

ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DE CÓRNEAS DE SUÍNOS IMPLANTADAS EM CÃES TRATADAS COM CICLOSPORINA "A" (2%)

A histopathological study of swine corneas implanted in dogs treated with cyclosporin A (2%)

Nilo Sérgio Troncoso Chaves¹, Paulo Sérgio de Moraes Barros², Apóstolo Ferreira Martins³, Eugênio Gonçalves de Araújo⁴, Larissa Franco de Araújo⁵, Duvaldo Eurides⁶, Luiz Antônio Franco da Silva⁷

RESUMO

Dez 10 cães, sem raça definida, adultos, com peso médio de 10kg foram submetidos ao implante no globo ocular esquerdo de córnea de suínos. No período pós-operatório, foram submetidos a administração tópica de colírio de sulfato de gentamicina e ciclosporina A (2%), durante 28 dias, quando foram submetidos a enucleação do globo ocular esquerdo para estudos em microscopia óptica do enxerto e áreas adjacentes receptoras. Na área do enxerto a camada epitelial encontrava-se preservada em (55,55%), a membrana de Descemet não foi preservada (88,88%), o endotélio não era visível (88,88%) e proliferação de fibroblastos em 100% das córneas. Observou-se reação inflamatória em 88,88% dos implantes com prevalência de neutrófilos (55,55%), plasmócitos (22,22%), e linfócitos (11,11%) e degeneração de fibras colágenas (44,44%) e pigmentação (33,33%). As áreas adjacentes receptoras apresentavam alterações limitadas à zona de transição, com prevalência de linfócitos (44,44%), degeneração de fibras colágenas (22,22%) e aumento da pigmentação (77,77%). As alterações encontradas indicam que o colírio de ciclosporina A (2%), não foi capaz de inibir as alterações de rejeição.

Palavras-chave: canino, suíno, histopatologia, ciclosporina A, xeotransplantes, córnea.

SUMMARY

Ten adult mixed breed dogs, with a 10kg average weight received swine cornea implants in the left eye. Post operative treatment involved gentamicin sulphate and 2% cyclosporin "A" during 28 days. Subsequently the animals were sacrificed and submitted to a left eye enucleation to examine the graft and adjoining areas using optic microscopy. Analyzing the graft area, it was possible to verify that the epithelial layer was preserved in 55% of the implants, Descemet's membrane was not preserved in 88.88%, endothelium was not visible in 88.88% and there was fibroblast proliferation in 100% of the corneas. Alterations limited to an inflammatory reaction were seen in 88.88% of the implants, prevailing neutrophils (55.55%), plasmocysts (22.22%) and lymphocytes (11.11%), collagen fiber degeneration (44.44%) and pigmentation (33.33%). Alterations of the receiving (adjoining) areas were limited to the transition zone with prevailing lymphocytes (44.44%), collagen fiber degeneration (22.22%)

¹ Médico Veterinário. Professor Adjunto. Doutor. Departamento de Clínica. Escola de Veterinária/EV. Universidade Federal de Goiás/UFG. Campus Samambaia. CP 131. 74001-970. Goiânia, GO.

² Médico Veterinário. Professor Associado. Doutor. Departamento de Cirurgia. Faculdade de Medicina Veterinária. Zootecnia. Universidade de São Paulo

³ Médico Veterinário. Hospital Veterinário/EV/UFG.

⁴ Médico Veterinário. Professor Adjunto. Mestre. Departamento de Patologia/EV/UFG.

⁵ Acadêmica bolsista/EV/UFG.

⁶ Médico Veterinário. Professor Titular. Doutor. Curso de Medicina Veterinária. Departamento de Medicina Animal. Universidade Federal de Uberlândia.

⁷ Médico Veterinário. Professor Adjunto. Doutor/EV/UFG.

and pigmentation increase (77.77%). The alterations observed suggest that 2% cyclosporin eye drops were not able to inhibit the rejection alterations.

Key words: canine, swine, histopathology, cyclosporin A, xenotransplants, cornea.

INTRODUÇÃO

BABEL & BURQUIM (1952 a,b) demonstraram uma intensa proliferação fibroblástica, infiltração eosinofílica, neovascularização, necrose e fibrose nos xenoenxertos interlamelares por eles desenvolvidos. PAYRAU et al. (1961 a,b), observaram em xenotransplantes perfurantes irregularidades epiteliais, desorganização de lamelas, vascularização profunda, deslocamento ou ausência da membrana de Descemet, edema e necrose. FAURE (1964), relatou infiltrações inflamatórias, proliferação fibroblástica, digestão do enxerto, edema, *tyndall* na camara anterior, neovascularização do enxerto carreando linfócitos, plasmócitos e eosinófilos. Já POLACK (1966), encontrou alterações morfológicas no tecido fibroso e colágeno extracorneano, no estroma, na substância fundamental e no mesotélio. Observou ainda, neovascularização, proliferação de fibroblastos, edema, lise celular, úlceras de epitélio e do estroma e formação da membrana retrocorneana.

GRAF et al. (1972), efetuaram estudos ultraestruturais da reabsorção do xenoenxerto interlamelar de vitela em coelho e observaram alterações como degeneração e reabsorção do enxerto, infiltrados inflamatórios com presença de neutrófilos, macrófagos, granulócitos, células epitelióides e células gigantes. Relataram que a evolução tardia do enxerto apresentava possibilidades de rejeição verdadeira do enxerto pela ulceração das camadas superficiais, reabsorção incompleta com persistência da maior parte de seu tecido conjuntivo e reabsorção, algumas vezes completa, com permanência de tecido conjuntivo, após vários meses. Através de estudo experimental, MENEZO (1972) e RYCROFT (1975) concluíram que nos heteroenxertos, as córneas doadoras serviam como trama arquitetônica para introdução de novos elementos provenientes do receptor. No entanto, BASU & ORMSBY (1957), KING (1957), GALVÃO (1976) e JACOMINI (1982), referiram

ao aparecimento de um tecido inflamatório substituindo o endotélio doador devido à falência do mesmo, denominado de membrana retrocorneana.

MATERIAIS E MÉTODOS

Dez cães, adultos, sem raça definida, com peso médio de 10kg foram submetidos ao transplante penetrante de córnea de suíno no globo ocular esquerdo. No pós-operatório foi administrado uma gota de colírio de ciclosporina A (2%) e de sulfato de gentamicinab, de 6 de 6 horas, durante 28º dia. Decorrido este período, o globo ocular do xenotransplante foi enucleado e para conservação foi injetado na câmara do corpo vítreo, solução aquosa de formol a 10% e mantido na mesma solução. As córneas foram retiradas dos globos oculares, inseridas em blocos de parafina para obtenção de cortes histológicos, fixadas em lâminas coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) e examinadas em microscopia óptica. Para a leitura das lâminas foram consideradas as áreas do enxerto e as adjacentes receptoras. Em todas as áreas foram analisados a preservação do epitélio, membrana de Descemet e endotélio. Os achados histológicos foram agrupados quantitativamente, utilizando-se escalas de 1 a 3 símbolos "+", com as seguintes qualificações: + correspondente a alterações mínimas, ++ alterações moderadas e +++ alterações intensas para proliferação de fibroblastos, proliferação vascular, degeneração de fibras colágenas e reação inflamatória. Foram observados ainda a predominância de neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, monócitos ou plasmócitos, presença de pigmentação e de hemorragias.

RESULTADOS

Os aspectos histopatológicas das áreas das córneas implantadas e dos tecidos adjacentes encontram-se representadas nas figuras 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

Na área do implante verificou-se preservação do epitélio (55,55%) e com ulcerações em (44,44%). A membrana de Descemet apresentava-se semi-preserveda (11,11%) e preservada (88,88%) e o endotélio encontrava-se pouco visível (11,11%) e não visível (88,88%). Encontrou-se 100% de proliferação vascular e de fibroblastos, 88,88% de reação inflamatória com 55,55% de neutrófilos, 22,22%

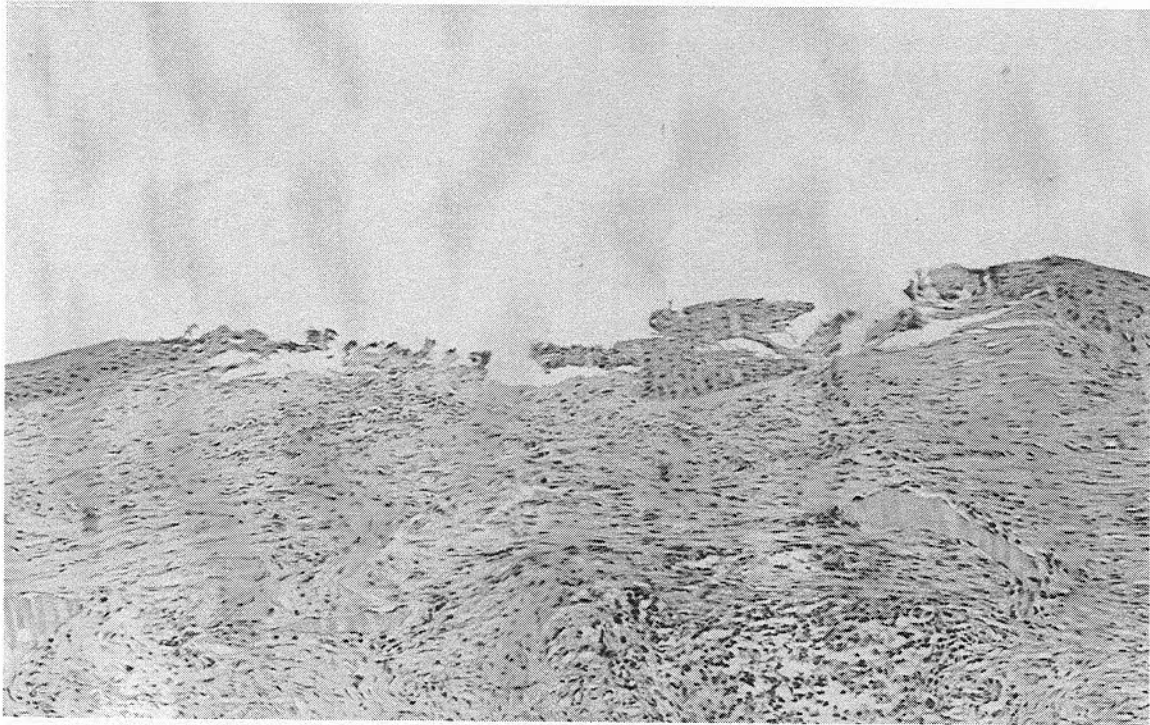


Figura 1. Aspectos histológicos de córnea de suíno implantada em cão (Grupo I). Nota-se necrose do epitélio decorridos 28 dia do xenotransplante (HE - 125X).

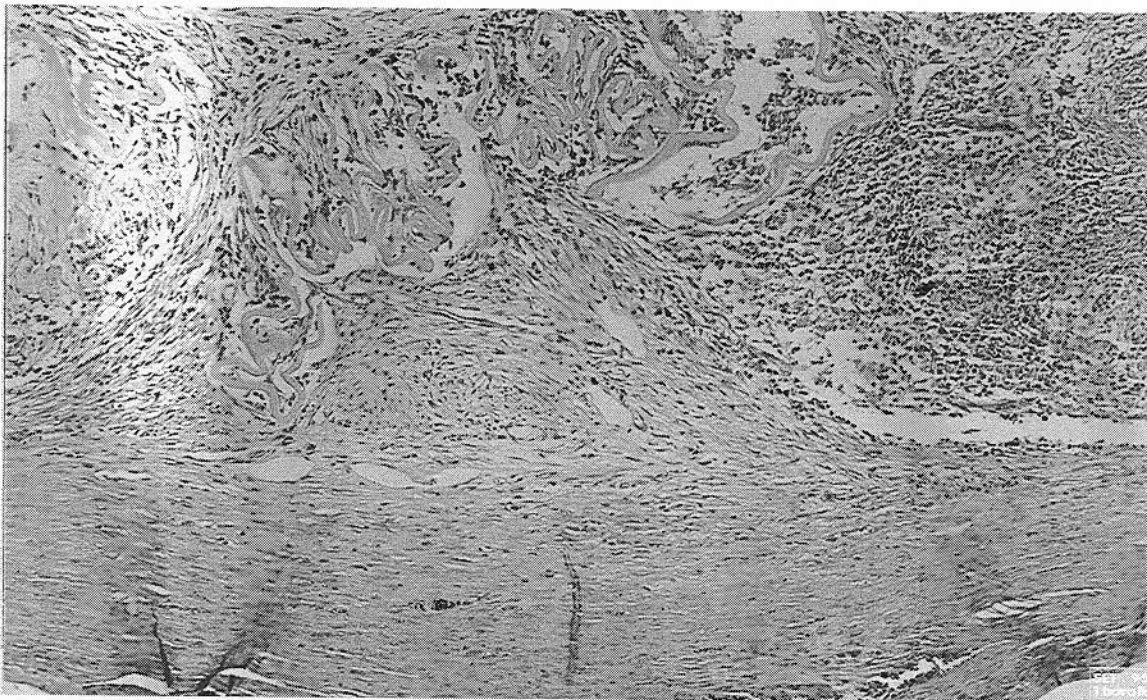


Figura 2. Aspectos histológicos de córnea de suíno implantada de cão, decorridos 28 dias de xenotransplante (Grupo I). Nota-se desorganização da membrana de Descement, infiltrado inflamatório e ausência de endotélio (HE - 100X).



Figura 3. Aspectos histológicos de córnea de suíno implantada em cão (Grupo I), decorridos 28 dias do xenotransplante. Nota-se infiltrado inflamatório e degeneração da membrana de Descemet (HE - 125X).

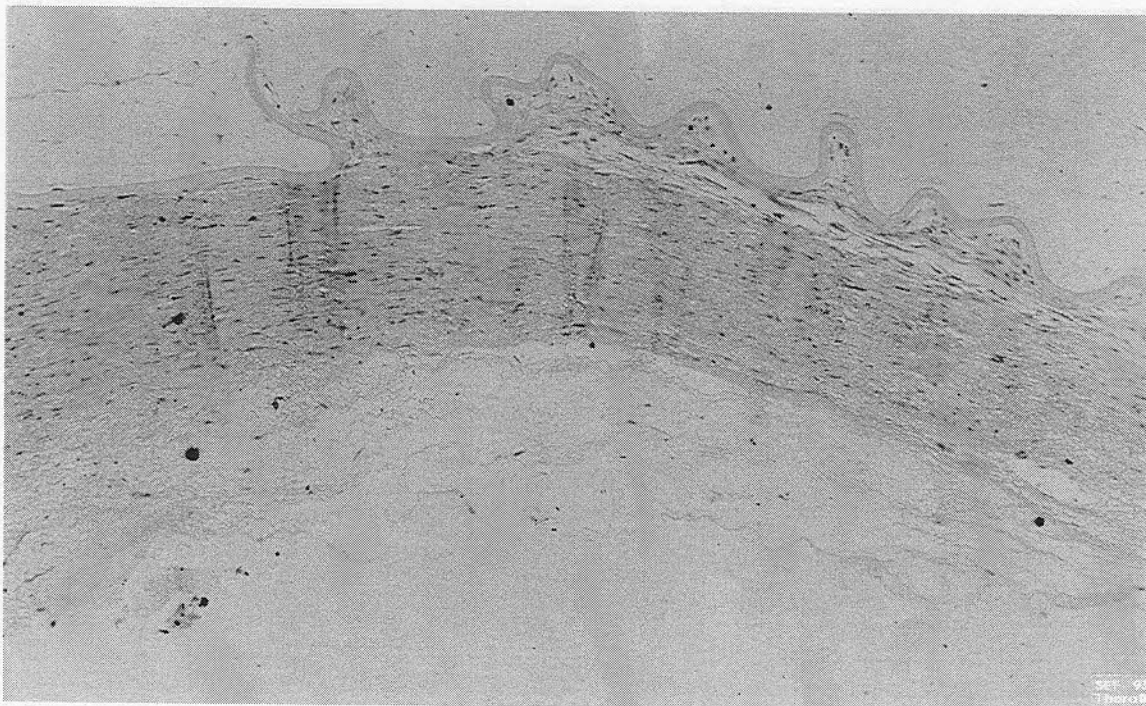


Figura 4. Aspectos histológicos de córnea de suíno implantada em cão (Grupo I), decorridos 28 dias do xenotransplante. Nota-se membrana retrocorneana e desorganização da membrana de Descemet (HE - 25X).



Figura 5. Aspectos histológicos de córnea suíno implantada em cão (Grupo I), decorridos 28 dias do xenotransplante. Nota-se degeneração de fibras colágenas (HE - 320X).

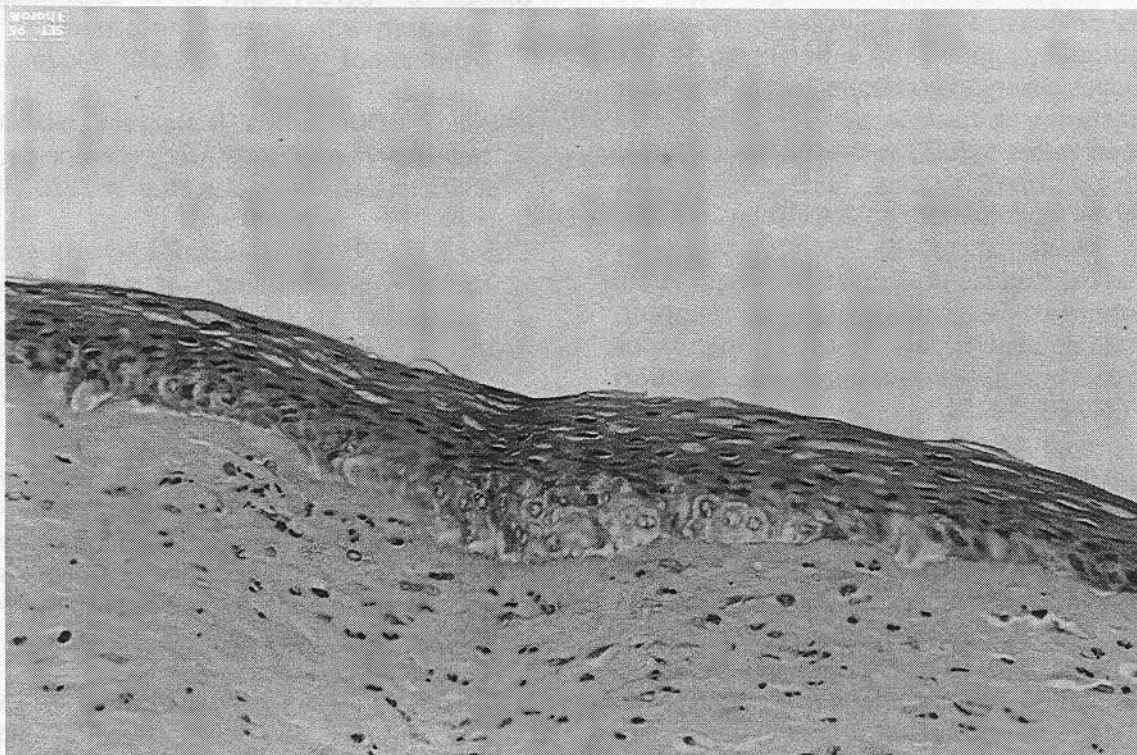


Figura 6. Aspectos histológicos de córnea de suíno implantada em cão (Grupo I), decorridos 28 dias do xenotransplante. Nota-se superposição dos epitélios receptor com doador (HE - 320X).

plasmócitos, 11,11% de linfócitos. Notou-se ainda 44,44% de degeneração de fibras colágenas e 66,66% com pigmentação.

Nas áreas adjacentes aos implantes as alterações se limitavam à zona de transição. O epitélio, estroma e membrana de Descemet encontravam-se preservados com 100% de proliferação de fibroblastos, 88,88% de proliferação vascular, 55,55% de reação inflamatória. No infiltrado inflamatório verificou-se 11,11% de neutrófilos, 44,44% de linfócitos, 22,22% de degeneração de fibras colágenas e 77,77% de pigmentação.

DISCUSSÃO

Neste experimento foi observado na maioria dos implantes, desorganização da membrana de Descemet e destruição do endotélio. Nos enxertos onde havia preservação do epitélio, notou-se discreto processo inflamatório, sem degeneração de fibras colágenas e pigmentação e a córnea doadora encontrava-se opaca e edemaciada. O ideal seria que o enxerto tivesse suas estruturas celulares preservadas, a cicatriz organizada no leito receptor, a reação inflamatória não exacerbada com infiltrados naturais, sem degeneração de fibras colágenas e sem invasão de vasos sanguíneos, pigmentos e hemorragias. As alterações observadas referem-se possivelmente aos processos de rejeição, que são coincidentes às observadas feitas por BABEL & BURQUIN (1952 a,b), PAYRAU et al. (1961 a,b), FAURE (1964), POLACK (1966) e GRAFT et al. (1972).

Neste experimento, verificou-se que as células necrosadas do epitélio do doador foram substituídas pelas homovitas do receptor, servindo de suporte para o receptor. Resultados coincidentes aos observados por MENEZO (1972) e RYCROFT (1975).

A formação de uma membrana retrocorneana observada neste experimento, em todos os cortes histológicos, também foram descritas por BASU & ORMSBY (1957), KING (1957), GALVÃO (1976) e JACOMINI (1982). Provavelmente os principais fatores de opacificação dos xenotransplantes devem-se à falência do endotélio e a desorganização da membrana de Descemet, que são responsáveis pela barreira natural do humor aquoso, que mantém equilibrada a hidratação das outras camadas da córnea.

CONCLUSÕES

1. A proliferação de fibroblastos, reação inflamatória com infiltrados de linfócitos, plasmócitos e neutrófilos, proliferação vascular, degeneração de fibras colágenas e invasão de pigmentos nos enxertos e tecidos adjacentes, demonstra ineficiência do colírio de ciclosporina A (2%), como droga supressora imunocelular.

2. A falência do endotélio e a desorganização da membrana de Descemet são fatores para opacificação permanente de transplantes de córnea de suínos em cães.

MATERIAIS DA PESQUISA

- a. Ciclosporina A 2% colírio - Lab. Drogana - Goiânia
- b. Gentamicina "oculum" colírio - Lab. Fruntost - São Paulo
- c. Spencer 820 Microtome - America Optical - USA
- d. Microscópio triocular - Modelo Jeneval GFPA - Marca Carzl Zeiss - Germany

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BABEL, J., BOURQUIN, J. B. Experimental research with corneal heterografts. **B J Ophthalmol**, v. 36, p. 529-536, 1952a.
- BABEL, J., BOURQUIN, J. B. Nouvelles recherches experimentales sur les hetégreffes de cornée. **Bull Men Fr Ophtalmol**, v. 65, p. 360-370, 1952b.
- BASU, P.K., ORMSBY, H. L. Corneal heterografts in rabbits. **Am Ophtahml**, v. 44, p. 477-479, 1957.
- FAURE, J. P. Les réactions immunologiques dans les greffes de la cornée. **Arch Opht**, v. 24, p. 501-603, 1964.
- GALVÃO, P.G. **Transplante de córnea (Estudo clínico, imunológico e histopatológico, em 211 casos de aloenxertos-perfurantes, no homem)**. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, 1976. 510p. Tese (Doutorado).
- GRAFT, B., KOSAK, Y., POULIQUEN, Y., CALVET, M.A., FAURE, J.P. Ultrastructural study of the resorption of corneal xenografts in rabbits. **Exp Eye Res**, v. 14, p. 283-288, 1972.

JACOMINI, C. Z. **Conservação de córneas pelo meio de cultura de tecidos RPMI-1640 modificado (Estudo clínico e histopatológico de transplante alógeno em coelho com córneas conservadas a curto e médio prazo)**. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais. 1982. 134 p. Tese (Doutorado).

KING, J. H. Experimental studies with corneas preserved by dhydration. **Am J Ophthalmol**, v. 43, p. 353-380, 1957.

MENEZO, J. L.R. Queratoplastias laminares com córneas silico-dehidratadas. **Arch Soc Esp Oftalmol**, v. 32, p. 365-392, 1972.

PAYRAU, P., POULIQUEN, Y, FAURE, J. P. Hétérogreffes de la cornée; étude expérimentale et premiers résultats cliniques. **Ann d'Ocul**, v. 194, p. 1-30, 1961a.

PAYRAU, P., POULIQUEN, Y, FAURE, J. P. Hétérogreffes de la cornée; étude expérimentale et premier résultats cliniques. **Ann d'Ocul**, v. 194, p. 123-132, 1961b.

POLACK, F. M. The pathological anatomy of corneal grafts rejection, **IN: Concilium Germania Ophthalm**, 20 pars II, VII, p. 855-890, 1966.

RYCROFT, B. W. **Corneal grafts**. London: Butter Worths, 1975. s. n.