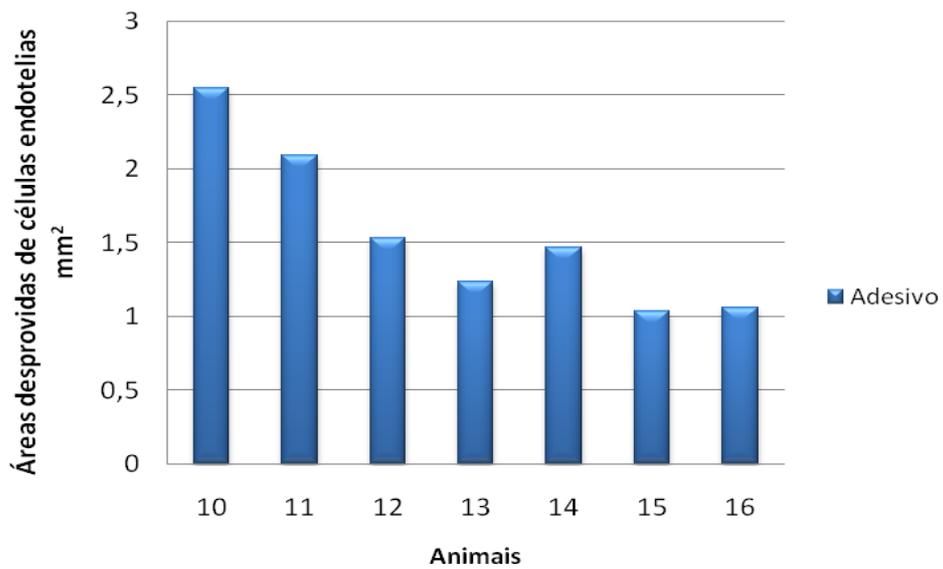


Figura 27 - Representação gráfica dos valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm², das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com adesivo de fibrina, aos 15 dias do pós-operatório (grupo 2).

Referindo-se às amostras advindas dos bulbos dos olhos submetidos a incisão de córnea, ocluídas com fio de sutura e colhidas aos 15 dias de pós-operatório, foram notada perdas celulares. A área perincisional desprovida de células foi menor no grupo 2, comparativamente ao grupo 1 (Figura 28). Evidenciou-se, em um caso, neste mesmo grupo, o fio de sutura emergindo na câmara anterior (Figura 29).

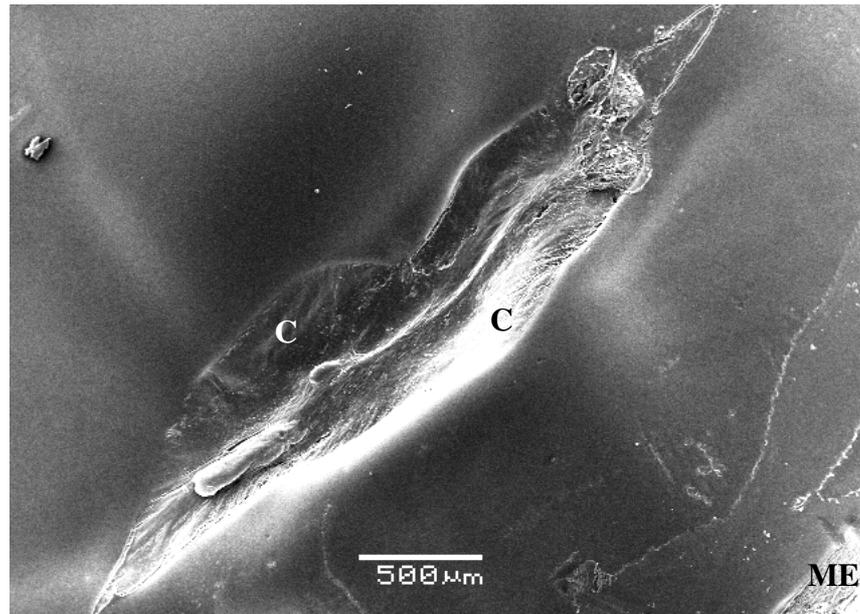


Figura 28 - Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio da córnea de coelho submetido à incisão de córnea, selada com fio de sutura, obtida ao 15º dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME) e área de cicatrização endotelial (C) com perda de definição das margens da lesão. Aumento original 45 X; Barra = 500 μm.

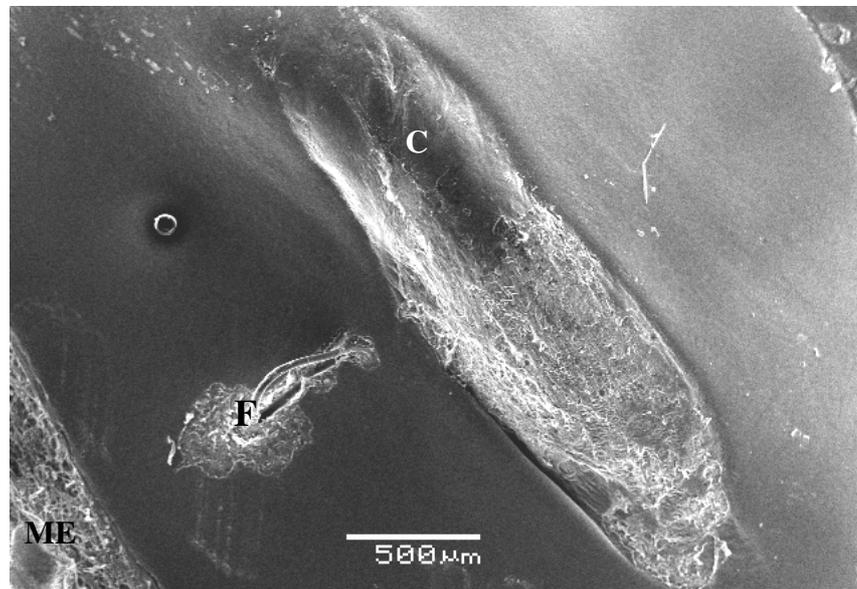


Figura 29 - Eletromicrografia de varredura da região perincisional do endotélio da córnea de coelho submetido à incisão de córnea, selada com fio de sutura, obtida ao 15º dia de pós-operatório. Notar margem escleral (ME), área de cicatrização endotelial (C) com perda de definição das margens da lesão e presença do fio emergindo do estroma corneano (F). Aumento original 45 X; Barra = 500 μm.

Nas amostras do grupo 2 ocluídas com fio de sutura foram mensuradas, através das eletromicrografias, as áreas em mm^2 , das lesões perincisionais desprovidas de células endoteliais da córnea de sete coelhos (Tabela 9 e Figura 30). A área média perincisional desprovida de células endoteliais encontrada neste grupo foi de $1,18 \text{ mm}^2$.

Tabela 9 - Valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com fio de sutura, aos 15 dias do pós-operatório (grupo 2).

Coelhos G2	Área Fio
10	1,13
11	1,88
12	1,26
13	0,93
14	1,37
15	0,86
16	0,85

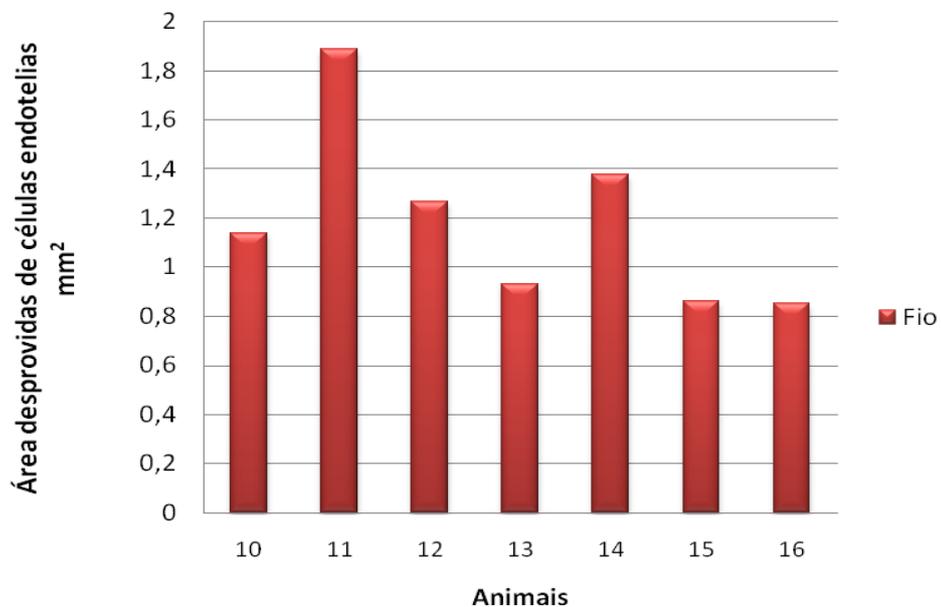


Figura 30 - Representação gráfica dos valores das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais, expressas em mm^2 , das córneas de coelhos submetidas à incisão e ocluídas com fio de sutura, aos 15 dias do pós-operatório (grupo 2).

5.4 Análise estatística

Neste estudo, devido à grande variabilidade dos resultados das amostras, não houve diferença significativa entre os grupos 1 e 2, pois o grau de significância foi maior que 0,05 (Tabela 10 e Figura 31).

À análise inferencial pelo teste t de Student para amostrar pareadas, comparando o tipo de oclusão utilizada, demonstrou haver diminuição estatisticamente significativa ($P=0,002$), nas médias das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais das amostras ocluídas com fio de sutura, comparativamente às seladas com adesivo, sem considerar o tempo de observação pós-operatória dos mesmos (Tabela 11).

O resultado salientou que as médias da área das amostras seladas com o adesivo de fibrina foi consideravelmente maior que as médias da área ocluída pelo fio de sutura (Figura 32).

Tabela 10 - Valores médios, desvio padrão (DP) e nível de significância das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais de coelhos, expressos em mm^2 , submetidos à incisão de córnea, comparativamente à oclusão com adesivo de fibrina e fio de sutura, nos períodos de 7 e 15 dias do pós-operatório.

Selamento	Grupos	Quantidade Coelhos	Média	DP	P-valor
Adesivo de fibrina	G1	9	2,120	0,611	0,084
	G2	7	1,566	0,563	
Fio	G1	9	1,695	0,534	0,05
	G2	7	1,187	0,369	

G1 – Grupo 1, Período de 7 dias de pós-operatório

G2 – Grupo 2, Período de 15 dias de pós-operatório

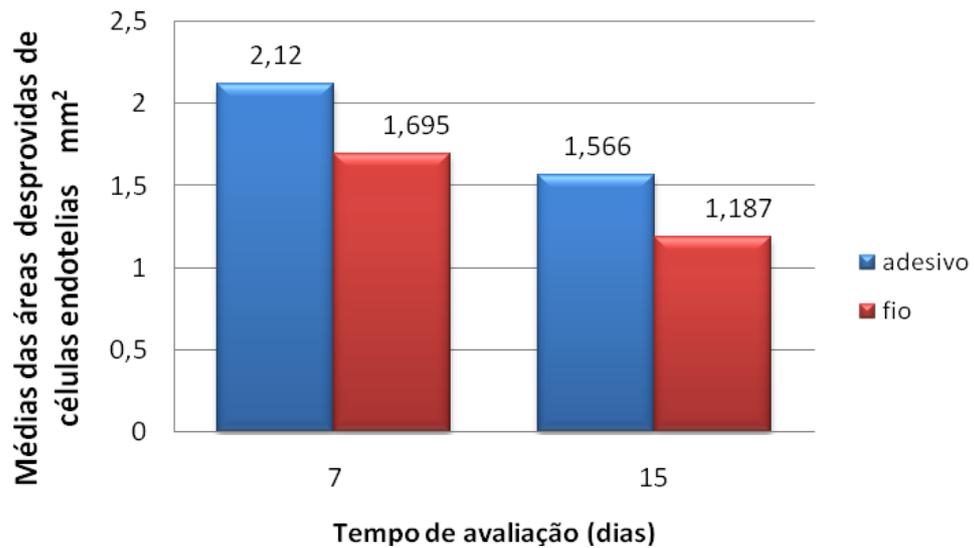


Figura 31 - Representação gráfica dos valores médios das áreas perincisionais desprovidas de células endoteliais de coelhos, expressos em mm^2 , submetidos à incisão de córnea, comparativamente à oclusão com adesivo de fibrina e fio de sutura, nos períodos de 7 e 15 dias do pós-operatório.

Tabela 11 - Valores médios, desvio padrão (DP) e nível de significância da área perincisional desprovida de células endoteliais, expressos em mm^2 , das córneas de coelhos, submetidas à incisão e ocluídas com adesivo de fibrina ou com fio de sutura.

Selamento	Média	Quantidade de coelhos	DP	P-valor
Adesivo de fibrina	1,878	16	0,638	0,002
Fio	1,473	16	0,524	



Figura 32 - Representação gráfica dos valores médios da área perincisional desprovida de células endoteliais, expressos em mm², das córneas de coelhos, submetidas à incisão e ocluídas com adesivo de fibrina ou com fio de sutura.

6 DISCUSSÃO

As técnicas de remoção da catarata sofreram alterações importantes utilizando incisões cada vez menores, buscando recuperação mais rápida e melhores resultados visuais.

No entanto, apesar dos avanços conseguidos, a busca por novas alternativas na oclusão da incisão de córnea continua. Nesse sentido, a importância do tema, aliada à escassez de estudos sobre a regeneração endotelial após técnicas de oclusão da incisão de córnea para procedimento cirúrgico de remoção de catarata motivaram a realização deste estudo.

O modelo animal selecionado neste estudo foi o coelho, da ordem *Lagomorpha*, gênero *Oryctolagus*, espécie *Oryctolagus cuniculus*, raça Nova Zelândia, variedade de coloração branca. O fato de serem de uma mesma cabanha, permitiu que todos fossem da mesma linhagem, preconizando-se assim, a mesma idade e peso corporal, seguindo o mesmo padrão em todo o estudo. Corroborando com Cardoso et al. (2007) que afirmaram esta espécie apresenta as características de seleção ideais para serem modelo experimental.

A opção pela espécie leporina como animal de experimentação deveu-se não apenas aos inúmeros relatos de experimentos focalizando a oftalmologia de humanos em diferentes áreas da medicina, mas decorreu principalmente da ampla aplicabilidade desta espécie em pesquisa oftálmica. Além disso, se deveu às facilidades de obtenção, manejo e similitude anatômica entre a córnea desse animal e a do homem e aquelas das principais espécies domésticas atendidas na clínica oftalmológica veterinária (PRINCE; DIESEN; EGLITIS, 1960; PRINCE, 1964; YEE et al., 1985; MARINHO, 2002; ALIÓ et al., 2004; EFEOGLU; AKÇAY; ERTÜRK, 2004; MOTA, et al., 2004; REYES et al., 2005; GIMENO et al., 2006; CARDOSO et al., 2007; LAI; CHEN; HSIUE, 2007; JOHAR et al., 2008). Com a exceção da membrana de Bowman, pois existem controvérsias quanto a sua presença na córnea de coelhos, e a característica de mitose das células endoteliais, as demais estruturas são semelhantes às da córnea humana (PRINCE, 1964; SILVERSTEIN; KHODADOUST; PRENDERGAST, 1982; MATSUDA et al., 1985; YEE et al., 1985). Na maioria dos trabalhos de estudos das lesões epiteliais e endoteliais, da sutura corneal, das repercussões dos adesivos

biológicos e sintéticos no epitélio da córnea, bem como de facoemulsificação, os coelhos foram utilizados como modelo experimental (SILVERSTEIN; KHODADOUST; PRENDERGAST, 1982; MATSUDA et al., 1985; YEE et al., 1985; MOTA et al., 2004; ALIÓ et al., 2004; REYE et al., 2005; GIMENO et al., 2006; MANDELL et al., 2006; JOHAR et al., 2008; TAKAOKA et al., 2008). Conforme os estudos experimentais anteriormente citados, o coelho demonstrou ser um modelo animal eficaz neste estudo. Entretanto, os cuidados pós-operatórios demandaram atenção e apresentaram custo elevado com matérias de consumo.

Os animais selecionados apresentavam a idade média de 90 dias, ou seja, nem muito jovens, nem senis, pois na espécie leporina, bem como em outras espécies animais, estudos revelam o decréscimo da densidade endotelial e modificações da morfologia celular com o avançar da idade (PRINCE, 1964; WARING et al., 1982; TUFT; COSTER, 1990; RODRIGUES 1999; PIGATTO et al., 2005a).

Valendo-se do exame oftálmico prévio de todos os animais, foram selecionadas somente córneas hígdas, mas o ideal teria sido incluir o exame da microscopia especular na avaliação ocular dos animais. Esta técnica permite avaliar os parâmetros morfológicos e morfométricos das células endoteliais, bem como, a espessura corneana (LAING; SANDSTROM; LEIBOWITZ, 1979; ABIB, 2000; MÓDIS; LANGENBUCHER; SEITZ, 2002; STUMPF; NOSÉ, 2006). É a modalidade semiológica mais objetiva para avaliação endotelial na clínica oftalmológica em humanos (ABIB; GUIMARÃES, 2000) e tem sido amplamente utilizada nas avaliações *in vivo* e *in vitro* do endotélio corneano em diversas espécies, incluindo humanos, caninos, felinos, ratos, nos coelhos, entre outros (GWIN et al., 1982; MATSUDA et al., 1985; YEE et al., 1985; TUFT; WILLIAMS; COSTER, 1986; LING; VANNAS; HOLDEN, 1988; HUANG; NELSON; BOURNE, 1989; COLLIN; COLLIN, 1998; ABIB, 2000; ABIB; BARRETO JR, 2001; ANDREW et al., 2001; PIGATTO et al., 2004; PIGATTO et al., 2006; PIGATTO et al., 2008). No entanto, devido ao alto custo e a indisponibilidade do equipamento, tal exame não foi realizado.

O protocolo concebido, em que se realizou a incisão de córnea bilateral, permitiu que se comparassem com confiabilidade ambas a técnicas de oclusão da incisão de córnea de coelhos. Com isso, minimizaram-se intercorrências, se a mesma comparação fosse conduzida em indivíduos diferentes. Corroborando com a assertiva de Alió et al. (2004), que avaliaram a eficácia e a tolerância clínica do bioadesivo Copolimer, comparativamente à hidratação dos bordos da incisão corneana e a oclusão com fio de

sutura tradicional. Para tanto, utilizaram ambos os olhos de coelhos Nova Zelândia, permitindo assim a comparação do tempo cicatricial dos diferentes métodos atualmente disponíveis para o fechamento corneano. Não obstante, Mota et al. (2004) estudaram comparativamente o selamento de perfurações lineares corneanas bilaterais, reparadas com adesivo sintético de N-butil cianoacrilato e sutura com fio poliglactina 910, concluindo que a cicatrização corneal de coelhos ocorreu mais rapidamente nas perfurações lineares seladas com o adesivo sintético, quando comparada à oclusão permitida pela sutura.

No entanto, discordam de Lai; Chen; Hsiue (2007), que para investigar a utilização de transplante de um folheto de células do endotélio em córneas desnudas de células endoteliais, avaliaram a capacidade de restaurar a função e a transparência corneana. Utilizaram como modelo animal coelhos brancos, Nova Zelândia, sendo que em um olho foi realizado o procedimento cirúrgico e o olho contralateral foi mantido como controle, sem a ocorrência de procedimentos cirúrgico. Johar et al. (2008), através da histomorfologia e do exame de imunofluorescência do colágeno tipo I, avaliaram a incisão de córnea para realização da facoemulsificação bimanual comparativamente à coaxial em coelhos Nova Zelândia. Para tanto, preconizaram dois grupos, os quais no olho esquerdo foram confeccionadas as técnicas cirúrgicas propostas e no olho contralateral o propósito foi mantê-lo como olho controle onde era realizada apenas uma incisão corneal.

Estudos prévios valendo-se da microscopia especular demonstraram que em bulbos oculares hígidos não existe diferença entre a morfologia e morfometria endotelial entre um olho e seu contralateral, apenas diferenças quanto à idade dos animais (GWIN et al., 1982; CHENG et al., 1985; MATSUDA et al., 1985; YEE; EDELHAUSER; STERN, 1987; ABIB, 2000; ANDREW, 2001; ABIB; BARRETO, 2001; ANDREW; WILLIS; ANDERSON; 2002; BRANDÃO et al., 2006; PIGATTO 2006; RODRIGUES et al., 2006; FRANZEN, 2007).

Como protocolo pré-operatório, optou-se pelo uso do colírio de tropicamida a 1% alternado com colírio de cloridrato de fenilefrina a 10%, empregados a cada 10 minutos respectivamente. Com isso, foi possível obter uma boa midríase intra-operatória, minimizado os riscos quanto a traumas cirúrgicos, principalmente os uveais anteriores. É de fundamental importância a dilatação pupilar, pois facilita as manobras cirúrgicas (DZIEZYC, 1990; WHITLEY et al., 1993). No entanto, inúmeros protocolos clínicos pré-operatórios têm sido propostos visando o preparo cirúrgico de animais. Em

sua maioria, objetivam uma ampla dilatação pupilar para a prevenção da inflamação intra-ocular e de endoftalmite pós-operatórias. Os fármacos que compõem este protocolo terapêutico são os midriáticos, antiinflamatórios e antibióticos (MILLER et al., 1987; WHITLEY et al., 1993; ALIÓ et al., 2004).

Diversos protocolos anestésicos têm sido propostos para realização de procedimentos oftálmicos em coelhos (MARINHO, 2002; ALIÓ et al., 2004; MOTA et al., 2004; GIMENO et al., 2006; JOHAR et al., 2008). Devido ao curto tempo cirúrgico, optou-se pela realização de anestesia geral dissociativa por via intravenosa. Instituiu-se a pré-anestesia com acepromazina adicionada a cloridrato de petidina e à indução e manutenção anestésica com cetamina associada a midazolam, conforme o sugerido por Mota et al. (2004), Gimeno et al. (2006) e Johar et al. (2008). O protocolo anestésico adotado mostrou-se seguro e intercorrências não foram notificadas.

No presente estudo não foram utilizados neurobloqueadores com o intuito de promover a centralização do globo ocular (WHITLEY et al., 1993), como realizado por Felchle; Sigler (2002), ao executar o procedimento de facoemulsificação em coelho Nova Zelândia portador de catarata induzida por uveíte facoclástica. Já Teixeira (2003), valendo-se dos neurobloqueadores juntamente do blefarostato, realizou a centralização do bulbo do olho permitindo o acesso corneano adequado no procedimento de facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular em cães. Outros autores optaram pela confecção de cantotomia, blefarostase mecânica e posterior fixação do bulbo ocular com auxílio de pontos de suturas de reparo na conjuntiva bulbar e episcleral nas posições de 3, 6 e 9 horas para alcançar satisfatória exposição da córnea e realização da técnica cirúrgica preconizada (BOLDY, 1988; SOUZA, 2003; PIGATTO, 2004; HONSHO et al., 2007). No entanto, no presente estudo optou-se pela blefarostase mecânica com auxílio de blefarostato aramado e pinça de conjuntiva fixando o bulbo ocular. A exposição do bulbo ocular foi satisfatória, pois o tempo cirúrgico era mínimo e a manobra cirúrgica realizada na região superior do bulbo ocular não necessitava de centralização ocular completa.

O acesso cirúrgico eleito neste estudo para a região superior do bulbo ocular valeu-se do decúbito lateral, permitindo adequado acesso à região cirúrgica, conforme Souza (2003) que, para realizar o procedimento cirúrgico oftálmico de ceratoplastia lamelar em cães utilizando membrana fetal e Hardman; Mcilnay; Dugan (2001) que, para realizarem facoemulsificação em um equino, posicionaram os animais em decúbito lateral. Divergindo de Boldy, (1988); Teixeira, (2003) e Pigatto, (2004), que para

realizarem o acesso cirúrgico para facoemulsificação em cães, utilizaram o decúbito dorsal com ventroflexão do pescoço.

Objetivando-se minimizar os riscos de endoftalmite pós-operatória, preconizou-se a tricotomia dos cílios, juntamente com a colocação de panos de campos estéreis descartáveis e anti-sepsia do saco conjuntival com iodopovidona 1% diluída em solução fisiológica, como o preconizado nos procedimentos de rotina cirúrgica oftálmica (SOUZA, 2003; PIGATTO, 2004; HONSHO et al., 2007). Esta manobra deveu-se ao fato de que a utilização de preparados de iodopovidona tópico, com finalidade de assepsia ocular no pré-operatório oftálmico, vem sendo preconizada no decorrer dos anos. O iodopovidona apresenta níveis baixos de toxicidade ocular e por isso é relatada a sua utilização na concentração de 5% nos procedimentos cirúrgicos oftálmicos em humanos (ALP et al., 2000). Contudo, Alp et al. (2000) avaliaram com auxílio da microscopia especular e microscopia eletrônica de varredura as repercussões endoteliais após utilização do iodopovidona tópico no interior da câmara anterior de coelhos. Afirmaram que a utilização da concentração de 5% e 10% geraram toxidade endotelial, levando a alterações morfológicas e morfométricas das células estudadas. Mesmo assim, conduziu-se criteriosa anti-sepsia da área operatória, bem como do saco conjuntival com Polivinilpirrolidona Iodo diluído em solução salina (1:100). Objetivando a profilaxia em relação a endoftalmites, infecções e uveítes pós-operatórias, estabeleceu-se antibioticoterapia com tobramicina associada à dexametasona (SOUZA, 2003; HOFFMAN et al., 2005; LEONARDI et al., 2006).

Para realizar os procedimentos cirúrgicos oftálmicos propostos neste estudo, valeu-se de um microscópio cirúrgico adequado para cirurgia oftálmica, bem como, instrumental para microcirurgia ocular e de um mesmo cirurgião. Em decorrência do fato da incisão cirúrgica ser uma das etapas mais importantes e decisivas na evolução da cirurgia de catarata, é necessário uma fonte de magnificação e instrumentais cirúrgicos adequados (MOREIRA; BELFORT JR, 1997; OLIVEIRA; REZENDE, 2000). Portanto, a técnica cirúrgica preconizada não seria passível de realização se estes princípios básicos da cirurgia não fossem obedecidos, pois as manobras cirúrgicas oftálmicas devem ser precisas, meticulosas e delicadas, devido à minuciosidade das estruturas oculares.

No presente estudo padronizou-se a realização de incisão de córnea tunelizada auto-selante em dois planos. Tal técnica foi proposta em virtude da facilidade e rapidez de confecção da incisão, ausência de hemorragias e da maior aplicabilidade em

procedimentos cirúrgicos de facoemulsificação para remoção da catarata, na atualidade, tanto na espécie humana, quanto em espécies animais (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; OLIVEIRA; REZENDE, 2000; COSAR et al., 2001; TEIXEIRA, 2003; TABAN et al., 2004; PIGATTO, 2004; WARREN, 2004; GONÇALVES; RODRIGUES, 2007; PIGATTO et al., 2007; MAY et al., 2008).

Dentre as principais vantagens relacionadas à opção pela incisão de córnea observadas ao fim deste estudo, encontram-se uma menor cicatriz corneal, recuperação da percepção visual com maior rapidez e ausência de endoftalmites. Concordando com Glover; Constantinescu, (1997) e McDonnell et al. (2003), que além destas vantagens, descreveram também a possibilidade de implantação de lentes intra-oculares e de um adequado selamento da câmara anterior com essa técnica. Taban et al. (2004) afirmam que a morfologia da incisão cirúrgica é diretamente relacionada ao ângulo na qual a lâmina do bisturi será introduzida na córnea no momento da confecção da lesão, influenciando no adequado posicionamento das bordas corneanas e fechamento da incisão cirúrgica.

A incisão de córnea foi realizada com auxílio de bisturi descartável, com lâmina metálica angular de 3,2 mm de largura, específica para confecção da incisão corneana no procedimento de remoção da catarata (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; ALMODIN, 2000; WAISWOL, 2004; BERDAHL; DESTAFENO; KIM, 2007). Para tanto, no presente estudo, optou-se por realizar incisão de córnea biplanar auto-selante, com este bisturi. Em virtude do conhecimento da largura da lâmina do bisturi, bem como do ângulo e do tipo de incisão, foi possível obter uma padronização do tamanho da lesão endotelial. De acordo com Taban et al. (2004), o tamanho e o ângulo no qual o bisturi será inserido na córnea e a flutuação da pressão intra-ocular repercutem de modo favorável ou não no selamento do túnel corneano, principalmente na região epitelial. No entanto, especulam que os mesmos fatores podem repercutir no selamento e atividade endotelial, sugerindo assim novos estudos enfocando estes efeitos.

Devido ao tamanho de 3,2 mm da incisão cirúrgica, foi possível obter controle e respaldo positivo em relação à endoftalmite, frente ao tratamento pós-operatório adotado. Corroborando com a assertiva de Crema (2000) e Souza; Rodrigues; Souza (2006), que afirmaram que esta nova técnica de confecção da incisão corneana proporciona uma lesão menor, mais eficiente e que melhor protege o bulbo ocular, elevando a taxa de sucesso cirúrgico e reduzindo drasticamente a incidência de endoftalmite per e pós- operatória. No entanto, Taban et al. (2004) referem que a

variação do posicionamento das bordas da ferida corneana, juntamente com a habilidade do filme lacrimal pré-corneano em atravessar a incisão corneana no pós-operatório, sugerem um mecanismo de acesso do microorganismo através da superfície ocular, para o interior da câmara anterior no período pós-operatório, resultam em endoftalmite. Contudo, no presente estudo não foi observado nenhum quadro de endoftalmite pós-operatória.

Para realização da incisão corneana preconizou-se a região dorsal e lateral ao limbo corneano, confeccionando-a na posição de 11 a 1 hora (HARDMAN; MCILNAY; DUGAN, 2001; TEIXEIRA, 2003; PIGATTO, 2004; ÖZGENCIL, 2005). Optou-se por esse posicionamento em decorrência do fácil acesso cirúrgico, menor atrito palpebral, menor chance de infecção intra-ocular e mínima ocorrência de deiscência cicatricial com extravasamento do conteúdo intra-ocular pós-operatória. Contudo, em três animais foram observados prolapso da íris através da incisão corneana. Entretanto, em nenhum dos casos foi observado extravasamento do humor aquoso.

Outra vantagem descrita em virtude do tamanho e do posicionamento da incisão encontra-se o astigmatismo adquirido ao término do procedimento cirúrgico (WHITLEY et al., 1993; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; CREMA, 2000; FADEL, 2004; BERDAHL; DESTAFENO; KIM, 2007). No cão, o grau significativo de astigmatismo resultante da incisão de córnea está relacionado ao tamanho da incisão corneana (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997). Não obstante, Gonçalves; Rodrigues (2007) referem que a incisão de córnea, realizada no meridiano mais curvo em humanos, reduz o astigmatismo ceratométrico pré-existente. Neste estudo, não foi mensurado o grau de astigmatismo gerado em decorrência da incisão corneana, devido à indisponibilidade do ceratoscópio, responsável por fornecer a análise do contorno da superfície corneana (NEVES; BELFORT JR, 1997).

Ao realizar a incisão, foi observada em quatro casos hemorragia perincisional. Isto ocorreu em decorrência da proximidade da região escleral caracterizada pela alta vascularização limbar. Porém, não foi observada alteração cicatricial ao término do período de observação pós-operatória. Crema (2000) justifica este acontecimento ao afirmar que a ocorrência de pequenas hemorragias dos vasos limbares promoveria a coagulação e formação de uma malha de fibrina nas incisões mais próximas ao limbo, levando, teoricamente, a uma cicatrização mais rápida e mais segura.

Diversos tipos de oclusão corneana vêm sendo propostos e utilizados nas cirurgias oftálmicas, tanto na espécie humana, quanto na espécie animal. Dentre eles encontram-se as suturas corneanas (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; FADEL, 2004; ÖZGENCIL, 2005; PIGATTO, 2004), os adesivos sintéticos e biológicos, a hidratação das bordas da incisão corneana e até mesmo a ausência de reparos (WAISWOL et al., 2004; KONGSAP, 2007; BELLINI; BRUM, 2008). Devido à indicação cirúrgica para fechamento de lesões corneanas, os inúmeros estudos experimentais existentes e o respaldo positivo por parte dos cirurgiões na utilização do fio de sutura como técnica de selamento corneano, optou-se neste trabalho por utilizar o fio de sutura como objeto do estudo (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; GARG et al., 2003; TEIXEIRA, 2003; TERRY; OUSLEY, 2003; BASAK, 2004; UY et al., 2005; PIGATTO, 2004; BAHAR et al., 2006; OZDOMAR et al., 2008). Com relação ao material utilizado na sutura de córnea optou-se pelo mononaylon 10-0 encastoadado de fábrica, com padrão de ponto simples separado (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; LI et al., 2002; UY et al., 2005; SEDLAKOVA; FILIPEC, 2007; MOREIRA; BELFORT JR, 1997). O fio de sutura escolhido mostrou-se compatível com a espessura da córnea do coelho, apresentando facilidade de manuseio e mínimo desconforto ocular.

Preconizou-se que a sutura corneana fosse efetivada no menor tempo possível, para evitar extravasamento significativo do humor aquoso e inflamação ocular grave (MOREIRA; BELFORT JR, 1997). Porém, o tempo cirúrgico demandado para confecção do ponto corneano, comparativamente ao período de aplicação do adesivo sobre a lesão, foi significativamente maior. WAISWOL (2004), afirma que normalmente as incisões de córnea auto-selantes não necessitam de sutura. No entanto, Kharod; Kim (2007), afirmam que na oftalmologia humana, muitos oftalmologistas pesquisam métodos de fechamento da incisão corneal para catarata, como medida profilática. Já Bellini; Brum (2008) sugerem a realização da hidratação estromal das bordas corneanas. Afirmando que esta técnica, além de apresentar baixo custo, é de rápida confecção e promove coaptação ideal das bordas corneanas. Porém, no caso dos animais, não é recomendável esta técnica, pois não é possível ter um controle pós-operatório satisfatório sobre as ações dos mesmos, aumentando assim os riscos de atalâmia, fazendo-se necessário a oclusão da incisão corneana como medida profilática (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; FADEL, 2004; KHAROD; KIM, 2007). Isto justifica o fato de que nenhum dos animais cuja incisão foi ocluída com fio de sutura apresentaram prolapso de íris.

Foi observado que os animais onde o fio de sutura foi usado na reparação da lesão corneana na ferida corneana apresentavam maior grau de desconforto, demonstrado através de blefarospasmo, fotofobia e prurido, classificados em leve a moderado. No primeiro dia de pós-operatório, foi observado em todos os animais presença de hiperemia conjuntival de leve a severa. Estes sinais clínicos supõem ser resultado, não só da dor decorrente da lesão da inervação corneana local (PRINCE, 1964; GELATT, 1991; NASSARALLA, 2000), mas também do desconforto proporcionado pela ponta do fio, que ficou em contato tanto com a córnea, bem como com a conjuntiva palpebral superior (MOTA et al., 2004). Corroborando com Sedlakova; Filipec (2007), que ao estudarem o efeito do fio de sutura na rejeição de transplantes xenógenos em córnea de ratos, constataram que a utilização do fio de sutura, com as pontas aparadas, provoca menor desconforto e limita o grau de irritação inespecífica, provocando assim menor índice de rejeição e indução de neovascularização. Em um animal, observou-se as pontas do fio de sutura indevidamente aparadas, levando a uma produção de secreção ocular comparativamente maior que a produção dos outros animais avaliados.

Outra indicação importante na cirurgia oftálmica é o sepultamento dos nós dos pontos corneanos, para minimizar o desconforto pós-operatório, formação de neovascularização corneana e contaminação microbiana, pois o ponto exposto é uma via direta de contaminação ao estroma corneal (SANTOS et al., 1999; SEDLAKOVA; FILIPEC, 2007). Porém, neste estudo o mesmo não foi realizado com o intuito de minimizar a manipulação corneana, não levar a alterações endoteliais significativas e evitar a ocorrência de abscesso estromal. Por sua vez, Fong et al. (1988) e Santos et al. (1999) referem a ocorrência de deposição de secreção mucosa sobre os pontos, devido ao estímulo por eles causado, nas células caliciformes da conjuntiva, sugerindo assim o sepultamento correto dos nós. Nos animais deste estudo, em que as lesões corneanas foram ocluídas com fio de sutura, foi observado depósito leve de secreção mucoide sobre os pontos. No entanto, nenhum caso de ceratite microbiana foi notificado, provavelmente porque durante todo o período de pós-operatório foi prescrito tratamento rígido de antibioticoterapia tópica, a base de colírio de tobramicina.

Outro fator relevante quanto à contaminação estromal é a remoção dos pontos corneanos. Santos et al. (1999) apontaram, dentre os fatores de risco para formação de ceratites ou mesmo endoftalmites, a remoção de pontos corneanos, ruptura precoce de pontos e a presença de pontos frouxos. Portanto, nenhum ponto corneano foi removido

durante todo estudo, não só para evitar predisposição à contaminação por microorganismos, mas também para que houvesse realização de tal procedimento os animais teriam que ser anestesiados novamente, o que poderia resultar em mortalidade, decorrente do risco anestésico existente em toda execução de procedimentos anestésicos.

Os animais que tiveram a córnea reparada com o fio de sutura apresentaram melhor coaptação das bordas da ferida, promovendo não apenas melhor cicatrização epitelial, mas redução nas áreas cicatriciais das lesões endoteliais decorrentes da incisão em córnea, mensuradas nas imagens de microscopia eletrônica de varredura.

De acordo com Kharod; Kim (2007), tradicionalmente, o nylon tem sido amplamente empregado como método fechamento de incisão corneana em cirurgia de catarata. Contudo, os adesivos biológicos têm ganhado rapidamente popularidade como substitutos dos fios de suturas para estes fins. Em vista disso, o outro objeto de estudo deste experimento abrange os adesivos biológicos, mais especificamente a Beriplast®. Em decorrência de sua alta aplicabilidade em diversos procedimentos cirúrgicos oftálmicos, a fácil disponibilidade, manuseio, quando comparado aos outros adesivos biológicos e menor desconforto pós-operatório (UY et al., 2002 *apud* UY et al., 2005), optou-se por analisar suas repercussões em relação à cicatrização endotelial. Dentre os diferentes tipos de adesivos que vêm sendo utilizados nas cirurgias oculares, dois grupos se destacam: os materiais os biológicos advindos do adesivo de fibrina (KAUFMAN et al., 2003; SZURMAN et al., 2006; HOVANESIAN; KARAGEOZIAN, 2007; KHEIRKHAH et al., 2008; OZDAMAR et al., 2008). As apresentações comerciais são inúmeras, dentre elas encontram-se o Tissel® (HOVANESIAN; KARAGEOZIAN, 2007; KHEIRKHAH et al., 2008; OZDAMAR et al., 2008), Tissucol® (MARTICORENA et al., 2006), Quixil® (BAHAR et al., 2006), Beriplast® (UY et al., 2005) e os materiais sintéticos derivados do cianoacrilato (MOTA et al., 2004; ALIÓ et al., 2004; RITTERBAND et al., 2005; CHEN et al., 2007; LAI; CHEN; HSIUE, 2007).

Na preparação do adesivo de fibrina, atentou-se por seguir corretamente as instruções do fabricante (AVENTIS BEHRING, 2003). Toda a preparação ocorreu de modo asséptico. Foi feita pelo auxiliar, enquanto o cirurgião realizava o procedimento cirúrgico. Consistia em diluir o fibrinogênio na aprotinina e a trombina na solução de cloreto de cálcio. Entre um procedimento e outro o adesivo de fibrina era mantido refrigerado, permitindo-se que os mesmos se dissolvessem durante alguns minutos

(AVENTIS BEHRING, 2003). É um método de preparo rápido e simples do adesivo, diferente principalmente do preparo do Tissucol® (INFARMED, 2005; MARTICORENA et al., 2006).

Como o recomendado, o adesivo biológico foi mantido armazenado em geladeira a 2,8 °C, até o início dos procedimentos cirúrgicos oftálmicos, para evitar invalidação do produto. Todos os passos do preparo do adesivo foram realizados de maneira asséptica de forma a evitar contaminação. Conforme mencionado por Uy et al. (2005), o adesivo de fibrina possui potencial para transmissão de doenças.

Para aplicação do adesivo na ferida corneana, secou-se com *swab* estéril a superfície corneana e utilizou-se o duploejetor, conforme sugerido pelo fabricante (INFARMED, 2005). Conforme preconizado e disponibilizado pelo fabricante, utilizou-se as cânulas incluídas no *kit*, que permitem precisão e aplicação da quantidade ideal de adesivo sobre a incisão corneana.

O tempo cirúrgico demandado para a aplicação do adesivo foi significativamente baixo, quando comparado com a realização da sutura corneana. Porém, para a total secagem do adesivo sobre a córnea foi necessário aguardar 5 minutos após aplicação do mesmo, o que torna todo o processo de selamento corneano pouco um mais delongado quando comparado ao tempo de realização do ponto na córnea.

Dentre os sinais clínicos, foi observado edema de córnea na região perincisional, presente tanto nas oclusões com sutura quanto nas com adesivo. Os maiores índices de edema de córnea observados foram nas córneas seladas com adesivo biológico. Esse advento pode ser decorrente dos defeitos endoteliais, coaptação de água e desarranjo dos padrões normais das lamelas de colágeno estromais, que podem causar edema estromal, levando à perda parcial ou completa da transparência (LANDSHMAN et al., 1988; DZIEZYC, 1990; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; NASSARALLA, 2000; RENWICK, 2003; MOTA et al., 2004; PIGATTO et al., 2006). Outra complicação observada em três animais foi a úlcera de córnea, levando à perda da transparência corneana mais acentuada.

Quanto à variação na pressão intra-ocular, Chen et al. (2007) afirmaram que a PIO máxima suportada por uma incisão de 2,5 mm em córnea de coelhos selados com adesivo de fibrina foi semelhante à das córneas ocluídas com fio de sutura. Enquanto que, as córneas seladas com N-butil cianoacrilato ou metoxipropilo cianoacrilato, demonstraram uma maior resistência ao triplo da PIO que as córneas ocluídas com adesivo de fibrina. Seguindo a sugestão de Chen et al. (2007), no presente estudo foi

realizada uma cuidadosa monitorização e controle da pressão intra-ocular, sendo este um importante fator a ser considerado quando se utiliza adesivo de fibrina e sutura no tratamento de perfurações ou outras feridas corneais. Houve decréscimo da pressão intra-ocular nos primeiros dias de pós-operatório em ambos os grupos, porém, ocorriam flutuações da PIO. Referimos esses episódios à uveíte pós-operatória. Nos olhos cujas as córneas foram reparadas com o adesivo de fibrina, a média da pressão intra-ocular encontrada foi inferior àquelas onde a reparação se deu com fio de sutura, nos três primeiros dias de pós operatório. Após cinco dias de acompanhamento da PIO, foi observado aumento crescente da mesma e ao décimo dia sua estabilização.

A secreção e hiperemia ocular estiveram presentes com menor intensidade nos animais submetidos ao selamento corneano com adesivo de fibrina. Ocorreu com maior intensidade no pós-operatório imediato, até aproximadamente ao quarto dia de acompanhamento. No entanto, alguns coelhos submetidos à oclusão corneal com fio de sutura apresentaram secreção mucosa ocular leve durante todo o período de acompanhamento do experimento. Corroborando com a assertiva de Uy et al. (2005) que afirmaram que o adesivo de fibrina, por não provocar o surgimento de uma superfície irregular, gera menos sinais e desconforto oculares, o que justifica a presença de prurido, blefarospasmo e fotofobia encontrados no curso da primeira semana de acompanhamento.

Uy et al. (2005) referiam que dentre as principais considerações a serem feitas em relação aos adesivos de fibrina, encontram-se o potencial para reações anafiláticas e para transmissão de doenças. Apesar dos mínimos efeitos bactericidas e bacteriostático dos adesivos, eles são clinicamente importantes, pois algumas perfurações e *meltings* corneanos advêm de ceratites infecciosas. Sendo assim, requerem tratamento com adesivo apropriado. Em respaldo a esta afirmativa, foi relatado o tratamento de complicações oculares infecciosas com aplicação de adesivos teciduais (CHEN et al., 2007). Porém, nenhum dos animais apresentou reações anafiláticas ou quaisquer sinais de contaminação corneana ou endoftalmite.

Diversas técnicas têm sido empregadas na análise do endotélio corneano, incluindo métodos de investigação clínica *in vivo* e os estudos *in vitro*, como a microscopia especular, que permite a avaliação endotelial das células *in vivo* sem que sejam lesadas (GWIN et al., 1982; MATSUDA et al., 1985; YEE et al., 1985; TUFT; WILLIAMS; COSTER, 1986; ABIB, 2000; ABIB; BARRETO JR, 2001; PIGATTO et al., 2006), a microscopia confocal (HARA et al., 2003; ECKARD; STAVE;

GUTHOFF, 2006) e tomografia de coerência óptica (TABAN et al. 2004; TORRES et al., 2006). Dentre os métodos de avaliação endotelial *in vitro*, destacam-se a coloração vital que, com auxílio da microscopia óptica, a coloração intercelular obtida pela técnica de vermelho de alizarina é um efetivo método para visibilização das bordas celulares (TAYLOR; HUNT, 1981; GEROSKI; EDELHAUSER, 1989; RUÍZ; MEDRANO; ALIÓ, 1991). Como outra técnica de avaliação endotelial *in vitro*, destaca-se a microscopia eletrônica de varredura, preconizada para a análise endotelial neste estudo. (RODRIGUES, 1999; COLLIN; COLLIN, 2000b; ANDREW et al., 2001; OJEDA et al., 2001; PIGATTO, 2004; PIGATTO et al., 2004; PIGATTO et al., 2005a; PIGATTO et al., 2005b; PIGATTO et al., 2009). A microscopia eletrônica de varredura mostrou-se adequada para a realização do estudo proposto, pois permitiu visibilizar a ultra-estrutura das lesões endoteliais.

A técnica de preparo de córneas para a microscopia eletrônica de varredura (MEV) envolve uma série de etapas que devem ser seguidas com rigor, atenção e minúcia. Não foram observadas, no presente estudo, alterações decorrentes do preparo das amostras para estudo à microscopia eletrônica de varredura, com exceção de uma amostra, que em decorrência da manipulação no momento do preparo, evidenciaram-se áreas de perdas celulares em sua eletromicrografia. Além disso, a coleta e o preparo das amostras foram realizadas por uma mesma equipe treinada no processamento das córneas para estudo à MEV. A técnica utilizada neste estudo foi embasada em estudos prévios de avaliação endotelial *in vitro* em diferentes espécies, com resultados satisfatórios (DOUGHTY; DILTS, 1994; DOUGHTY; BERGMANSON; BLOCKER, 1997; RODRIGUES, 1999; COLLIN; COLLIN, 2000a; COLLIN; COLLIN, 2000b; ARNDT; REESE; KOSTLIN, 2001; OJEDA et al., 2001; PIGATTO, 2004; PIGATTO et al., 2004; PIGATTO et al., 2005a; PIGATTO et al., 2005b; RODRIGUES et al., 2006; PIGATTO et al., 2009; TAMAYO-ARANGO et al., 2009). Com esta técnica de avaliação *in vitro* em aumentos entre 35 e 50 vezes foi possível visibilizar a área perincisional e aferir a região desprovida de células endoteliais. A obtenção de eletromicrografia com aumentos maiores possibilitou observar as células endoteliais e estabelecer com segurança os limites das áreas desprovidas de células. E posteriormente realizar a morfometria das áreas perincisionais do endotélio de coelhos.

Objetivou-se neste estudo avaliar o comportamento endotelial em dois tempos diferentes de cicatrização, frente a um trauma corneano. Encontrou-se diminuição da área lesionada de todas as amostras, comparativamente aos dois períodos de pós-

operatório. Corroborando com a assertiva de Hoffer e Phillipi (1978) que verificaram que o estímulo a partir do qual se inicia a reparação endotelial decorre da perda do contato entre as células.

Durante a fase inicial do processo de reparação, ocorre hipertrofia de células adjacentes, resultando em aumento do seu tamanho e diminuição da densidade endotelial (MISHIMA, 1982; PIGATTO, 2004; STUMPF; NOSÉ, 2006). Corroborando com os estudos que avaliaram a capacidade regenerativa das células endoteliais de indivíduos adultos nas espécies humana e felina, demonstrando que a reparação do endotélio corneano ocorre por hipertrofia e migração de células remanescentes (HOFFER, 1979; TREFFERS, 1982; LAING et al., 1983; LANDSHMAN et al., 1988; HUANG; NELSON; BOURNE, 1989; BOURNE et al., 1994; PIGATTO, 2004).

No experimento de Matsuda et al. (1985), valendo-se da microscopia especular, avaliaram a cicatrização endotelial após trauma mecânico no endotélio de coelhos. Concluíram que após as primeiras 3 horas da ocorrência da lesão, as células endoteliais migram sobre a ferida, caracterizadas por leves alterações em sua aparência morfológica. Após o recobrimento da área lesada, há a reorganização da camada celular que reassume o seu aspecto usual de mosaico endotelial (YEE et al., 1985; PIGATTO, 2004), justificando as alterações encontradas nas eletromicrografias das áreas perincisionais deste estudo, que sugerem a ocorrência de processo cicatricial nas amostras deste estudo, após sete dias de observação dos animais.

Mishima et al. (1982) afirmaram que o endotélio de coelhos, ao sofrer algum tipo de lesão pode sofrer dois tipos de reparações. A primeira é por migração celular e a segunda por mitose celular. Logo após a injúria, as junções intercelulares desaparecem, são visibilizadas células com formatos irregulares e com processos citoplasmáticos extensos. Quando a área desnuda é coberta por células e as mesmas entram em contato entre si, os complexos juncionais são restaurados. Afirmam ainda, que o processo de proliferação mitótica inicia-se após 24 a 48 horas da lesão endotelial. Concordando com Matsuda et al. (1985) e Yee et al. (1985) afirmaram ainda, que após 24 a 48 horas evidenciaram-se células grandes e irregulares, caracterizando figuras de mitose. Portanto, a lesão endotelial encontrava-se completamente cicatrizada. Neste estudo, as eletromicrografias revelaram que após 15 dias, houve diminuição estatisticamente significativa das médias das áreas perincisionais do endotélio em ambos os tipos de reparos estudados. Porém as médias da área da amostras ocluídas com o fio de sutura

foram consideravelmente menores que a média da área das córneas seladas com o adesivo biológico.

Mishima et al. (1982) relataram ainda que o endotélio de coelhos, depois de sofrer lesões mecânicas decorrentes de procedimento de facoemulsificação, após três meses a área lesionada encontra-se completamente restaurada, confirmando os resultados obtidos por este estudo que indicam diminuição da área lesionada após 15 dias de observação, tanto no reparo com fio de sutura quanto pelo adesivo de fibrina. Portanto, baseado nessa afirmativa supõe-se que em 90 dias a cicatrização endotelial da lesão incisional da córnea se apresentará completamente reparada. Em todas as eletromicrografias analisadas foram observadas áreas com ausência de células endoteliais adjacentes à incisão de córnea. Nesse sentido, futuras investigações científicas deverão ser realizadas para definir o tempo necessário, para regeneração completa das lesões perincisionais do endotélio de coelhos.

Neste estudo, padronizou-se o tamanho da incisão, sendo utilizado um bisturi próprio para incisões de córnea para a cirurgia de catarata. Isso proporcionou também uma melhor avaliação corneana com respeito à representação endotelial. Alguns autores afirmaram que, além das características específicas, relacionadas a cada espécie, a cicatrização endotelial é dependente, principalmente, da extensão da causa (PRINCE, 1964; YEE et al., 1985; MATSUDA et al., 1985; PIGATTO, 2004). Corroborando com a assertiva de autores que afirmam que a mitose endotelial em coelhos adultos é encontrada apenas após lesões endoteliais (MISHIMA, 1982; PRINCE, 1964; YEE et al., 1985; TUFT; WILLIAMS; COSTER, 1986). Entretanto, existe um período no processo de regeneração onde a densidade endotelial apresenta-se diminuída mesmo com o total reestabelecimento do tecido corneal (MATSUDA et al., 1985; BAHN et al., 1986; LANDSHMAN et al., 1988; LANDSHMAN; SOLOMON; BELKIN, 1989).

A quantificação das formas nas ciências biomédicas tem como metas promover as medidas e a objetividade para estabelecer o diagnóstico (TEIXEIRA et al., 2005). Na literatura não há descrição de análise morfométrica avaliando as áreas perincisionais do endotélio da córnea. Para tanto, a morfometria, que é o processo de estabelecer dimensões, foi a técnica utilizada no presente trabalho.

A morfometria computadorizada pode ser classificada como interativa ou automática, onde na morfometria interativa as medidas são mensuradas manualmente e a automática é mais rápida e com menor interação do pesquisador (UTHSCSA, 2002; TEIXEIRA et al., 2005). Neste estudo, foi realizada a morfometria computadorizada

interativa, permitindo assim maior interatividade do pesquisador com sua amostra, pois a mensuração das áreas perincisionais foram aferidas manualmente, com auxílio do computador, onde se encontrava instalado o *software* Image Tool 3.0.

A análise dos dados morfométricos foi realizada com auxílio do *software* Image Tool 3.0. Este possibilitou mensurar toda a área da lesão em μm^2 para posterior conversão em mm^2 . A quantificação morfométrica obtida foi precisa, permitindo a análise, coleta e comparação dos dados de maneira objetiva e precisa, pois este *Software* dispõe calibração fornecendo os dados das lesões endoteliais com fidedignidade (UTHSCSA, 2009).

A análise de microscopia eletrônica de varredura concomitante com a mensuração morfométrica da área da lesão endotelial permitida pelo *software* Image Tool, 3.0 revelaram áreas médias perincisionais diferentes em todos os grupos. No grupo 1, a menor média da área pertenceu as amostras ocluídas com fio de sutura, comparativamente aos selados com adesivos de fibrina. A mesma alteração foi encontrada nas amostras do grupo 2, que apresentaram uma área média de $1,187 \text{ mm}^2$ e $1,566 \text{ mm}^2$ respectivamente, sugerindo melhor vedação e estabilidade da incisão corneana, o que resultou em cicatrização endotelial, e apresentou dados estatisticamente significantes. Complementando a assertiva de Taban et al. (2004), que afirmaram que a coaptação e conseqüentemente o adequado fechamento da incisão cirúrgica são influenciadas pela morfologia de confecção da mesma, que é diretamente relacionada ao ângulo com que a lâmina do bisturi é introduzida na córnea, no momento da confecção da lesão. Portanto, não apenas o adequado posicionamento da lâmina pode influenciar no selamento da ferida, mas o fato do fio proporcionar força tênsil nas bordas corneanas mantendo-as vedadas e estabilizadas, conforme o observado por Mota et al. (2004). No entanto, o experimento por eles realizado abrangia a comparação da rafia com fio de sutura e com adesivo sintético N-butil cianoacrilato.

Valendo-se do teste t de Student, após comparação das áreas médias dos dois tipos de fechamento corneano aos 7 e aos 15 dias de pós-operatório, mostrou não haver diferença significativa entre os valores médios dos grupos analisados, pois o P-valor encontrado foi de 0,84 (adesivo de fibrina) e 0,05 (Fio de sutura), devido à grande variabilidade dos valores aferidos. No entanto, como o P-valor foi próximo do limite, sugere-se que com uma amostra maior talvez pudesse ser encontrada uma diferença significativa entre os grupos.

Comparando a área perincisional desprovida de células endoteliais seladas com adesivo de fibrina e as ocluídas com o de sutura, sem considerar o tempo de acompanhamento, pelo teste t de Student para amostras pareadas, a área média do adesivo de fibrina foi consideravelmente maior (média de 1,878 e desvio padrão de 0,638) que a do fio de sutura (média de 1,473 e desvio padrão de 0,524). Este fato pode ter ocorrido pela maior aproximação das bordas corneanas pelo fio de sutura.

No presente estudo, não foi visibilizada reparação total da área perincisional lesada em decorrência da incisão de córnea, em nenhuma eletromicrografia analisada. Tais resultados podem ser explicados pelo curto período de avaliação. Infelizmente, na literatura consultada, não foram encontrados estudos com relação ao tempo necessário para regeneração da área perincisional da córnea de coelhos utilizando a microscopia eletrônica de varredura. Esta assertiva reforça a necessidade de que novos estudos com período de observação mais longo sejam realizados.

7 CONCLUSÕES

De acordo com as condições experimentais propostas para este estudo, conclui-se que:

- ❖ Tanto o fio de sutura quanto o adesivo de fibrina podem ser utilizados para o fechamento das incisões de córnea em coelhos. Porém, quanto aos eventos clínicos, o fio de sutura promoveu melhores resultados.
- ❖ A microscopia eletrônica de varredura e a morfometria possibilitaram a avaliação da área perincisional desprovida de células endoteliais.
- ❖ Perdas celulares decorrentes da incisão de córnea foram observadas em ambos os grupos.
- ❖ A oclusão com fio de sutura suscitou menor área perincisional desprovida de células endoteliais, comparativamente ao adesivo de fibrina.
- ❖ O adesivo de fibrina não se mostrou tão eficaz quanto o fio de sutura no selamento da incisão de córnea de coelhos.

REFERÊNCIAS

ABIB, F.C. In: _____ **Microscopia especular de córnea: manual e atlas**. 1.ed. Rio de Janeiro: Rio Med. Livros, 2000, p. 140.

ABIB, F.C.; BARRETO JR, J. Behavior of corneal endothelial density over a lifetime. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.27, p.1574-1578, 2001.

ABIB, F.C.; GUIMARÃES, M.R. Princípios, Técnica e dados semiológicos da microscopia especular de Córnea. In: ABIB, F.C. **Microscopia especular de córnea: manual e atlas**. 1.ed. Rio de Janeiro: Rio Med. Livros, 2000. cap. 3, p. 19-24.

ALIÓ, J.L. et al. Evaluation of a new bioadhesive copolymer (ADAL) to seal corneal incisions. **Cornea**. v.23, n.2, p.180-189, 2004.

ALMODIN, E. Instrumental para cirurgia de catarata com pequena incisão. In: REZENDE, F. **Cirurgia da catarata**. Rio de Janeiro: Rio Cultura Médica, 2000. cap 15, p. 129-133.

ALP, B.N. et al. The effect of povidone iodine on the corneal endothelium. **Cornea**. v.19, n.4, p.546-550, 2000.

ALVES, E.A F. **Efeito da lidocaína a 1% sem preservativo sobre o endotélio corneano de coelhos: estudo comparativo pelas microscopias especular e eletrônica de varredura**. 2001. 129 f. Tese (Doutorado em Medicina) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

ALVES, M.R.; KARA-JOSE, N. Edema Corneano. In: BELFORT, R. JR E KARA-JOSÉ, N. **Córnea**. São Paulo: Roca, 1997. cap 2, p.17-25.

ANDO, E. et al. Técnicas cirúrgicas – Capsulorrexes, hidrodissecção e hidrodelineação. In: FREITAS, L.L. **Cristalino e catarata: diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Santos, 2004. cap 9. p.99-109.

ANDREW, S.E. et al. Density of corneal endothelial cells and corneal thickness in eyes of euthanized horses. **American Journal of Veterinary Research**. v.62, n.4, p.479-482, 2001.

ANDREW, S.E.; WILLIS, A.M.; ANDERSON, D.E. Density of corneal endothelial cells, corneal thickness, and corneal diameters in normal eyes of llamas and alpaca. **American Journal of Veterinary Research**. v.63, n.3, p.326-329, 2002.

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

AVENTIS BEHRING. **Beriplast P® Selante de Fibrina**. 2003. Disponível em: <http://www.cslsurgery.com/international/beriplast/product/pdf/latinamerica/pb14747_Beriplast.pdf>. Acesso em: 16 janeiro. 2009.

BAHAR, I. et al. Pterygium surgery: fibrin glue versus Vicryl sutures for conjunctival closure. **Cornea**. v.25, n.10, p.1168-1172, 2006.

BAHN, C.F. et al. Postnatal development of corneal endothelium. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.27, p. 44-511, 1986.

BARROS, P.S.M. Cirurgia de catarata no cão. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.27, n.2, p.199-208, 1990.

BASAK, S.K. Bridging the Training Gap : Converting from Sutured to Sutureless Non-Phaco Cataract Surgery. **Community Eye Health Journal**. v.17, n.52, p. 55-56, 2004.

BELLINI, L.P.; BRUM, G.S. Cataract incision closure using fibrin adhesive. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.34, n.3, p.343-344, 2008.

BERDAHL, J.P.; DESTAFENO, J.J.; KIM, T. Corneal wound architecture and integrity after phacoemulsification. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.33, n.3, p.510-515, 2007.

BINDER, P.S.; AKERS, P.; ZAVALA, E.Y. Endothelial cell density determined by specular microscopy and scanning electron microscopy. **Ophthalmology**. v.86, n.10, p.1831-1847, 1979.

BOLDY, K. L. Current status of canine cataract surgery. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery**. v.3, n.1, p.62-68, 1988.

BOTEON, J.E. Histologia do Endotélio Corneano. In: ABIB, F.C. **Microscopia Especular de Córnea: Manual e Atlas**. Rio de Janeiro: Rio Med. Livros, 2000. cap. 1, p.3-5.

BOURNE, W. M. et al. Long-term observation on morphologic and functional features of cat corneal endothelium after wounding. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.35, n.3, p.891-899, 1994.

BRANDÃO, C.V.S. et al. Espessura e densidade de células endoteliais corneanas em ovinos. **Archives of Veterinary Science**. v.11, n.1, p.16-18, 2006.

BUOSANTI, J. Técnicas cirúrgicas – Capsulorrexe, Hidrodissecção e Hidrodelineação In: FREITAS, L.L. **Cristalino e Catarata: Diagnóstico e Tratamento**. São Paulo: Santos, 2004. cap 9, p.99- 109.

CALLADINE, D.; PACKARD, R. Clear corneal incision architecture in the immediate postoperative period evaluated using optical coherence tomography. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.33, p.1429–1435, 2007.

CANAVAGH, H.D. et al. Specular microscopy, confocal microscopy, and ultrasound biomicroscopy: diagnostic tools of the past quarter century. **Cornea**. v.19, n.5, p.712-722, 2000.

CARDOSO, E.S. et al. Estudo exploratório descritivo do emprego de coelhos brancos da nova zelândia (*orytolagus cuniculus*) como modelo animal na avaliação dos padrões de crescimento craniofacial. **Revista Odonto Ciência – Fac. Odonto/PUCRS**. v.22, n.55, p.66-71, 2007.

- CHEN, W. et al. Comparison of the bacteriostatic effects, corneal cytotoxicity, and the ability to seal corneal incisions among three different tissue adhesives. **Cornea**. v.26, n.10, 2007.
- CHENG, H. et al. Precision of cell density estimates and endothelial cell loss with age. **Archives of Ophthalmology**. v.103, p.1478-1482, 1985.
- CHUNG, C.F. et al. Safety of trypan blue 1% and indocyanine green 0.5% in assisting visualization of anterior capsule during phacoemulsification in mature cataract. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.31, n.5, p.938-942, 2005.
- COLLIN, S.P.; COLLIN, H.B. A comparative study of the corneal endothelium in vertebrates. **Clinical and Experimental Optometry**. v.81, n.6, p.245-254, 1998.
- COLLIN, S.P.; COLLIN, H.B. The corneal endothelium in the Blowfish (*Torquigener pleurogramma*). **Cornea**. v.19, p.231-235, 2000a.
- COLLIN, S.P.; COLLIN, H.B. A comparative SEM study of the vertebrate corneal epithelium. **Cornea**. v.19, n.2, p.218-230, 2000b.
- COOPER, B.A. et al. Case-control study of endophthalmitis after cataract surgery comparing scleral tunnel and clear corneal wounds. **American Journal of Ophthalmology**. v.137, n.3, p.598-599, 2003.
- COREY, R. P.; OLSON, R. J. Surgical outcomes of cataract extractions performed by residents using phacoemulsification. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.24, p.66-72, 1998.
- COSAR, C.B. et al. Clear corneal wound infection after phacoemulsification. **Archives of Ophthalmology**. v.119, p.1755-1759, 2001.
- CREMA, A. Extracapsular com pequena incisão – Técnica Mininuc. In: REZENDE, F. **Cirurgia da Catarata**. Rio de Janeiro: Rio Cultura Médica, 2000. cap. 24, p.203-209.

CREMA, A.; FREITAS, L.L. Técnicas cirúrgicas – Facoemulsificação por microincisões In: FREITAS, L.L. **Cristalino e Catarata: Diagnóstico e Tratamento**. São Paulo: Santos, 2004. cap. 9, p.95-98.

DAVANGER, M.; OLSEN, E.G. A new method of determining the cell density from a corneal specular micrograph. **Acta Ophthalmologica**. v.62, n.6, p.919-922, 1984.

DAVID, F; CHANG, D.C. Trypan blue versus indocyanine green a clinical comparison of these dyes for capsular staining. **Cataract Surgery Focus On Capsular Staining**. March, 2005. Disponível em: <<http://www.crstoday.com/PDF%20Articles/0305/0305Chang.pdf>>. Acesso em: 20 dezembro. 2008.

DICK, H.B. et al. Long-term endothelial cell loss following phacoemulsification through a temporal clear corneal incision. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.22, n.1, p. 63-71, 1996.

DOUGHTY, M.J. Toward a quantitative analysis of corneal endothelial cell morphology: A review of techniques and their application. **Optometry and Vision Science**. v.66, n.9, p.626-642, 1989.

DOUGHTY M.J. Changes in cell surface primary cilia and microvilli concurrent with measurements of fluid flow across the rabbit corneal endothelium ex vivo. **Tissue and Cell**. v.30, p.634-643, 1998.

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

DOUGHTY, M.J.; DILTS, D. M. Identification of topographical variations in the sizes of cells in a monolayer--application to corneal endothelium. **Tissue and Cell**. v.26, n.4, p.621-636, 1994.

DZIEZYC, J. Cataract surgery. Current approaches. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v.20, n.3, p.737-754, 1990.

ECKARD, A.; STAVE, J.; GUTHOFF, R.F. In vivo investigations of the corneal epithelium with the confocal Rostock Laser Scanning Microscope (RLSM). **Cornea**. v.25, n.2. p.127-131, 2006.

EFEUGLU, C.; AKÇAY, Y.D.; ERTÜRK, S. A modified method for preparing platelet-rich plasma: an experimental study. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. v.62, n.11, p.1403-1407, 2004.

EIFERMAN, R.A.; SNYDER, J.W. Antibacterial effect of cyanoacrylate glue. **Archives of Ophthalmology**. v.101, p.958-960, 1983.

FADEL, P. Técnicas cirúrgicas - Incisões In: FREITAS, L.L. **Cristalino e Catarata: Diagnóstico e Tratamento**. 1.Ed. São Paulo: Santos, 2004. cap. 9, p.85-88.

FELCHLE, L.M.; SIGLER, R.L. Phacoemulsification for the management of Encephalitozoon cuniculi-induced phacoclastic uveitis in a rabbit. **Veterinary Ophthalmology**. v.5, n.3, p.211-215, 2002.

FERREIRA, C.F. et al. Ensinando a técnicas de facoemulsificação In: FREITAS, L.L. **Cristalino e Catarata: Diagnóstico e Tratamento**. 1 ed. São Paulo: Santos, 2004. cap. 6, p.41-46.

FONG, L.P. et al. Microbial keratitis complicating penetrating keratoplasty. **Ophthalmology**. v.95, p.1268-1275, 1988.

FRANZEN, A.A. **Morfologia e morfometria do endotélio corneal de gatos (*Felis catus* – Linnaeus, 1758) de diferentes idades a microscopia especular**. 2007. 58 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária área de Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

GARG, P. et al. Fungal infection of sutureless self-sealing incision for cataract surgery. **Ophthalmology**. v.110, n.11, p.2173-2177, 2003.

GELATT, K.N. Canine Corneas. In: _____ **Veterinary Ophthalmology**. 2 ed. Pennsylvania: LeaandFebiger, 1991. p.765.

- GELATT, K.N.; GELATT, J.P. Surgical procedures of the lens of cataract In: _____ **Small Animal Ophthalmic Surgery**. 1. Ed. Edinburgh: Butterworth-Heinemann, 2001. p.286-335.
- GEROSKI, D.H.; EDELHAUSER, H.F.; Morphometric analysis of the corneal endothelium. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.30, n.2, p.245-259, 1989.
- GILGER, B.C. Phacoemulsification. Technology and fundamentals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v.27, n.5, p.1131-1134, 1997.
- GIMENO, L.F. et al. Preparation of platelet-rich plasma as a tissue adhesive for experimental transplantation in rabbits. **Thrombosis Journal**. v.4, n.18, p.00 2006.
- GLOVER, T.D.; CONSTANTINESCU, G.M. Surgery for cataracts. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v.27, n.5, p.1143-1173, 1997.
- GONÇALVES, F.P.; RODRIGUES, A.C.L. Facoemulsificação por córnea clara no meridiano mais curvo. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**. v.70, n.2, p.225-228, 2007.
- GWIN, R.M. et al. Decrease in canine corneal endothelial cell density and increase in corneal thickness as function of age. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.22, n.2, p.267-271, 1982.
- HARA, M. et al. Comparison of confocal biomicroscopy and noncontact specular microscopy for evaluation of the corneal endothelium. **Cornea**. v.22, n.6, p.512-515, 2003.
- HARDMAN, C.; MCILNAY, T.R.; DUGAN, S.J. Phacofragmentation for morgagnian cataract in a horse. **Veterinary Ophthalmology**. v.4, n.3, p.221-225, 2001.
- HENRICK, A. et al. Organic tissue glue in the closure of cataract incisions in rabbit eye. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.17, n.5, p.551-555, 1991.

HOFFER, K.J. Corneal decomposition after corneal endothelium cell count. **American Journal of Ophthalmology**. v.87, n.2, p.252-253, 1979.

HOFFER, K. J.; PHILLIPI, G. W. A cell membrane theory of endothelial repair and vertical cell loss after cataract surgery. **American Intra-Ocular Implant Society Journal**. v.4, n.1, p.18-23, 1978.

HOFFMAN, L.R. et al. Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm Formation. **Nature Publishing Group**. v.436, n.25, 2005.

HOLLEY, G.P. et al. Effect of indocyanine green intraocular stain on human and rabbit corneal endothelial structure and viability*¹ An in vitro study. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.28, n.6, p.1027-1033, 2002.

HOLST, A. et al. Formation of free radicals during phacoemulsification. **Current Eye Research**. v.12, p.359–365, 1993.

HONSHO, C.S. et al. Modified extracapsular extraction versus endocapsular phacoemulsification: intraoperative and immediate postoperative events. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.59, n.1, p.105-113, 2007.

HOVANESIAN, J.A.; KARAGEOZIAN, V.H. Watertight cataract incision closure using fibrin tissue adhesive. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.33, p.1461–1463, 2007.

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

ICHIJIMA, H. et al. In vivo confocal microscopic studies of endothelial wound healing in rabbit cornea. **Cornea**. v.12, n.5, p.369-378, 1993.

IMAGE J. **Image processing and analysis in Java (Image J)**. 2004. Disponível em: <<http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html>>. Acesso em: 06 fevereiro, 2009.

INFARMED, **Tissucol Kit cola de fibrina com dois componentes, tratado com vapor**. 2005. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=31428&tipo_doc=fi>. Acesso em: 15 Janeiro. 2009.

JAIN, V. et al. Sutureless wound infection by unusual acid-fast organisms. **Cornea**. v.27, n.5, p.615–618, 2008.

JALBERT, I. et al. In vivo confocal microscopy of the human cornea. **British Journal of Ophthalmology**. v.87, n.2, p.225-236, 2003.

JIANG, J. et al. Comparison of fibrin sealant and sutures for conjunctival autograft fixation in pterygium surgery: one-year follow-up. **Ophthalmologica**. v.222, p.105-111, 2008.

JOHAR, S.R.K. et al. Histomorphological and immunofluorescence evaluation of bimanual and coaxial phacoemulsification incisions in rabbits. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.34, n.4, p.670-676, 2008.

JOHNSTON, M.C. et al. Origins of avian ocular and periocular tissues. **Experimental Eye Research**. v.29, n.1, p.27-43, 1979.

JR-JOSÉ, N.K. et al. Técnicas cirúrgicas – Emulsificação In: FREITAS, L.L. **Cristalino e Catarata: Diagnóstico e Tratamento**. São Paulo: Santos, 2004. cap. 9, p.121- 136.

KAUFMAN, H.E. et al. Human fibrin tissue adhesive for sutureless lamellar keratoplasty and scleral patch adhesion -A pilot study. **Ophthalmology**. v.110, n.11, p.2168–2172, 2003.

KHAROD, B.V.; KIM, T. Tissue Adhesives for Wound Closure in Cataract Surgery Glue can effectively seal the cataract incision, and several new compounds may prove superior options to the currently available products. **Cataract and Refractive Surgery Today**. 2007. Disponível em: <http://www.crstoday.com/PDF%20Articles/0607/CRST0607_13.php>. Acesso em: 28 janeiro. 2009.

KHEIRKHAH, A. et al. Role of conjunctival inflammation in surgical outcome after amniotic membrane transplantation with or without fibrin glue for pterygium. **Cornea**. v.27, n.1, p.56-63, 2008.

KIM, J.C. et al. Evaluation of tissue adhesives in closure of scleral tunnel incisions. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.21, n.3, p.320-325, 1995.

KLAIS, C. M.C.; BÜHREN, J.; KOHNEN, T. Comparison of endothelial cell count using confocal and contact specular microscopy. **Ophthalmologica**. v.217, n.2, p.99-103, 2003.

KONGSAP, P. Manual Sutureless Cataract Surgery with Foldable Intraocular Lens Using the Kongsap Technique: The Results of 95 Cases. **Journal of the Medical Association of Thailand**. v.90, n.8, p.1627-1632, 2007.

KRAM, H.B. et al. Antibacterial effects of fibrin glue-antibiotic mixtures. **Journal of Surgical Research**. v.50, n.2, p.175-178, 1991.

LAI, J.Y.; CHEN, K.H.; HSIUE, G.H. Tissue-engineered human corneal endothelial cell sheet transplantation in a rabbit model using functional biomaterials. **Transplantation**. v.84, n.10, p.1222-1232, 2007.

LAING, R.A. et al. Changes in the corneal endothelium as a function of age. **Experimental Eye Research**. v.22, n.1, p.587-594, 1976.

LAING, R.A. et al. Coalescence of endothelial cells in the traumatized cornea. II. Clinical observations. **Archives of Ophthalmology**. v.101, n.11, p.1712-1715, 1983.

LAING, R.A.; SANDSTROM, M.M.; LEIBOWITZ, H.M. Clinical Specular Microscopy. **Archives of Ophthalmology**. v. 97, n.9, p.1714-1719, 1979.

LAKE, J.C. Aparelhos – ultra-som In: FREITAS, L.L. **Cristalino e Catarata: Diagnóstico e Tratamento**. São Paulo: Santos, 2004. cap. 8, p. 67-69.

LANDSHMAN, N. et al. Relationship between morphology and functional ability of regenerated corneal endothelium. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.29, p.1100-1109, 1988.

LANDSHMAN, N.; SOLOMON A.; BELKIN M. Cell division in the healing of the corneal endothelium of cats. **Archives of Ophthalmology**. v.107, n.12, p.1804-1808, 1989.

LEHMAN, R.A.; WEST, R.L.; LEONARD, F. Toxicity of alkyl 2-cyanoacrylates. II. Bacterial growth. **Archives of Surgery**. v.93, n.3, p.447-450, 1966.

LEONARDI, A. et al. In Vitro Effects of Fluoroquinolone and Aminoglycoside Antibiotics on Human Keratocytes. **Cornea**. v.25, n.1, p.85-90, 2006.

LI, L. et al. A laboratory model for microkeratome-assisted posterior lamellar keratoplasty utilizing a running graft suture and a sutureless hinged flap. **Cornea**. v.21, n.2, p.192-195, 2002.

LING, T.L.; VANNAS, A.; HOLDEN, B.A. Long-term changes in corneal endothelial morphology following wounding in the cat. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.29, n.9, p.1407-1412, 1988.

MACCALLUM, D.K. et al. Evidence for corneal endothelial cell hypertrophy during postnatal growth of the cat cornea. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.24, p.247-250, 1983.

MANDELL, K.J. et al. Antibody Blockade of Junctional Adhesion Molecule-A in Rabbit Corneal Endothelial Tight Junctions Produces Corneal Swelling. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.47, n.6, p.2408-2416, 2006.

MARINHO, D.R. **Tratamento de deficiência límbica com transplante autólogo de limbo isolado ou em associação ao enxerto de membrana amniótica em coelhos**. 2002. 78 f. Tese (Doutorado em Medicina área de Clínica Médica em Oftalmologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo. 2002.

MARTICORENA, J. et al. Pterygium surgery: conjunctival autograft using a fibrin adhesive. **Cornea**. v.25, n.1, p.34-36, 2006.

MARTINES, E. Tipos de incisões. In: REZENDE, F. **Cirurgia da Catarata**. Rio de Janeiro: Rio Cultura Médica, 2000. cap. 16, p. 136-140.

MARTINO, D.S.D.; CASANOVA, F.; ROCHA, F.J. Técnica cirúrgica –Irrigação e aspiração. In: FREITAS, L.L. **Cristalino e Catarata: Diagnóstico e Tratamento**. São Paulo: Santos, 2004. cap. 6, p.143-145.

MATSUDA, M. et al. Cellular migration and morphology in corneal endothelial wound repair. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.26, n.4, p.443-449, 1985.

MAY, W. et al. Analysis of clear corneal incision integrity in an ex vivo model. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.34, n.6, p.1013-1018, 2008.

MCDONNELL, P. J. et al. Dynamic Morphology of Clear Corneal Cataract Incisions. **Ophthalmology**. v.110, p.2342-2348, 2003.

MEANS, T.L. et al. Viability of human corneal endothelium following optisol-GS storage. **Archives of Ophthalmology**. v.113, n.6, p.805-809, 1995.

MESKIN, S. W. et al. Liquid Bandage (2-Octyl Cyanoacrylate) as a Temporary Wound Barrier in Clear Corneal Cataract Surgery. **Ophthalmology**. v.112, n.11, p.2015-2021, 2005.

MILLER, T.R. et al. Phacofragmentation and aspiration for cataract extraction in dogs: 107 56 cases (1980-1984). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.190, n.12, p.1577-1580, 1987.

MISHIMA, S. Clinical investigations on the corneal endothelium. **American Journal of Ophthalmology**. v.93, n.1, p.1-29, 1982.

MÓDIS, L.J.R.; LANGENBUCHER, A.; SEITZ, B. Corneal Endothelial cell Density and Pachymetry measured by contact and noncontact specular microscopy. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.28, p.1763-1769, 2002.

MONTENEGRO, L.; REZENDE, F. Transição extracapsular vesus facoemulscificação In: REZENDE, F. **Cirurgia de catarata**. 2 ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2002. cap. 21, p. 175-186.

MOREIRA, H.; BELFORT JR. Sutura de córnea. In: BELFORT JR E KARA- JOSÉ, **Córnea: Clínica – Cirúrgica**. São Paulo: Roca, 1997. cap. 45, p.471-481.

MOTA, F.C. et al. Use of the n-butyl cyanoacrylate adhesive and the polyglactine thread suture for corneal rhapsy in rabbit (*Oryctolagus cunicullus*). **The Journal of Veterinary Science**. v.5, n.3, p.267-270, 2004.

NASISSE, N. P. et al. Phacoemulsification and intraocular lens implantation: A study of technique in 182 dogs. **Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology**. v.1, n.4, p.232-252, 1991.

NASSARALLA, B.A. Fisiologia do endotélio corneano. In: ABIB, F.C. **Microscopia Especular de Córnea: Manual e Atlas**. Rio de Janeiro: Rio Med. Livros, 2000. cap. 2, p.7-17.

NEVES, R.A.; BELFORT JR. R. Topografia corneana. In: BELFORT JR. R.; JOSÉ, N.K. **Córnea: Clínica-cirúrgica**. São Paulo: Roca, 1997. cap. 10, p.105-116.

OJEDA, J.L. et al. The three-dimensional microanatomy of the rabbit and human cornea. A chemical and mechanical microdissection-SEM approach. **Journal of Anatomy**. v.199, n.5, p.567-576, 2001.

OLIVEIRA, A.; REZENDE, F. Instrumental para extracapsular. In: REZENDE, F. **Cirurgia da Catarata**. Rio de Janeiro: Rio Cultura Médica, 2000. cap. 10, p. 81-85.

OLSEN, E.G.; DAVANGER, M. The healing of rabbit corneal endothelium. **Acta Ophthalmologica. (Copenh)**. v.62, n.5, p.796-807, 1984.

OMRIX, Biopharmaceuticals Ltda. **Quixil™ Human Surgical Sealant Kit 1,2,5 ml**. 2003. Disponível em: <<http://www.health.gov.il/units/pharmacy/trufot/alonim/480.pdf>>. Acesso em: 15 Janeiro. 2009.

OZDAMAR, Y. et al. A comparative study of tissue glue and vicryl suture for closing limbal-conjunctival autografts and histologic evaluation after pterygium excision. **Cornea**. v.27, n.5, p.552-558, 2008.

ÖZGENCIL, F.E. The Results of Phacofragmentation and Aspiration Surgery for Cataract Extraction in Dogs. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**. v.29, n.1, p.165-173, 2005.

PFISTER, R.R.; SOMMERS, C.I. Fibrin Sealant in Corneal Stem Cell Transplantation. **Cornea**. v.24, n.5, p.593-598, 2005.

PIGATTO J.A.T. **Extração extra capsular do cristalino, comparativamente à facoemulsificação, com enfoque nas repercussões endoteliais corneanas em cães (*Canis familiaris* - Linnaeus, 1758)**. 2004, 112 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária área de Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

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.

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, 2005a.

PIGATTO, J. A. T. et al. Corneal endothelium of the magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) by scanning electron microscopy. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v.36, n.4, p.702-705, 2005b.

PIGATTO, J.A.T. et al. Density of corneal endothelial cells in eyes of dogs using specular microscopy. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**. v.43, n.4, p.476-480, 2006.

PIGATTO, J.A.T. et al. Avanços e benefícios da facoemulsificação. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.35 (Supl 2), p.248-249, 2007.

PIGATTO, J.A.T. et al. Morphological analysis of the corneal endothelium in eyes of dogs using specular microscopy. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.28, n.9, p.427-430, 2008.

PIGATTO, J.A.T. et al. Scanning electron microscopy of the corneal endothelium of ostrich. **Ciência Rural**. v.39, n.3, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782009005000001&lng=en&ndrm=iso>. Acesso: 30 janeiro. 2009.

PILLAI, C. T. et al. Evaluation of corneal endothelium and keratic precipitates by specular microscopy in anterior uveitis. **British Journal of Ophthalmology**. v.84, n.12, p.1367-1371, 2000.

POLACK, F.M.; SUGAR, A. The phacoemulsification procedure. II. Corneal Endothelial changes. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.15, p.458-469, 1976.

POWER, W.J.; NEVES, R.A. Anatomia e Fisiologia da Córnea. In: BELFORT JR E KARA- JOSÉ. **Cornea**. São Paulo: Roca, 1997. cap. 1, p.3-15.

PRASAD, S. Phacoemulsification learning curve: Experience of two junior trainee ophthalmologists. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.24, n.1, p.73-77, 1998.

PRINCE, J.H.; DIESEN, C.D.; EGLITIS, I. The Rabbit. In: PRINCE, J.H.; EGLITIS, I. **Anatomy and histology of the eye and orbit in domestic animals**. Springfield: Charles Thomas, 1960. p.260-301.

PRINCE, J.H. Cornea Trabecular Region, and Sclera. In: PRINCE, J.H. **The Rabbit in Eye Research**. Cap 6. Ed Charles C Thomas, Publisher, Illinois USA. p. 86-139, 1964.

PRIOLLI, D.G. et al. Quantificação do edema por morfometria computadorizada como parâmetro de avaliação da resistência da anastomose cólica. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v.18, n.5. p.398-406, 2003.

RAO, G. et al. Cell size-shape relationships in corneal endothelium. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.22, n.2, p.271-274, 1982.

RENWICK, P. Complications of canine phacoemulsification. In: International Society of Veterinary Ophthalmology, 2003, Cambridge. **Proceedings...** Cambridge, 2003. p. 46-54.

REYES, J.M.G. et al. A Modified Chondroitin Sulfate Aldehyde Adhesive for Sealing Corneal Incisions. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.46, n.4, p.1247-1250, 2005.

RITTERBAND, D.C. et al. Laboratory model of tissue adhesive (2-octyl cyanoacrylate) in sealing clear corneal cataract wounds. **American Journal of Ophthalmology**. v.140, n.6, p.1039-43, 2005.

RODRIGUES, G.N. **Morfologia das células endoteliais de córneas de cães (*Canis familiaris* – LINNAEUS, 1758) em diferentes faixas etárias**. 1999, 67 f, Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.

RODRIGUES, G.N. et al. Corneal endothelial cell morphology of normal dogs in different ages. **Veterinary Ophthalmology**. v.9, n.2, p.101-107, 2006.

ROOKS, R. L. et al. Extracapsular cataract extraction: An analysis of 240 operations in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.187, n.10, p.1013-1015, 1985.

RUÍZ, J.M.; MEDRANO, M.; ALIÓ, J.L. An improved method of vital staining of the corneal endothelium. **Ophthalmic Research**. v.23, n.1, p.27-30, 1991.

SANTOS, N.C. et al. Ceratite infecciosa pós-transplante de córnea. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**. v.62, n.1, p.48-53, 1999.

SCHMEISSNER, H. Propriedades físico-químicas dos cianoacrilatos. **Revista Alemã de Odontologia**. v.25, n.9, p.907-913, 1970. (Separata).

SCHURTTEN, W.H.; VAN HORN, D.L. Corneal endothelial cell shrinkage after critical point drying. **Annals of Ophthalmology**. v.12, n.10, p.1165-1167, 1980.

SEDLAKOVA , K.; FILIPEC, M. Effect of suturing technique on corneal xenograft survival. **Cornea**. v.26, n.9, p.1111-1114, 2007.

SHARMA, A. et al. Fibrin glue versus N-butyl-2-cyanoacrylate in corneal perforations. **Ophthalmology**. v.110, n.2, p.291-298, 2003.

SILVERSTEIN, A.M.; KHODADOUST, A.A.; PRENDERGAST, R.A. Desquamation of endothelial cells. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.22, n.3, p.351-358, 1982.

SINGER, J.A. Frown incision for minimizing induced astigmatism after small incision cataract surgery with rigid optic intraocular lens implantation. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.17, p.677-688, 1991.

SINTLER, M.P. et al. Randomized trial comparing Quixil surgical sealant with Kaltostat hemostatic dressing to control suture line bleeding after carotid endarterectomy with ePTFE patch reconstruction. **World Journal of Surgery**. v.29, n.10, p.1259-1262, 2005.

SLATTER, D. Lens. In: _____. **Fundamentals of veterinary ophthalmology**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1990. p.365-393.

SLATTER, D. Córnea e Esclera. In: _____. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. 3 ed. São Paulo: Roca, 2005. cap. 11, p. 283-338.

SOUZA, E.V.; RODRIGUES, M.L.V.; SOUZA, N.V. História da cirurgia da catarata **Medicina, Ribeirão Preto**. v.39, n.4, p 587-590, 2006.

SOUZA, M.S.B. **Estudo comparativo entre a ceratoplastia lamelar em cães utilizando membranas amniótica e alantoamniótica alógenas preservadas em glicerina: avaliação clínica e morfológica**. 2003. 162 f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SPERLING, S. Combined staining of corneal endothelium by alizarine red and trypane blue **Acta Ophthalmologica. (Copenh)**. v.55, n.4, p.573-580, 1977.

STORR-PAULSEN, A. et al. The influence of viscoelastic substances on the corneal endothelial cell population during cataract surgery: a prospective study of cohesive and dispersive viscoelastics. **Acta Ophthalmologica Scandinavica**. v.85, n.2, p.183-187, 2007.

STUMPF, S.; NOSÉ, W. Estudo do endotélio corneano em cirurgias de cataratas duras: extração extracapsular planejada da catarata e Facoemulsificação. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**. v.69, n.4, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27492006000400007&script=sci_arttext&lng=pt>, Acesso: 28 janeiro. 2009.

SVEDBERGH, B.; BILL, A. Scanning electron microscopic studies of the corneal endothelium in man and monkeys. **Acta Ophthalmologica. (Copenh)**. v.50, n.3, p.321-336, 1972.

SZURMAN, P. et al. Sutureless Amniotic Membrane Fixation Using Fibrin Glue for Ocular Surface Reconstruction in a Rabbit Model. **Cornea**. v.25, n.4, p.460-466, 2006.

TABAN, M. et al. Dynamic morphology of sutureless cataract wounds-effect of incision angle and location. **Survey of Ophthalmology**. v.49, n.33, p.62-72, 2004.

TAKAOKA, M. et al. Sutureless amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction with a chemically defined bioadhesive. **Biomaterials**. v.29, n.19, p.2923-2931, 2008.

TAMAYO-ARANGO, L.J. et al. Ultrastructural morphology and morphometry of the normal corneal endothelium of adult crossbred pig. **Ciência Rural**. v.39, n.1, p.117-122, 2009.

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.

TAYLOR, M.J.; HUNT, C.J. Dual staining of corneal endothelium with trypan blue and alizarin red S: importance of PH for the dye – lake reaction. **British Journal of Ophthalmology**. v.65, n.12, p.815-819, 1981.

TEIXEIRA, A.L. **Estudo comparativo do estresse oxidativo após facoemulsificação experimental com e sem implante de lentes intra-oculares em cães**. Julho, 2003, 135 f, Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

TEIXEIRA, V.P.A. et al. **Técnicas de morfometria. Princípios básicos e aplicações da morfometria**. 2005.

<<http://www.uftm.edu.br/instpub/fmtm/patge/morfometria01.htm>>. Acesso em: 06 fevereiro. 2009.

TERRY, M.A.; OUSLEY, P.J. Replancing the endothelium without corneal surface incisions or sutures: the first United States clinical series using the deep lamellar endothelial keratoplasty procedure. **Ophthalmology**. v.110, n.4, p.755-764, 2003.

TORRES, L. et al. In vivo architectural analysis of 3.2 mm clear corneal incisions for phacoemulsification using optical coherence tomography. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.32, n.11, p.1820-1826, 2006.

TREFFERS, W.F. Human corneal endothelial wound repair. In vitro and in vivo. **Ophthalmology**. v.6, n.89, p.605-615, 1982.

TUFT, S.J.; COSTER, D.J. The corneal endothelium. **Eye**. v.4, p.389-424, 1990.

TUFT, S.J.; WILLIAMS, K.A.; COSTER, D.J. Endothelial repair in the rat cornea. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.27, n.8, p.1199-1204, 1986.

UTHSCSA **Image Tool Version 3.0**. 2002. Disponível em:
<<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>>. Acesso: 24 janeiro. 2009.

UY, H.S. et al. Comparison of fibrin glue and sutures for attaching conjunctival autografts after pterygium excision. **Ophthalmology**. v.112, n.4, p.667-671, 2005.

WAISWOL, M. Técnicas cirúrgicas - Incisões In: FREITAS, L.L. **Cristalino e Catarata: Diagnóstico e Tratamento**. São Paulo: Santos, 2004. cap. 9, p.83-85.

WALKOW, T.; ANDERS, N.; KLEBE, S. Endothelial cell loss after phacoemulsification: relation to preoperative and intraoperative parameters. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. v.26, n.5, p.727-732, 2000.

WARING, G.O. et al. The corneal endothelium. Normal and pathologic structure and function. **Ophthalmology**. v.89, n.6, p.531-590, 1982.

WARREN, C. Phaco chop technique for cataract surgery in the dog. **Veterinary Ophthalmology**. v.7, n.5, p.348-351, 2004.

WHITLEY, R.D. et al. Cataract removal in dogs: the surgical techniques. **Veterinary Medicine**. v.88, n.9, p.859-866, 1993.

WILLIAMS, D. L.; BOYDELL, I. P.; LONG, R. D. Current concepts in the management of canine cataract: a survey of techniques used by surgeons in Britain, Europe and USA and a review of recent literature. **Veterinary Record**. v.138, n.15, p.347-353, 1996.

WILKIE, D.A.; WILLIS, A.W. Viscoelastic materials in veterinary ophthalmology. **Veterinary Ophthalmology**. v.2, n.3, p.147-153, 1999.

YEE, R.W. et al. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. **Current Eye Research**. v.4, n.6, p.671-678, 1985.

YEE, R.W.; EDELHAUSER, H.F.; STERN, M.E. Specular microscopy of vertebrate corneal endothelium: a comparative study. **Experimental Eye Research**. v.44, n.55, p.703-714, 1987.

YUNLIANG, S. et al. Corneal Endothelial Cell Density and Morphology in Healthy Chinese Eyes. **Clinical Science Cornea**. v.26, n.2, p.130-132, 2007.