

A proteção endotelial na facectomia: avaliação de nova substância visco-elástica sintética

Endothelial protection in the facectomy: evaluation of a new synthetic viscoelastic material

Emyr Francisco Soares ⁽¹⁾

RESUMO

Objetivo: Avaliar a segurança clínica e eficiência de nova solução visco-elástica sintética - MEDILON (poliacrilamida).

Métodos: 60 pacientes foram aleatoriamente divididos em 3 grupos de 20 pacientes e submetidos à facectomia extra-capsular. Como proteção endotelial foram utilizados os seguintes: Grupo 1 - AR, Grupo 2 - HEALON (hialuronato de sódio), e Grupo 3 - MEDILON (poliacrilamida). Exames pré e pós-operatórios (1 dia e 3 meses) avaliaram comparativamente a contagem de células endoteliais, variação da pressão intra-ocular, paquimetria corneana, tipo de incisão, complicações pós-operatórias e impressões subjetivas dos cirurgiões.

Resultados: A perda de células endoteliais foi equivalente entre os Grupos 2 (Healon) e Grupo 3 (Medilon), e maior no Grupo 1 (ar). Em todos outros aspectos clínicos estudados não houve diferenças estatisticamente significativas entre o Grupo 2 e o Grupo 3. Quanto à impressão subjetiva dos cirurgiões verificou-se uma discreta preferência pela poliacrilamida sobre o hialuronato de sódio.

Conclusões: Os resultados sugerem que a poliacrilamida é comparável ao hialuronato de sódio quanto à segurança clínica e eficiência como solução visco-elástica para uso intra-ocular.

Palavras-chave: Proteção endotelial; Poliacrilamida; Hialuronato de sódio; Visco-elásticos

A utilização de substâncias visco-elásticas nas cirurgias oftálmicas que envolvem a câmara ocular anterior oferece uma maior segurança no manejo per-operatório destas intervenções, como, por exemplo, nas facectomias com ou sem implantes intra-oculares ^{1,2}, nas ceratoplastias, nas filtrantes anti-glaucomatosas ³ ou nas vitrectomias, entre as mais importantes.

O principal papel destas substâncias é o de manutenção da profundidade da câmara anterior; na mobilização de tecidos intra-oculares e, o mais importante, oferecer uma proteção mecânica ao endotélio corneano contra os traumas per-operatórios nas manobras de implantação de lentes intra-oculares; além de se prestarem como material lubrificante, quando aplicadas sobre os implantes, facilitando-lhes a inserção e protegendo o músculo esfíncter da íris de traumas cirúrgicos indesejáveis ⁴. Preenchendo os espaços vazios da câmara anterior, as substâncias visco-elásticas mantêm o vítreo na loja posterior, assim evitando a atalamia que é uma complicação per-operatória muito indesejável ⁵⁻¹¹. Apesar da existência de mantenedores não medicamentosos da câmara anterior, o uso de substâncias visco-elásticas nas facectomias com implantes, oferece uma tão desejável segurança nos resultados cirúrgicos que se constitui, hoje em dia, numa rotina universal e obrigatória ¹²⁻¹⁴.

⁽¹⁾ Professor Adjunto de Oftalmologia da Universidade Federal de Minas Gerais. Presidente da Fundação Hilton Rocha.

Endereço para correspondência: Av. José Patrocínio Pontes, 1255. Belo Horizonte (MG).

Vários autores referem-se a diferentes substâncias utilizáveis nesta proteção, dentre estas citam o hialuronato de sódio¹, o sulfato de condroitina⁹ ou combinações destes sais; sendo ainda popular o uso da hidroxipropilmetilcelulose⁴.

Entretanto, estas substâncias podem apresentar efeitos colaterais indesejavelmente graves, recomendando-se, para evitá-los, a sua total remoção ao final da cirurgia. A demais estas substâncias podem apresentar variações em suas composições, de lote a lote, com a real possibilidade da presença de proteínas estranhas com efeitos colaterais dramáticos, apresentando ainda a desvantagem de exigirem uma conservação permanente sob refrigeração, exigindo posterior aclimatação à temperatura ambiente durante o per-operatório.

A hidroxipropilmetilcelulose é um produto que vem se popularizando pelo seu baixo custo, porém, sua matéria prima é de origem vegetal (algodão) cuja consistência de pureza entre lotes é suspeitada, podendo causar complicações oculares dramáticas. Apesar desta substância ter uso difundido em nosso país, sobretudo em função de seu baixo custo, acreditamos que o potencial de complicações indesejáveis supera a economia obtida.

Estes fatos, dentre outros, geram a busca contínua por novos materiais mais seguros biologicamente e mais cômodos cirurgicamente.

O ar, na inexistência de outros, foi o artifício inicialmente usado na manutenção dos espaços da câmara anterior, durante as implantações de LIOs, com resultados pouco satisfatórios.

O hialuronato de sódio (Healon®, Pharmacia & Upjohn, Suécia) foi o primeiro visco-elástico comercialmente disponível, compondo-se de uma solução salina tamponada contendo 1% de hialuronato de sódio com peso molecular de 3 a 4 milhões de daltons e uma viscosidade de 600 centipoises. Trata-se da substância visco-elástica de maior utilização nos países desenvolvidos, com farta literatura atestando sua segurança intra-ocular e eventuais complicações decorrentes de seu uso.

A poli-acrilamida (Medilon®, Mediphacos, Brasil) é um novo visco-elástico destinado a ser usado nas cirurgias oculares dos segmentos anterior e posterior. É um composto sintético, sistematicamente reproduzível. Trata-se de um homo-polímero de acrilamida - substância que se encontra naturalmente nos ácidos graxos, nos carotenoides e no látex da seringueira. Com um peso molecular de aproximadamente 1 milhão de daltons. Medilon é um preparado de poli-acrilamida dissolvida em uma solução tampão-fosfato para manutenção de um pH de 7,2; a-pirogênica, totalmente livre de proteínas, essencialmente não-iônica, contendo cerca de 15 mg/ml com uma viscosidade de 500 centipoise. Medilon é completamente transparente e exibe características visco-elásticas perfeitamente superponíveis àquelas do hialuronato de sódio. O produto é ainda facilmente solúvel no humor aquoso ou em solução estéril de uso intra-ocular, sendo mais facilmente removível da câmara anterior. Não requer refrigeração para a sua conservação. A poli-acrilamida é uma substância largamente usada em cosmetologia

humana e na indústria alimentar humana tendo total aprovação do FDA nestas aplicações humanas. Recentes estudos de Lindquist e Edenfield²⁰ utilizando o teste CEPAT (Corneal Epithelial Plasminogen Activators Test) para estudar a citotoxicidade dos visco-elásticos sobre as células epiteliais corneanas em cultura de tecidos, comprovaram que os ativadores do plasminogênio são, imediatamente, liberados quando os epitélios são submetidos a traumas. Adaptaram este teste para o estudos da citotoxicidade de substâncias visco-elásticas, dosando estes ativadores. Quanto maior a presença de ativadores, tanto maior a citotoxicidade da substância.

Verificaram que a mistura sulfato de condroitina/hialuronato de sódio é inaceitavelmente tóxica o que explica as complicações inflamatórias do Viscoat®. Que o hialuronato de sódio (Healon®) é medianamente tóxico, entretanto se muito bem diluído, tornar-se-ia atóxico. Afirmam que a poli-acrilamida é a-tóxica em qualquer concentração e que a Metilose® é completamente atóxica.

MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo compreende 60 pacientes portadores de cataratas de diferentes etiologias, principalmente, as senis. Os pacientes foram separados em três grupos: Grupo I - Ar, Grupo II - Healon® e Grupo III - Medilon®. Cada grupo compreendendo 20 olhos foram aleatoriamente operados por dois cirurgiões diferentes (Dr. Carlos H R Diniz e Dr. Lúcio G Dantas. Cirurgiões do Instituto Hilton Rocha de Belo Horizonte, MG). Cada cirurgia teve total liberdade de praticar sua técnica cirúrgica pessoal e habitual; cada qual recebendo 10 pacientes de cada grupo. (CHRD: 30 olhos, LGD: 30 olhos. Compreendendo 10 olhos de cada um dos três grupos). Entretanto, deveriam sempre respeitar como procedimento comum a utilização de um dos três protetores que com a única exceção do ar, deveriam preencher completamente o espaço cameral e envolverem o implante no momento de sua inserção. O acompanhamento e controle pré e pós operatório foi feito pelo A., que não foi informado qual o produto utilizado em cada paciente específico. Somente após a conclusão dos exames foram abertos os envelopes com a identificação do visco-elástico utilizado em cada paciente, permitindo a divisão dos pacientes em grupos para tabulação dos resultados. A diferença entre os materiais utilizados são tão distintos (ar, hialuronato de sódio e poli-acrilamida) entre si que julgamos impraticável um estudo tipo duplo-cego.

Ambas substâncias foram totalmente retiradas da câmara com sucessivas lavagens com solução salina balanceada, apenas para padronização do método, pois em sua tese inaugural Villas-Boas²¹ concluiu ser o Medilon completamente solúvel no humor aquoso, sendo possível deixá-lo na câmara anterior, sem reações tensionais pós-operatórias duradouras.

O estudo clínico comparativo entre os três grupos foi realizado isoladamente pelo autor, visando estudar os seguintes aspectos:

- **Tipos de incisão:** corneana, límbica ou escleral, pois a incidência do edema de córnea varia segundo o tipo da incisão.

- **Contagem das células endoteliais:** através de microscopia especular da parte média da córnea. Uma primeira medida no pré-operatório e outra 90 dias após a cirurgia.

- **Medida da pressão intra-ocular:** através de aplanotometria de Goldman; com três medidas: uma no pré-operatório, as outras aos 1 e 90 dias após a cirurgia.

- **Paquimetria corneana:** com o paquímetro Jäger (Haag - Streit), uma no pré-operatório, as outras 1 e 90 dias após a cirurgia.

- **Impressão subjetiva dos cirurgiões:** (de 1 a 4 cruces) sobre ambas soluções quanto à transparência, manutenção de espaços camerais e facilidade de remoção.

- **Complicações pós-operatórias:** diversas incidências.

RESULTADOS

Quanto ao tipo de incisão

Sobre este aspecto nossas observações evidenciaram que a incisão corneana induz a muito mais edema de córnea (+++) do que as límbicas (+ a ++) e sua quase total inexistência na escleral (0). Esta verificação era necessária para diferenciar-se os edemas de origem incisionais daqueles provocados pelo visco-elástico, como descritas na literatura ¹².

Contagem das células endoteliais

A densidade celular variou nos três grupos da seguinte maneira:

Grupo I (Ar): Pré-operatório 2590 (\pm 459) cels/mm². Aos 3 meses 2098 (\pm 496) cels/mm².

Grupo II (Healon): Pré-operatório 2739 (\pm 320) cels/mm². Aos 3 meses 2678 (\pm 257) cels/mm².

Grupo III (Medilon): Pré-operatório 2654 (\pm 445) cels/mm². Aos 3 meses 2603 (\pm 453) cels/mm².

Percentualmente, portanto, houve as seguintes perdas endoteliais: Grupo I - **18,99%**, Grupo II - **2,19%** e no Grupo III - **1,92%** (Figura 1).

Variação da pressão intra-ocular

No pré-operatório a PIO no conjunto dos pacientes dos três grupos variou entre 8 a 23 mm/Hg. Com os seguintes valores médios:

Grupo I (Ar) - 14,6 mm/Hg, Grupo II (Healon) - 14,2 mm/Hg, Grupo III (Medilon) - 15,3 mm/Hg.

No pós-operatório imediato (primeiro dia) os valores médios foram: no Grupo I - 15,4 (\pm 5,58) mm/Hg. No Grupo II: 17,9 (\pm 9,07) mm/Hg. E no Grupo III: 16,2 (\pm 7,00) mm/Hg.

Aos 3 meses as medidas mostraram as seguintes médias: Grupo I (Ar) - 13,9 mm/Hg, Grupo II (Healon) - 14,8 mm/Hg e Grupo III (Medilon) - 15,1 mm/Hg (Figura 2).

Paquimetria corneana

As medidas da espessura corneana alcançaram os seguintes valores médios:

- **Pré-operatório:** Grupo I (Ar) - 0,51 (\pm 0,021) mm, Grupo II (Healon) - 0,51 (\pm 0,0245) mm e no Grupo III (Medilon) - 0,51 (\pm 0,021) mm.

- **Pós-operatório:** No dia imediato: Grupo I (Ar) - 0,55 (\pm 0,038) mm, Grupo II (Healon) - 0,55 (\pm 0,035) e no Grupo III (Medilon) 0,54 (\pm 0,039).

- **Aos 3 meses** - no Grupo I (Ar) 0,53 (\pm 0,022) mm, Grupo II (Healon) - 0,53 (\pm 0,026) mm e no Grupo III (Medilon) - 0,51 (\pm 0,024) (Figura 3).

Impressão subjetiva dos cirurgiões

A impressão subjetiva dos cirurgiões foi anotada nos relatórios da cirurgia, obedecendo ao critério numeral seguinte: (1) pobre, (2) médio, (3) bom e (4) muito bom.

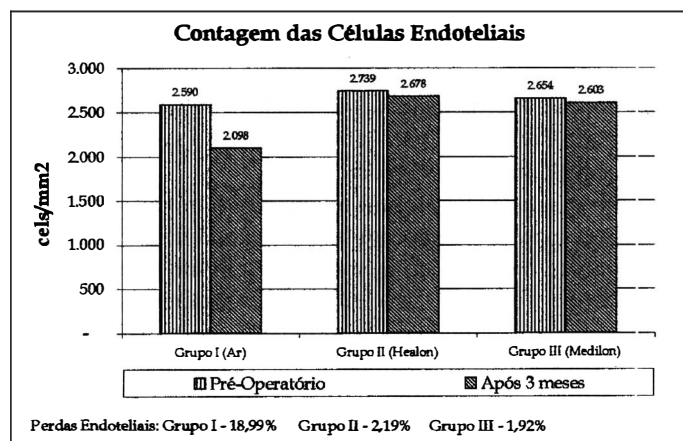


Fig.1

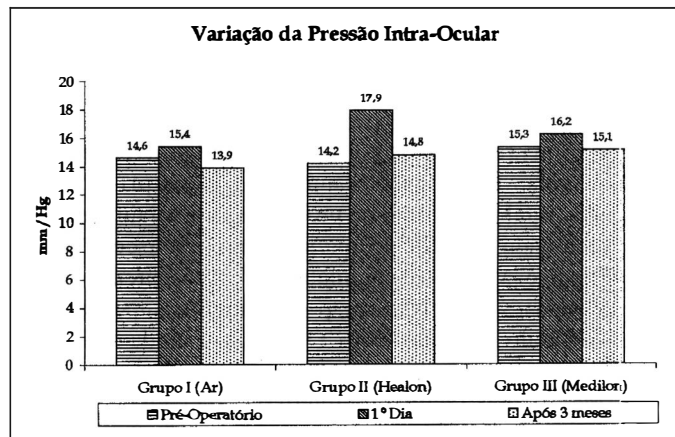


Fig. 2

Os resultados são apresentados segundo a média ponderal do critério numeral adotado: quanto à *transparência*: Grupo I (Ar) média: 1,65, Grupo II (Healon) média: 3,58 e no Grupo III (Medilon) média: 3,60. Quanto à *manutenção dos espaços cirúrgicos*: Grupo I (Ar) média - 1,93, Grupo II (Healon) média - 3,27, Grupo III (Medilon) média - 3,43. Quanto à *facilidade de remoção*, o Grupo I (Ar) teve como média 4,00, Grupo II (Healon) média - 2,58 e no Grupo III (Medilon) - 3,09 (Figura 4).

Complicações pós-operatórias

Dentre as complicações mais comuns, interessavam-nos, sobretudo a presença de edema de córnea e ou de irites. Quanto ao edema de córnea classificamos os achados em *ausente*, caso não houvesse perda de transparência, com fácil visualização da câmara anterior. *Moderado*, se observável e *severo* se acompanhado de dobras da Descemet. Quanto às *irites*, classificamo-las em *ausente* (sem Tyndall ou células), *moderada* (com Tyndall e células) e *severa* se acompanhada de humor aquoso denso.

Nenhum paciente de qualquer dos três grupos apresentava-se com edema corneano no pré-operatório. No primeiro dia de pós-operatório no Grupo Ar - 13 pacientes apresentaram edema moderado e 7 severo. No Grupo Healon - em 15 pacientes era ausente, em 3 moderado e em 2 severo. No Grupo Medilon - em 14 era ausente, em 4 moderado e em 1 severo.

Aos 3 meses os resultados eram: Grupo (Ar) 18 pacientes - ausente, 1 moderado e 1 severo. No Grupo Healon - em 19 pacientes era ausente e em 1 moderado. No Grupo Medilon - em 19 pacientes era ausente e em 1 moderado.

Quanto às *irites* os resultados eram assim distribuídos:

Pré-operatório: Um paciente apresentava-se com uma irite *moderada* (Grupo II). Nos outros dois grupos era ausente. No pós-operatório imediato no Grupo Healon era *ausente* em 17 casos e em 3 era *severa*. No grupo Medilon em 15 casos era *ausente*, em 3 *moderada* e em 2 *severa*. No grupo Ar em 10 pacientes era *ausente*, em 6 *moderado* e em 4 *severo*. Aos 3 meses somente 1 paciente do grupo (Ar) fazia ainda uma irite moderada, em todos os demais grupos era ausente.

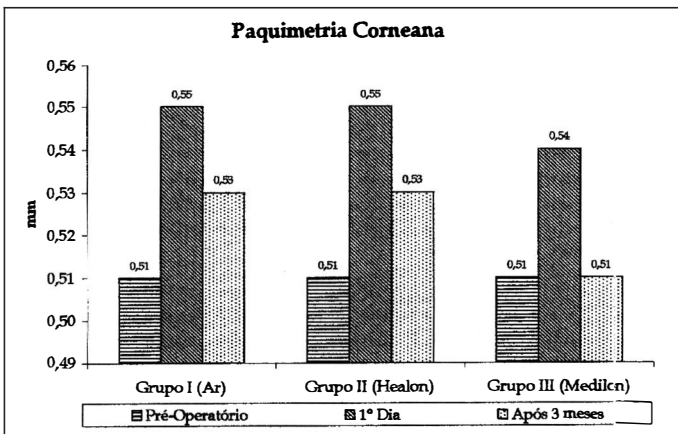


Fig. 3

COMENTÁRIO

Os visco-elásticos trouxeram uma dramática diminuição na severidade das complicações per e pós-operatórias nas facectomias com implantes de lentes intra-oculares, principalmente por manterem os espaços cirúrgicos da câmara anterior e uma marcada diminuição do sofrimento corneano, pela proteção endotelial⁸⁻¹⁹ que oferecem. A segurança dos resultados cirúrgicos é de tal valia que o uso destas substâncias deve ser mandatória e universal.

O Ar foi o primeiro destes artifícios facilitadores, entretanto por sua própria natureza não oferecia uma proteção endotelial adequada e concreta. Em sendo uma substância natural, em nossos grupos de estudo foi tomado como grupo testemunha.

As principais vantagens destas substâncias são a estabilização da arquitetura da câmara anterior e uma proteção mecânica de células e tecidos vulneráveis durante as manipulações cirúrgicas.

Até o início da década de 80 havia poucas alternativas utilizáveis, até a disponibilidade comercial do hialuronato de sódio. Até agora os efeitos protetores desta substância apresentavam-se superiores às demais substâncias visco-elásticas¹⁶.

Segurança é o principal fator na escolha de um visco-elástico. O uso da hidroxipropilmetilcelulose, embora de custo baixo, deve ser evitado por causa de sua origem agrícola e pelo fato de a literatura relatar a presença de fibras e flóculos maiores do que 10 µm¹⁷. Existem relatórios adversos ao uso de Amvisc[®]¹⁸ por aumentar as incidências inflamatórias. A paquimetria corneana e a densidade endotelial são igualmente favoráveis ao Healon[®] sobre os outros visco-elásticos. Portanto julgamos bastante judiciosa a decisão de compararmos os efeitos desta nova substância visco-elástica (Medilon[®]) com o Healon[®].

O efeito sobre a pressão intra-ocular constitui a principal verificação na avaliação de uma substância visco-elástica. A elevação tensional com o Healon¹², foi inicialmente, alarmante, até se introduzir a rotina de sua retirada da câmara anterior por irrigação salina por pelo menos dois minutos¹⁹. Esta elevação tensional deve-se ao tamanho molecular da substância e sua

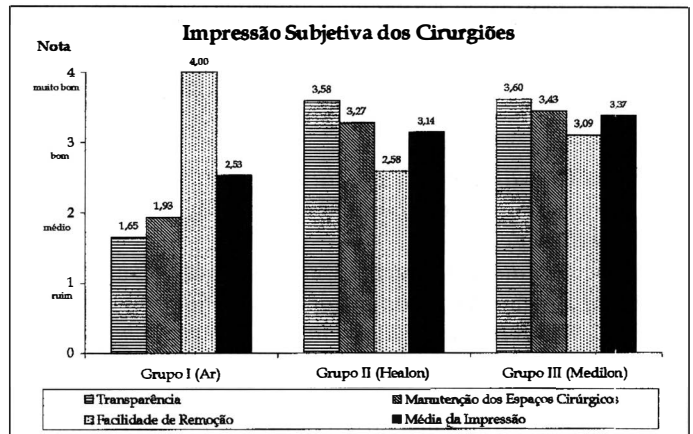


Fig. 4

dissolução parcial no aquoso. Medilon® tendo por base a poli-acrilamida de síntese, não provoca um aumento substancial da pressão intra-ocular²¹ por causa de sua alta e rápida dissolução em água e, portanto, no aquoso. O Medilon exibiu algumas características superiores ao Healon, tais como maior facilidade de manuseio e maior facilidade de retirada da câmara anterior. Quanto aos aspectos físicos ambos se equívalem.

No seguimento pós-operatório não houve a detecção de depósitos visíveis e qualquer efeito colateral detectável pela biomicroscopia. O comportamento da pressão intra-ocular foi semelhante e as alterações não persistiram mais do que um dia.

A documentação clínica anotada quanto às respostas do segmento anterior, da perda endotelial, da paquimetria pós-operatória e da manuseabilidade cirúrgica demonstra que existe uma equivalência perfeita entre o Healon® e o Medilon®.

Estes resultados indicam que não induzindo edema de córnea, diminuição da densidade mesotelial, de inflamações e sem interferir na pressão intra-ocular²¹, o uso da poli-acrilamida de síntese é uma valiosa auxiliar nas cirurgias do segmento ocular anterior, sobretudo nas facectomias. Uma elevação tensional no pós-operatório das facectomias não é incomum, que se explica pelos processos inflamatórios deflagrados pelo trauma cirúrgico. Esta elevação já era observável antes mesmo do uso dos visco-elásticos, como por exemplo, na zonulólise pela alfa-quimotripsina em consequência do que havia uma impermeabilidade do trabeculado por restos inflamatórios. Como os visco-elásticos são substância de alto peso molecular (moléculas grandes) a sua drenagem através do trabeculado é incompleta provocando um aumento tensional. Porém, conhecido este fato, a remoção dos visco-elásticos por lavagens sucessivas com solução salina, ao final da cirurgia solucionou este grave inconveniente. No presente trabalho nossos resultados não puderam estabelecer uma correlação direta entre o aumento tensional e os visco-elásticos utilizados, pelo simples fato de terem sido sistematicamente removidos com sucessivas lavagens com salina.

Numa comparação geral dos resultados dos dois grupos de visco-elásticos não pudemos observar diferenças ou restrições em qualquer deles. Nossos resultados indicam que quanto ao edema de córnea, densidade celular endotelial, pressão intra-ocular e processos inflamatórios pode-se contemplar resultados seguros quando a poli-acrilamida é utilizada como visco-elástico protetor na facectomia com implante intra-ocular.

SUMMARY

Purpose: *To evaluate the clinical safety and effectiveness of the novel synthetic viscoelastic solution MEDILON (polyacrylamide).*

Methods: *60 cataract patients were randomly divided into 3 groups of 20 patients. Upon extracapsular cataract extraction Group 1 received injected air in the anterior chamber for endothelium protection, Group 2 received HEALON (sodium hyaluronate) and Group 3 received MEDILON (polyacrylamide). Preoperative and postoperative (1 day and 3 months) examinations were conducted as well as a comparative study*

between groups evaluating endothelial cell count, intraocular pressure variation, corneal thickness, incision type, postoperative complications and surgeons' subjective impressions.

Results: *Endothelial cell loss was similar in Group 2 (Healon) and Group 3 (Medilon), and higher in Group 1 (Air). Regarding all other clinical aspects there were no statistically significant differences between Groups 2 and 3. As to the surgeons subjective impressions there was a discreet preference for polyacrylamide over sodium hyaluronate.*

Conclusions: *Our results suggest that the clinical safety and effectiveness of polyacrylamide as a viscoelastic substance for intraocular use is comparable to sodium hyaluronate.*

Keywords: *Endothelial protection; Polyacrylamide; Sodium hyaluronate; Viscoelastics.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pape LG, Balazs EA. The use of sodium hyaluronate (Healon) in human anterior segment surgery. *Ophthalmology* 1980;87:699-705.
2. Graue EL, Polack FM, Balazs EA. The protective effect of sodium hyaluronate to corneal endothelium. *Exp Eye Res* 1980;31:119-27.
3. Polack FM. Healon (Na hyaluronate). A review of the literature. *Cornea* 1986;5:81-93.
4. Bourne WM, Kaufman HE. Endothelial damage associated with intraocular lenses. *Am J Ophthalmol* 1976;81:482-5.
5. Perrit RA. The use of Healon in anterior chamber lens implantation. *Am Intraocul Implant Soc J* 1982;8:55-8.
6. Bourne WM, Liesegang TJ, Walter RR et al. The effect of sodium hyaluronate on endothelial cell damage during extracapsular cataract extraction and posterior chamber lens implantation. *Am J Ophthalmol* 1984;98:759-65.
7. Holmberg AS, Philipson BT. Sodium hyaluronate in cataract surgery. 1. Report on the use of Healon in two different types of intracapsular cataract surgery. *Ophthalmology* 1984;91:45-52.
8. Idem: Sodium hyaluronate in cataract surgery, 2. Report on the use of Healon in extracapsular cataract surgery using phacoemulsification. *Ibid*: 53-9.
9. Alpar JJ. Comparison of Healon and Amvisc. *Ann Ophthalmol* 1985;17:647-51.
10. Percival SPB. Results of a clinical trial of sodium hyaluronate in lens implantation surgery. *Am Intraocul Implant Soc J* 1985;11:257-9.
11. Sharpe ED, Simmons RJ. A prospective comparison of Amvisc and Healon in cataract surgery. *J Cataract Refractive Surg* 1986;12:47-9.
12. Percival SPB. Complications from use of sodium hyaluronate (Healonid) in anterior segment surgery. *Brit J Ophthalmol* 1982;66:714-6.
13. Barron BA, Busin M, Page C et al. Comparison of the effect of Viscoat and Healon on postoperative intraocular pressure. *Am J Ophthalmol* 1985;100:377-84.
14. Embriano PG. Postoperative pressures after phacoemulsification: sodium hyaluronate vs. Sodium chondroitin sulphate-sodium hyaluronate. *Ann Ophthalmol* 1989;21:85-90.
15. Olivius E, Thorburn W. Intraocular pressure after cataract surgery with Healon. *Am Intraocul Implant Soc J* 1985;11:480-2.
16. Roberts B, Peiffer RL. Experimental evaluation of a synthetic viscoelastic material on intraocular pressure and corneal endothelium. *J Cataract Refract Surg* 1989;15:321-6.
17. Pape LG. Intracapsular and extracapsular of lens technique of lens implantation with Healon. *Am Intraocul Implant Soc J* 1980;6:342-3.
18. Miller D, Stegmann R. The use of Healon in intraocular lens implantation. *Int Ophthalmol Clin* 1982;22:177-187.
19. Frey LL. Postoperative intraocular pressure rises: a comparison of Healon, Amvisc and Viscoat. *J Cataract Refract Surg* 1989;15:415-20.
20. Lindquist DT, Edenfield B. Cytotoxicity of viscoelastics on cultured corneal epithelial cells measured by plasminogen activator release. *J Cornea Surg* 1944;10:95-102.
21. Villas-Boas ML. Ação do alil-sulfonato de sódio na câmara anterior do olho do coelho. Estudo biomicroscópico, tonométrico, citológico, histológico e de microscopia especular. SS Tese de Doutorado apresentada ao Instituto Hilton Rocha. Aprovada com louvor 1988.