

Queratoplastia Lamelar Homóloga en caninos: informe preliminar.

Guaimás Moya, Luz E. - Pippi, Ney L. - López, José E. - Lockett, Mariel B. - Resoagli, Juan M.
Ludueño, Silvia F. - Merlo, Winnie A. - Vera, Gustavo - Colque Puppi, Sergio F. - López Ramos, Mayra

Cátedra de Técnica Quirúrgica y Anatomía Topográfica - Facultad de Cs. Veterinarias - UNNE.

Sargento Cabral 2139 - (3400) Corrientes - Argentina.

Tel./Fax: +54 (03783) 425753 / 420854

E-mail: tecquir@vet.unne.edu.ar

ANTECEDENTES

La córnea constituye la porción anterior de la envoltura ocular y es la estructura avascular y transparente que debe atravesar la luz en su camino hacia la retina, es la que proporciona al ojo su mayor poder de refracción. Para poder realizar esta función específica en la óptica ocular, la córnea debe reunir los dos puntos fundamentales que son: transparencia y lisura de su superficie. La córnea representa una importante barrera ocular contra los agentes extraños. Presenta un espesor variable entre la porción central y la periférica, también es variable de acuerdo a la especie animal, por ejemplo en caninos es levemente más gruesa en la porción central (0,9 mm) (SLATTER, 1990).

La incidencia de la enfermedad corneal es elevada en los caninos y constituyen un importante grupo de patologías oftálmicas en Medicina Veterinaria, pudiendo provocar opacidad y deformaciones que pueden comprometer la visión y, dependiendo de la gravedad, conducir a una ceguera absoluta. (ANDRADE & LAUS, 1998). Según WILKIE & WHITTAKER (1997), las enfermedades corneales son comunes en caninos y felinos y pueden ser primarias o secundarias a otras enfermedades sistémicas u oftálmicas, pudiendo resultar en opacificación, vascularización, pigmentación, dolor, ulceración o perforación.

En Oftalmología Veterinaria las úlceras corneales profundas, descemetocel y las perforaciones inminentes o existentes, han sido tratadas por varios métodos. La queratoplastia en Medicina Humana, tanto lamelar como penetrante, ya se consagró por su uso y no es más considerada una cirugía complicada. En Medicina Veterinaria es reducido el número de procedimientos de esa naturaleza y la técnica más usada es la queratoplastia lamelar para correcciones de úlceras profundas y descemetocel. La limitación principal de su uso es la ocurrencia de rechazo (WHITLEY, 1991).

Uno de los principales problemas que existen actualmente con relación al trasplante corneal es referente a su conservación. MARCON *et al.* (1997), enumeran los métodos de conservación a corto, medio y a largo plazo, que son de alto costo y exigen material y personal especializado, hasta el momento inviables en Medicina Veterinaria.

La glicerina ha sido usada hace algunos años como método de conservación de membranas biológicas, inclusive para uso corneal. A manera de ejemplo, podemos citar el pericardio de equino (BARROS *et al.*, 1995), escama de sardina (LAUS, 1996), membrana amniótica (LEE & TSENG, 1997; SHIMAZAKI *et al.*, 1997), cápsula renal de conejo (EURIDES *et al.*, 1998), cápsula renal de equino (LAUS *et al.*, 1999). La córnea conservada en glicerina, ya fue utilizada en estudios anteriores por KING Jr. (1957) y SHANKAR *et al.* (1960), realizando una secuencia de conservación diferente a la propuesta en este experimento.

En Oftalmología Veterinaria las úlceras corneales profundas, descemetocel y las perforaciones inminentes o existentes, han sido tratadas por varios métodos. Entre ellos podemos citar algunas técnicas como los "flaps" tarsoconjuntivales y de tercer párpado (SLATTER, 1990; WHITLEY, 1991; SEVERIN, 1996), transposición laminar corneo-escleral (PARSHALL Jr, 1973), "flaps" o injertos pediculados de conjuntiva (LAUS *et al.*, 1996; MORALES *et al.*, 1996), lentes de contacto (WILLIAMS, 1991), injertos conjuntivales libres (KUHN, 1979), aplicación de cianocrilato, queratoplastias laminares y penetrantes con córneas frescas (BERNIS, 1980; McLAUGHLIN, 1985; LAUS *et al.*, 1996) o conservadas (HACKER, 1991). Además de estos, varios estudios experimentales han sido realizados con el uso de membranas biológicas como el Biofill (PIPPY & SAMPAIO, 1990), colágeno (LAUS *et al.*, 1993), pericardio de equino (BARROS *et al.*, 1995), escama de sardina (LAUS, 1996), membrana amniótica (LEE & TSENG, 1997; SHIMAZAKI, *et al.*, 1997), cápsula renal de conejo (EURIDES *et al.*, 1998) y cápsula renal de equino (LAUS *et al.*, 1999).

En este proyecto se propone avanzar en los conocimientos de las observaciones clínicas e histopatológicas de las córneas sometidas a queratoplastia laminar homóloga, utilizando córneas conservadas en solución de glicerina al 98% y córneas a fresco, para indicar el uso de uno u otro método relacionando sus ventajas y desventajas.

MATERIALES Y METODOS

Colecta y modelo animal

Se colectaron córneas caninas del Sector de Patología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Nordeste, de animales que no fueron portadores de enfermedades infecto-contagiosas. Las córneas se colectaron de espesor completo a través de una incisión en el limbo, lavadas con solución fisiológica estéril e inmersas en glicerina al 98%.

Se utilizaron 4 caninos de raza indefinida, de ambos sexos, con peso entre 5 e 15 kg, provenientes del Corralón de la Municipalidad de la provincia de Corrientes, que fueron separados en dos grupos (A y B) de igual número. En los dos caninos del Grupo A se utilizaron córneas conservadas y en los dos caninos del Grupo B, córneas a fresco. Estos caninos fueron observados por un período de treinta (30) días y al finalizar este tiempo se realizó la colecta de muestras que incluían córnea receptora y porción del injerto.

Los animales de ambos grupos pasaron por un periodo de adaptación de 15 días. En este periodo se realizó la desparasitación con Pamoato de Pirantel, Praziquantel y Febantel y fueron sometidos a un examen clínico y oftalmológico completo.

Procedimientos prequirúrgicos

El área peri ocular derecha de cada animal fue rasurada, previamente a la inducción anestésica. Se premedicaron con maleato de acepromazina en dosis de 0,1 mg/kg de peso vivo y clorhidrato de fentanilo en dosis de 0,005 mg/kg de peso vivo por vía intramuscular (IM). Se realizó una venopuntura para la administración de solución de Ringer Lactato en dosis de 10 ml/kg/h, durante todo el procedimiento quirúrgico. Los animales fueron inducidos con thiopental sódico en dosis de 12,5 mg/kg de peso vivo, vía intravenosa (IV). Inmediatamente los animales se sometieron a la intubación endotraqueal y mantenidos a través de vaporización de halotano con oxígeno en sistema semi-cerrado.

Procedimientos quirúrgicos

Grupo A (2 caninos)

Los animales fueron posicionados en la mesa quirúrgica para que la cirugía sea efectuada en el ojo derecho. La cabeza se apoyó sobre un plano inclinado, elevando la porción oral de la misma con el objeto de lograr la horizontalidad del globo ocular. La antisepsia del globo ocular a ser operado se realizó con solución fisiológica estéril y solución de yodo polivinil pirrolidona al 1%. El procedimiento quirúrgico comenzó en los animales del grupo A, de modo de colectar la porción de córnea que posteriormente fue utilizado como el injerto fresco en los animales del grupo B.

Antes de comenzar el procedimiento quirúrgico, la córnea conservada en glicerina 98% se colocó en un recipiente estéril con solución fisiológica estéril para su hidratación y posterior uso en el canino del grupo B. Seguidamente se realizó el procedimiento quirúrgico en el canino del grupo A, colocando un blefarostato de Castroviejo, seguido de fijación del globo ocular con puntos de reparo en la fáschia bulbar, en las posiciones de 6, 9 y 12 horas, con hilo mononylon No. 5-0. En la secuencia se aplicó en la córnea un trépano de Castroviejo de 5 mm de diámetro a una profundidad media de 0,5 mm y una vez retirado el trépano, la córnea se disecó con bisturí N^o. 15 preparando de forma simultánea el injerto lamelar, que fue mantenido en solución fisiológica estéril, y el lecho receptor. La córnea preservada en glicerina, previamente hidratada en solución fisiológica estéril por 15 minutos, se preparó por medio de la fijación de sus polos sobre una gasa, trepanada con el mismo trépano y disecada con bisturí N^o. 15. El injerto se colocó sobre el lecho receptor de un canino del Grupo A, fijado con dos puntos de reparo, con hilo de mononylon 8-0 en las posiciones 6 e 12 horas. Inmediatamente se realizó una sutura continua simple en padrón angulado simétrico con el mismo hilo. Finalmente, los puntos de reparo de la córnea fueron retirados y el globo ocular liberado de su fijación, fue lavado con solución fisiológica estéril.

Grupo B (2 caninos)

El procedimiento quirúrgico fue repetido de igual manera que en el grupo A, utilizando la córnea fresca mantenida en solución fisiológica estéril.

En el postoperatorio se usó gentamicina (colirio) cuatro veces al día, colirio de atropina 1% dos veces por día, y lavado con solución de yodo polivinil pirrolidona a 1% dos veces por día durante 15 días. Después de haber transcurrido este tiempo, los animales que se presentaron negativos a la prueba de fluoresceína fueron tratados con dexametasona y gentamicina en gotas dos veces por día.

Los caninos de los grupos A y B se observaron diariamente, durante 30 días posteriores a la cirugía, para evaluar el comportamiento macroscópico de las córneas transplantadas. Para ello se utilizó oftalmoscopio y lupa y las alteraciones se registraron en fichas individuales. Se realizó el test de fluoresceína semanal durante tres semanas.

Una vez finalizado este período se realizó la colecta de muestras de porción de córnea receptora y transplantada que fueron fijadas en formol bufferado para su posterior estudio histopatológico.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Observaciones clínicas y macroscópicas: en todos los animales la fotofobia y el blefarospasmo se iniciaron en el primer día de postoperatorio y se prolongaron hasta el día 15.

No se observaron variaciones macroscópicas entre los ojos que recibieron diferentes injertos hasta el final del periodo de observación, siendo el aspecto de la córnea receptora transparente y con muy poca opacidad (solo en el trasplante). Durante la primer semana se mantuvo una secreción serosa que fue desapareciendo paulatinamente sin presentar un aspecto purulento o mucopurulento.

La vascularización se mantuvo discreta y fue disminuyendo considerablemente hasta el final de los 30 días de observación.

Todos los injertos en el momento de su aplicación se presentaron opacos. Esta opacidad fue disminuyendo pero se mantuvo hasta finalizar el periodo de observación.

El edema en la córnea receptora fue moderado, y se caracterizó por la opacidad en la región periférica al injerto.

Histopatología: El análisis de los preparados microscópicos de los injertos de córnea de 30 días de postoperatorio, mostró una continuidad del epitelio superficial, que en el borde del injerto evidenció fenómenos de acantosis. Se observó además, desorganización de la capa fibrosa con la presencia de fibroblastos jóvenes. Se detectaron también focos de micro hemorragia, infiltrado inflamatorio y vasos de neoformación. Llamó la atención que en el injerto con córnea conservada la desorganización de la capa fibrosa, la hemorragia y el infiltrado inflamatorio fueron de mayor intensidad que en el injerto con córnea fresca.

CONCLUSIONES

Debido al reducido número de animales observados en este trabajo, solo podemos concluir que no se observaron variaciones clínicas y macroscópicas significativas entre las córneas conservadas y a fresco. Solo en el aspecto microscópico, se observó en las injertadas con córnea conservada un aumento en la desorganización de la capa fibrosa, de la hemorragia e infiltrado inflamatorio.

BIBLIOGRAFIA

- 1- ANDRADE, A. L., LAUS, J. L. Enfermidades da córnea de pequenos animais. **Clínica Veterinária**, São Paulo, ano. 3, n. 12, p. 34-39, 1998.
- 2- BARROS, P. S., SAFATALE, A. M. V., MALERBA, T.A. *et al.* The surgical repair of the cornea of the dog using pericardium as a keratoprothesis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 251-255, 1995.
- 3- BERNIS, W. O. Ceratoplastia lamelar experimental em cães. **Arquivo da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 32, n. 3, p. 305-323, 1980.
- 4- EURIDES, D., GONÇALVES, G. F., MAZZANTI, A., *et al.* Utilização de cápsula renal de coelho no reparo de ceratectomias superficiais de cães-Estudo experimental. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO CBCAV, 1998, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, 1998. 161p.p. 110.
- 5- HACKER, D. H. Frozen corneal grafts in dogs and cats: a report of 19 cases. **Journal of American Animal Hospital Association**, Denver, v. 27, n. 3, p. 387-398, 1991.
- 6- KING Jr., J. H. Keratoplasty. Experimental studies with corneas preserved by dehydration. **American journal of ophthalmology**, New York, v. 43, n. 3, p. 353-380, 1957.
- 7- KUHNS, E. L. Conjunctival patch graft for treatment of lesions in dog. **Modern Veterinary Practice**, v. 60, p. 301-307, 1979.
- 8- LAUS, J. L., ROSSI, M. A., SOUZA, M. S. B. de, *et al.* Avaliação dos efeitos de un adesivo para fins biológicos (colagel) na ceratoplastia experimental em cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 30, p. 183-193, 1993. Suplemento.
- 9- LAUS, J. L., SOUZA, M. S. B., MORALES, A. *et al.* Comparação entre ceratoplastias lamelares por enxertos autólogos, livres, de córnea e pediculados de conjuntiva. Estudo experimental em cães (*Canis familiaris-LINNAEUS*, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 41-46, 1996.

- 10- LAUS, J. L. Escama de sardinha como prótese biológica em cães. **Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 1, ano 1, p. 9-12, 1996.
- 11- LAUS, J. L., GALERA, P. D., SCHOCKEN-ITURRINO, R. P., *et al.* Bilateral lamellar keratoplasty in descemetocele treatment in dog with botulism by use of equine renal capsule and conjunctival pedicle graft. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 355-359, 1999.
- 12- LEE, S., TSENG, S. C. G. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. **American Journal of Ophthalmology**, New York, v. 123, n. 3, p. 303-312, 1997.
- 13- MARCON, I. M., GAMA, A. M. da C., SEMINOTI, N., *et al.* Transplante de córnea. In: NEUMANN, J., ABBUD FILHO, M. GARCIA, V. D. **Transplante de órgãos e tecidos**. São Paulo: Sarvier, 1997. Cap. 8, p. 336-352.
- 14- McLAUGHLIN, S. A., BRIGHTMAN II, A. H., BROGDON, J. D. Autogenous, partial-thickness corneal graft for repair of a perforated corneal ulcer in a horse. **Equine Practice**, v. 7, n. 5, p. 34-38, 1985.
- 15- MORALES, A., LAUS, J. L., SOUZA, M. S. B. de, *et al.* Comparação entre enxertos autólogos livres e pediculados de conjuntiva no reparo de ceratectomias superficiais. Estudo experimental no cão (*Canis familiaris-LINNAEUS*, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 28-31, 1996.
- 16- PARSHALL, Jr. C. J. Lamellar corneal-scleral transposition. **Journal of American Animal Hospital Association**, Denver, v. 9, n. 3, p. 270-277, 1973.
- 17- PIPPI, N. L., SAMPAIO, A. J. S. A. Estudos preliminares sobre o comportamento do Biofill na ceratoplastia lamelar em coelhos. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, Santa Maria, v. 20, n. 3-4, p. 297-302, 1990.
- 18- SEVERIN, G. A. **Severin's veterinary ophthalmology notes**. 3 ed. Colorado: Severin, 1996. 546 p.
- 19- SHANKAR, B., CHAVAN, M. D., KING, Jr. J. H. Experimental lamellar heterografts. Comparison of fresh and preserved donor corneas. **American Journal of Ophthalmology**, New York, v. 49, p. 1387-1395, 1960.
- 20- SHIMAZAKI, J., YANG, H., TSUBOTA, K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. **Ophthalmology**, New York, v. 104, n. 12, p. 2068-2076, 1997.
- 21- SLATTER, D. **Fundamentals of veterinary ophthalmology**. 2 ed. Philadelphia: Saunders, 1990. Cap. 11: Cornea and sclera: p. 257-303.
- 22- WHITLEY, R. D. Canine cornea. In: GELATT, K. N. **Veterinary ophthalmology**, 2 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. Cap. 9, p. 307-356.
- 23- WILLIAMS, D. Techniques for treatment of corneal ulcers. **Veterinary Practice**, Philadelphia, v. 25, n. 17, p. 1, 5-6, 1991.
- 24- WILKIE, D. A., WHITTAKER, C. Surgery of the cornea. **Veterinary Clinics of the North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 27, n. 5, p. 1067-1107, 1997.