

## CONSERVAÇÃO DE CÓRNEAS PARA USO EM CERATOPLASTIA \*

Dr. Joaquim Marinho de Queiroz \*\*

A impossibilidade de armazenar material fresco por tempo indefinido é uma das razões que explicam o crescente interesse atual pela conservação da córnea através de processos especiais, que assegurem a viabilidade textural durante períodos de tempo suficientemente longos.

Vários são os métodos de conservação da córnea doadora. Todos têm por objetivo propiciar, durante tempo máximo, as melhores condições de viabilidade, isto é, córneas com as propriedades necessárias de boa pega, boa transparência e, talvez reduzido potencial imunogenético.

Tais métodos podem ser grupados em duas categorias principais: A) sem extração do líquido intersticial; B) com extração do líquido intersticial.

### A) SEM EXTRAÇÃO DO LÍQUIDO INTERSTICIAL:

- 1 — Câmara úmida
- 2 — Vaselina ou Parafina Líquida
- 3 — Óleo de Fígado de Bacalhau
- 4 — Armazenamento "in vivo"
- 5 — Congelação simples
- 6 — Soluções Isotônicas:
  - a) Salina
  - b) Solução de RINGER
  - c) Solução de LOCKE
  - d) Líquor
  - e) Sangue Humano Hemolizado ou Citratado
  - f) Soro do Receptor
  - g) Meio Nutridor de Sachs

### B) COM EXTRAÇÃO DO LÍQUIDO INTERSTICIAL:

- 1 — Cal Sodada
- 2 — Formol
- 3 — Liofilização
- 4 — Silica — Gel
- 5 — Cloreto de Sódio
- 6 — Dessecação Espontânea
- 7 — Glicerina:
  - a — Várias Concentrações (até 95 por cento)
  - b — Glicerina/Congelação
  - c — Glicerina/Silica-Gel
  - d — Glicerina/Silicatos de Alumínio e Sódio ou Cálcio ("molecular-sieves")
  - e — Glicerina/Congelação/Sulfóxido de dimetila

Desde que FILATOV demonstrou a possibilidade de utilização de córneas de cadáver na cirurgia homóloga humana, os processos de conservação se têm multiplicado. FILATOV preservou córneas de cadáver em Câmara úmida e experimentou também a Cal sodada, que hoje tem apenas valor histórico (FILATOV e BAJENOVA, 1937); as córneas em Cal sodada forneceram resultados negativos em cultura e não foram enxertadas.

O método da Câmara úmida é, no entanto, ainda amplamente utilizado, anotando-se várias pequenas modificações pessoais imprimidas por cada autor. Até pouco tempo atrás era este um dos raros métodos disponíveis. Os olhos enucleados são lavados em solução de antibióticos e colocados em recipiente contendo chumaço de algodão ou pedaço de gaze embebidos em solução de antibiótico. O bulbo ocular repousa sobre o coxim com a córnea voltada para cima e livre de qualquer contato. Os recipientes são mantidos na geladeira à temperatura de mais 4 graus centígrados e o tempo de preservação é de apenas 24-48 horas ou, no máximo, 72 horas.

BUSCHKE (1951) estudou, comparativamente, córneas conservadas em Câmara úmida e em meios não aquosos. Para ele, o melhor critério para estimar a eficiência dos métodos de conservação seria o clínico. Macroscopicamente, as córneas conservadas deveriam ter as seguintes características: forma e curvatura normais, consistência firme, superfície brilhante, tumefação normal. Córneas moles ou necróticas não deviam ser empregadas.

KING, McTIGUE e MERRYMAN (1962) introduziram, no método da Câmara úmida, uma modificação que possibilitava a conservação durante período de uma semana ou mais. Substituíam o Humor aquoso por Polivinilpirrolidona (PVP) a 25 por cento e imergiam o bulbo na mesma substância, mantendo-o à temperatura de mais 4 graus centígrados.

DUQUE ESTRADA (1963) também utilizou a Câmara úmida à temperatura de 4 graus centígrados, tendo o cuidado de fazer cultura do líquido do recipiente e antibiograma, objetivando o combate específico às infecções pós-operatórias eventuais.

ROCHA (1963) empregou, durante anos, a Câmara úmida, utilizando a Penicilina como antibiótico de escolha. Até 48 horas de conservação, as córneas eram usadas com finalidade óptica, e de 48 a 72 horas,

\* Apresentada no Seminário de Córnea da Assoc. Paranaense de Oftalmologia (1977).  
\*\* (INSTITUTO DE OLHOS DO PARÁ)

apenas com finalidade terapêutica. O A. referiu, no entanto, que, quanto mais cedo as empregava, tanto melhores resultados alcançava.

Embora as córneas assim preservadas sejam viáveis tanto para a cirurgia lamelar como para a penetrante, o curto período de preservação constitui severa objeção ao método.

A Parafina líquida, preconizada por BURKI (1948) é ainda preferida por alguns autores.

ABREU FIALHO (1950) mergulhava o bulbo ocular em Parafina líquida à temperatura de mais 4 ou mais 6 graus centígrados durante período de 2 a 4 dias. Antes de ser trepanada, a córnea "respirava" durante algumas horas na atmosfera ambiente, para recuperar boa transparência. O A. preferia destacá-la do bulbo antes de imergi-la na Parafina líquida, o que representa, hoje, tendência mais ou menos generalizada neste como em alguns outros métodos.

BYCROFT (1955) conservou em Parafina líquida olhos frescos de doadores eventuais ou olhos de cadáver, enucleados até 10 horas após o óbito, mantendo-os à temperatura de mais 4 graus centígrado. Referiu bons resultados em ceratoplastias lamelares e perfurantes mediante o emprego de córneas conservadas durante 3 semanas.

STUCCHI (1963) utilizou a Parafina líquida como substância protetora, diversamente do que fizeram os autores acima referidos, que a empregaram como meio conservador propriamente dito. As córneas entravam, de início, em contato com a Parafina líquida durante 4 a 12 horas, após o que eram mergulhadas em Glicerina e congeladas a menos 79 graus centígrados. Os heterotransplantes foram decepcionantes, com eliminação sistemática dos discos enertados; os homotransplantes lamelares evoluíram muito bem e os perfurantes, de maneira acidentada e pouco satisfatória.

As Soluções isotônicas tiveram curto período de fastígio como meios de preservação. Agora estão quase tôdas marginalizadas.

Merece especial menção o trabalho de STOCKER (1965), que obteve ótimos resultados com 23 enxertos humanos perfurantes empregando córneas que permaneceram no Sôro do receptor durante 2 a 48 horas à temperatura de mais 4 graus centígrados.

MAGITOT (in STOCKER, 1965) obteve bons resultados operando um Pterígio com córnea conservada, durante uma semana, no Sangue hemolizado do receptor.

As Salinas têm o demérito de um período demasiado curto de conservação. Foram empregadas, com resultado relativo por THOMAS (in CASTROVIEJO, 1941).

O meio nutridor de SACHS (SACHS, 1957) tem apenas valor histórico, pelo menos no momento atual.

KAUFMAN (1975) mostra-se entusiasmado com o meio de cultura TC 199 associado ao Dextran a 5 por cento e a uma mistura de Estreptomina e Penicilina (100  $\mu$  p/ml) guardado à temperatura de mais 4 graus centígrados. O meio pode conter ou não vermelho neutro. Este meio de conservação foi utilizado por McCAREY e KAUFMAN (1974). As córneas nele cultivadas apresentavam espessura normal e integridade da camada endotelial até duas semanas. É um método simples pois evita a utilização de aparelhos complicados.

A congelação simples não vingou como processo de conservação de córneas doadoras. As temperaturas extremamente baixas são nocivas aos tecidos, como se depreende dos resultados obtidos por SMELZER e ORZANICS (1946), que, empregando o Nitrogênio líquido, mantinham córneas durante 4 dias à temperatura de menos 195 graus centígrados. Suas experiências se malograram.

LEOPOLD e ADLER (1947) repetiram tentativas no mesmo sentido, empregando Nitrogênio líquido, à temperatura de menos 195 graus centígrados e no vácuo. A Histologia mostrou estroma espessado e núcleos picnóticos.

A introdução do vácuo após congelação profunda, como se verifica na técnica de LEOPOLD e ADLER, irá constituir uma das etapas da Liofilização, processo desenvolvido por KING e colaboradores, e cujas peculiaridades iremos mencionar mais adiante.

Objetivando proteger os tecidos dos malefícios da congelação profunda, os pesquisadores buscaram substâncias como a Glicerina (ou a Parafina Líquida) em concentrações variadas.

EASTCOTT, CROSS, LEIGH e NORTH (1954) empregaram a Glicerina a 15 por cento. Nela mergulhavam as córneas durante uma hora, promovendo, em seguida, o congelamento a menos 96 graus centígrados, por meio de uma mistura de Dióxido de Carbono e Álcool etílico. A congelação era rápida, bem assim a descongelação. Esta se processava em banho-maria a mais 40 graus centígrados. Os enxertos lamelares, efetuados pelos AA., permaneceram claros, mas os perfurantes apresentaram evolução clínica desanimadora.

Dois anos mais tarde McPHERSON, DRAHEIM, EVANS e EARLE (1956), cultivando córneas de coelho congeladas após Glicerina e córneas congeladas simplesmente, comprovaram a função protetora daquela substância. A migração celular estava praticamente ausente nas culturas de córneas congeladas sem o prévio tratamento glicerínico, enquanto nas outras era ótima a migração de células epiteliais e fibro-

blastos. Aventaram a hipótese de que o efeito protetor da Glicerina se deveria atribuir ao poder de inibir a formação de cristais de gelo no decurso da congelação e de atuar, também, contra o súbito aumento da concentração salina dos tecidos.

A Glicerina desempenha, portanto, a função de substância protetora dos tecidos corneanos submetidos à congelação profunda e constitui, por outro lado, um meio próprio de conservação de córneas doadoras.

A Glicerina pode ser utilizada, como meio de preservação de córneas, em concentrações variadas (até 95 por cento). A concentração exerce direta influência sobre o estado de embebição da córnea e, portanto, de sua transparência, como bem demonstrou PAULO FILHO (1957). Segundo o procedimento técnico deste A. as córneas transitavam lentamente por concentrações progressivamente crescentes, demorando, ao termo, em Glicerina não diluída. Quando se encontravam na solução de Glicerina a 75 por cento, exibiam aspecto macroscópico (forma e transparência) idêntico ao de córneas frescas recém-excisadas; em solução a 25 por cento, eram leitosas e opacas. A Glicerina atua osmoticamente removendo o líquido intersticial da córnea e, provavelmente, ocupando os espaços intersticiais.

Antes de discutirmos os processos de preservação da córnea (Liofilização, Silico-dessecação, Congelação com substâncias protetoras etc.), desejamos fazer uma referência especial às experiências de BASU e ORMSBY (1959). Estes AA. surgiram uma técnica original de preservação que denominaram "Armazenamento in vivo". Ocorreu-lhes a idéia no curso de experimentações em coelhos submetidos à ceratoplastia interlamelar. Observaram que discos de córnea doadora introduzidos na intimidade do estroma das córneas de coelhos, protegidos, portanto, pelos folhetos anterior e posterior da córnea hospedeira, eram preservados na sua integridade, podiam ser facilmente removidos até 3 meses após sua implantação, e eram sempre viáveis quando testados em cultura de tecido. Em defesa de sua técnica original, argumentavam que as córneas assim armazenadas tinham seu poderio antigênico diminuído, ou pelo menos modificado, em certo sentido, em face das trocas a que estavam submetidas.

**Liofilização** — MacNAIR e KING (1955) propuseram a preservação de córneas doadoras através de sua Liofilização. As córneas eram inicialmente protegidas com Glicerina a 15 por cento, congeladas rapidamente a menos 79 graus centígrados e submetidas ao vácuo.

Lembremos que o emprego de temperaturas extremamente baixas e de vácuo no tratamento de córneas doadoras já figurava nas experiências de LEOPOLD e ADLER (1947), oito anos antes, portanto, da comu-

nicação de McNAIR e KING (1955), considerada o marco inicial da Liofilização de córneas. A diferença é que a temperatura de congelação empregada por aqueles autores era de menos 195 graus centígrados (Nitrogênio líquido) e as córneas não eram protegidas pela Glicerina ou outra substância qualquer. Tal diferença pode justificar o malôgro da tentativa de LEOPOLD e ADLER, da qual resultaram córneas inviáveis, com estroma espessado e núcleos picnóticos.

A Liofilização, segundo McNAIR e KING, era executada do seguinte modo: as córneas passavam por uma solução de Glicerina a 15 por cento em Salina isotônica, eram resfriadas em mistura de Gelo seco mais Alcool, conectadas à bomba de vácuo para remoção da água da Glicerina, e então mergulhadas em Glicerina a 80 por cento. Completamente desidratadas, permaneciam à temperatura ambiente em frascos herméticos, por tempo indefinido. Foram experimentadas após 5 meses, reidratando-se em Salina isotônica durante 20 minutos. Os enxertos lamelares em gatos permaneciam opacos durante a primeira semana e, depois, ganhavam transparência.

Em 1957, KING retomou suas experiências com o método que relatara, estudando também a preservação com Glicerina comercial a 95 por cento e empregando, por outro lado, a dessecação química pela Silica-Gel. As córneas silico-dessecadas eram também previamente tratadas pela Glicerina.

PAYRAU, BONEL e GUYARD (1958) sistematizaram a técnica de Liofilização do seguinte modo: os bulbos oculares mergulhavam em uma mistura de Alcool a 90 por cento e Neve carbônica, cuja temperatura atingia a menos 79 graus centígrados. Eram depositados, em seguida, em uma cuba de dessecação, mantendo-se temperatura constante de menos 50 graus centígrados e submetidos a vácuo durante 18 a 20 horas. Os recipientes contendo as córneas eram depois hermeticamente fechados e mantidos à temperatura ambiente. A reidratação se conseguia por imersão em salina com temperatura de mais 35 graus centígrados, durante 30 a 60 minutos (quando as córneas iam servir ao transplante animal) ou durante 60 a 90 minutos (quando se destinavam ao transplante humano). Os AA. exprimiram a crença de que a Liofilização tendia a aproximar os hétero dos homotransplantes, sob o ponto de vista imunológico, diminuindo-lhes a antigenicidade. Conceituaram, por outro lado, que eram enxertos mortos, que representavam esqueletos conjuntivos a serem reabilitados por células do hospedeiro, à modo dos enxertos de NAGEOTTE. A respiração era nula pelo WARBURG e não havia migração celular em cultura de tecido.

Posteriormente PAYRAU, POULIQUEN e FAURE (1961) comunicaram os primeiros resultados clínicos de heterotransplantes experimentais com o emprego de córneas liofilizadas e silico-dessecadas, comprovando sua impressão inicial de diminuição da antigenicidade. Aconselharam o emprego das córneas liofilizadas e silico-dessecadas com finalidade terapêutica, trófica e anti-vascularização.

Na mesma linha de pensamento, WATANABE e TSUTSUI (1961), em estudo eletroforético das proteínas da córnea concluíram pela diminuição da antigenicidade das córneas liofilizadas em comparação com as frescas.

Em síntese, as córneas liofilizadas conservam-se indefinidamente e são úteis para os transplantes lamelares humanos, mas não para os perfurantes.

**Silica-Gel** — PAYRAU e POULIQUEN (1959, 1960) propuseram, como método mais simples que a Liofilização, a dessecação pela Silica-Gel. A Silica-Gel apresenta-se como cristais azuis, microporosos, que se tornam róseos quando em contato com a umidade. Absorvem água em quantidade igual a cinco vezes o seu peso, o que explica seu energético poder desidratante. O procedimento técnico dos AA. franceses desenvolve-se nas seguintes etapas: as córneas são excisadas com estreita reborda escleral e mergulhadas em salina estéril; em seguida, são envolvidas em papel celofane, que as protege do contato direto com os cristais da Silica-Gel, e introduzidas na intimidade do meio de preservação. Quando os cristais da Silica-Gel adquirem tonalidade rósea, pela embebição, o meio deve ser renovado.

A esterilização do recipiente contendo a Silica-Gel é feita pelo calor e a do papel celofane, pelo Alcool. As córneas silico-dessecadas apresentam-se delgadas, transparentes, duras, pregueadas, e assim permanecem, à temperatura ambiente, por período de tempo indefinido. O exame histológico mostrou epitélio de estrutura normal estroma com algumas lacunas e endotélio conservado, o que seria uma das vantagens da Silico-dessecação.

O método da Silica-Gel evoluiu com algumas modificações que devemos anotar.

Como vimos ao se tratar da Liofilização, KING (1957) defendeu o mérito da Glicerina como substância protetora das córneas a serem silico-dessecadas.

Três anos depois os próprios idealizadores do método (PAYRAU e POULIQUEN, 1960) associaram-lhe a congelação, com o objetivo de garantir a esterilização, o que, para KING (1961), constituía uma complicação indevida, mas valendo, em sua opinião, a "dessecação simples", sem congelação.

KING, McTIGUE e MERRYMAN, (1962), no mesmo trabalho em que defenderam a

substituição do Humor aquoso por Polivinilpirrolidona (PVD), propuseram a substituição da Silica-Gel por Silicatos de Alumínio e Sódio ou Cálcio, substâncias inertes, com a propriedade de absorver água a temperaturas extremamente baixas.

A nosso ver e de acordo com a experiência consignada na Literatura, a Liofilização e a dessecação pela Silica-Gel não apresentam diferenças essenciais no que diz respeito aos resultados. As córneas, conservadas por qualquer desses métodos, apresentam-se com características idênticas de forma, estrutura e comportamento, podendo ser enxertadas após longos períodos de preservação. Quanto às finalidades, embora os autores franceses tenham referido endotélio conservado nas córneas silico-dessecadas, não cremos constitua tal fato uma superioridade destas córneas em relação às liofilizadas, desde que elas também não se prestam aos transplantes perfurantes.

As córneas liofilizadas ou silico-dessecadas só se prestam bem à técnica lamelar, preenchendo as finalidades terapêutica, trófica, anti-vascular, etc., como bem acentuam PAYRAU, POULIQUEN e FAURE (1961). Assim sendo, a superioridade da Silico-dessecação, residiria em ser processo mais simples que a Liofilização, prescindindo da congelação profunda e do vácuo, e em promover dessecação talvez menos violenta. Atualmente a Liofilização perde terreno para a Silico-dessecação.

Dentre os processos que promovem a dessecação da córnea, merece também especial referência a **Dessecação espontânea** idealizada por URRETS-ZAVALIA (1963) (1964). É um método extremamente simples, que, segundo seu proponente, preenche todos os requisitos das técnicas de Liofilização e Silico-dessecação. As córneas são trepanadas em condições assépticas e os discos colocados em recipientes de vidro que permanecem na geladeira a mais 4 graus centígrados, em atmosfera com umidade relativa de menos de 80 por cento. Os recipientes ficam cobertos frouxamente durante dois dias (período suficiente à dessecação) e, em seguida, são herméticamente fechados, permanecendo indefinidamente à temperatura ambiente. A reidratação é feita durante 10 minutos em salina com Penicilina.

**Congelação após tratamento com substâncias protetoras** — Como vimos linhas atrás, a Congelação simples foi abandonada pelas lesões texturais que produzia. No entanto, a congelação de córneas previamente tratadas com substâncias protetoras cujo paradigma é a Glicerina vem sendo praticada por muitos pesquisadores e constitui a base de métodos grandemente promissores sob certos aspectos, particularmente no que respeita à notável conquista que representam a manutenção da integridade e da higidez do endotélio corneano.

POLGE, SMITH e PARKES (1949), desidratando espermatozoides de aves pela congelação em solução de Glicerina, verificavam recuperação da mobilidade em seguida à descongelação. Este trabalho, que destaca a importância da Glicerina como substância protetora, atraiu a atenção dos autores que se preocupavam com a conservação de córneas.

EASTCOTT, CROSS, LEIG e NORTH (1954) promoveram a congelação de córneas a menos 69 graus centígrados (Dióxido de carbono mais álcool etílico), tratando-as previamente com Glicerina a 15 por cento em solução de Ringer com pH 6. O resfriamento era rápido, como convinha, para contornar os inconvenientes da cristalização. Também o era o descongelamento, feito pela imersão dos recipientes, onde as córneas se encontravam, em banho-maria a mais 40 graus centígrados. Descongeladas, as córneas eram reidratadas em salina contendo Penicilina. Os resultados do emprego das córneas assim tratadas foram bastante promissores permanecendo claros os enxertos lamelares, embora os perfurantes evoluíssem de modo pouco satisfatório. Os AA. afirmavam que estas córneas propiciavam resultados iguais aos obtidos nos transplantes lamelares com córneas frescas, com a superioridade do tempo indefinido de conservação e da viabilidade do material.

Dois anos mais tarde surge o interessante trabalho de McPHERSON, DRAHEIM, EVANS e EARLE (1956), que comparava córneas simplesmente congeladas e córneas congeladas sob a proteção da Glicerina. Praticando cultura de tecido com essas córneas, observaram que nas contrôles (frescas) havia ótima migração de células epiteliais e fibroblastos; nas preservadas com Glicerina mais congelação, esta migração era, inicialmente, retardada, mas em seguida se manifestava com o mesmo vigor observado nas contrôles, a ponto de não ser possível diferenciar os dois grupos; nas córneas simplesmente congeladas, no entanto, a migração era praticamente ausente. Concluíram, assim, pela superioridade da congelação sob proteção da Glicerina, interpretando o efeito protetor desta substância como devido à inibição da formação de cristais de gelo e à prevenção do aumento súbito da concentração salina. Posteriormente os mesmos AA. (DRAHEIM, McPHERSON, EVANS e EARLE, 1957) adivizaram um achado que lhes parecia significativo: os antibióticos empregados no tratamento prévio das córneas a serem congeladas produziam leve mas persistente distúrbio de transparência, o que não se verificava se a esterilização se fazia por meio de raios ultravioleta ou radiações ionizantes.

Os estudos se multiplicaram nesta tripla, surgindo, aqui e acolá, pequenas varia-

ções pessoais e alguma discordância quanto aos resultados.

STOCKER, MATTON-VAN LEUVEN, GEORGIADÉ e GEORGIADÉ (1960, 1961) empregaram temperaturas de menos 45 graus centígrados e menos 79 graus centígrados, conseguindo, no primeiro caso, tempo de preservação de 56 a 61 semanas e, no segundo, de 51 a 59 semanas. Não se animaram, porém, ao emprego rotineiro, em casos humanos, de córneas assim preservadas, embora pudessem elas atender às emergências, na falta de córneas frescas.

STUCCHI (1963) propôs sua variante técnica representada pelo contato das córneas com a Parafina líquida (4 a 12 horas), antes de receberem o tratamento prévio com a Glicerina e posterior congelação a menos 69 graus centígrados. Este A. mostrou-se mais entusiasmado com os transplantes humanos que realizou, não obstante sua experiência com heterotransplante fosse desalentadora, havendo eliminação sistemática dos enxertos. Seus homotransplantes lamelares humanos foram ótimos.

PLATTS e REED (1963) estudaram comparativamente o efeito protetor da Glicerina e do Sulfoxido de dimetila na congelação a menos 79 graus centígrados, demonstrando, o cultivo de córneas tratadas com uma ou outra dessas substâncias, superioridade da Glicerina. Fizeram referência a LAVELLOCK e BISHOP, que em 1959 já empregavam o Sulfoxido de dimetila, solo neutro de peso molecular baixo, ao qual as células vivas seriam mais permeáveis.

Esta substância, que nos resultados de PLATTS e REED, acima notificados, parecia inferiorizada, desempenha atualmente papel destacado na proteção do endotélio de córneas preservadas pela congelação. Assim é que LEIGH e MOORE (in PERKINS, GLOSTER e ARDEN, 1963) referiram que haviam obtido endotélios viáveis em córneas submetidas à temperatura de menos 79 graus centígrados após imersão dos bulbos oculares em solução sérica de Glicerina a 10 por cento e substituição do Humor aquoso por Sulfoxido de dimetila em solução sérica a 7,5 por cento. Empregando essas córneas após um mês de conservação, realizaram enxertos perfurantes homólogos em animais, com resultados satisfatórios. Estudos histológicos e histoquímicos demonstravam boas condições dos mucopolissacarídeos e sobrevivência do endotélio.

Caminhando nesta direção, MUELLER, CASEY e TREVOR-ROPER (1964), filiados ao mesmo serviço (Instituto de Oftalmologia de Londres), usando, praticamente, a mesma técnica de conservação de GLOSTER e ARDEN, realizaram enxertos humanos perfurantes com córneas conservadas durante 10 a 29 dias e obtiveram resultados

altamente animadores. De 9 transplantes, 7 forneceram ótimos resultados, sendo 2 ainda promissores após o terceiro mês de observação, insucesso parcial que os AA. atribuíram a defeitos de ordem técnico-cirúrgica.

Esta inovação técnica, representada pelo emprego do Sulfóxido de dimetila no sentido da proteção do endotélio das córneas preservadas pela congelação, abre novas perspectivas, acenando com a possibilidade de êxito na ceratoplastia perfurante com córneas preservadas durante longos períodos.

KAUFMAN (1975) afirma ser a congelação processo muito difundido em alguns centros médicos. O material assim conservado é comparável ao tecido corneano fresco, permitindo a realização da cirurgia em condições mais favoráveis. Para o A. é da maior importância o critério seletivo da córnea doadora; doador jovem, entre 3 a 50 anos de idade; bulbo ocular enucleado nas primeiras 6 horas do óbito e imediata lavagem em solução de antibiótico. A córnea, com pequena margem escleral (2mm) é removida e mergulhada em quatro banhos sucessivos de uma solução de albumina humana a 25 por cento em concentração variada de DMSO (sulfóxido de dimetila) e sucrose. O tempo de permanência em cada banho é de aproximadamente 10 minutos.

No último banho a córnea se manterá e, então, transferida para um recipiente plástico onde é congelada a menos 80 graus centígrados e por fim armazenada a menos 196 graus centígrados.

No momento de usá-la, o frasco que a contém é mergulhado em água a mais 60 graus centígrados durante 50 segundos, delicadamente agitado e, em seguida deixado à temperatura ambiente na solução de albumina humana a 25 por cento pronta para uso.

Essas córneas assim congeladas deveriam ser usadas de preferência nas emergências e em pacientes com bom endotélio na periferia (Ceratocone); não usá-las em olhos com Distrofia de Fuchs.

ROBBINS, CAPELLA, KAUFMAN (1965) admitem a curva de resfriamento ou seja a queda gradual de temperatura de mais 6 graus centígrados até menos 14 graus centígrados o ideal, e, resfriamento subsequente até menos 80 graus centígrados. Para os AA. a temperatura de armazenamento era de menos 160 a menos 196 graus centígrados.

Com esse cuidado, seria possível obter córneas com endotélio viável, ótimas para Ceratoplastia perfurante.

Pelo processo de POLACK (1970), as córneas eram mergulhadas em 4 soluções crescentes de albumina sérica, sulfóxido de dimetila e sucrose e em seguida congeladas. De início a congelação era lenta, tem-

peratura de mais 10 graus centígrados a menos 9 graus centígrados e posteriormente a menos 80 graus centígrados e, então armazenadas no Nitrogênio líquido a menos 150 graus centígrados.

O descongelamento era obtido na imersão em banho-maria a mais 60 graus centígrados.

Quando tais córneas não eram destinadas ao Nitrogênio líquido eram submetidas a resfriamento controlado no congelador e, então, colocadas em recipientes de isopor com gelo seco para preservação à curto prazo ou transporte à distância.

AQUAVELA, VAN HORN e HAGGERTY (1975) conservando córneas no meio de cultura de tecido de McCAREY e KAUFMAN — TC 199 não verificaram alterações ultra-estruturais no endotélio após conservação por 48 horas; estavam porém presentes, naquelas conservadas por 96 horas.

Os resultados clínicos foram muito satisfatórios quando tais córneas foram usadas antes de 80 horas.

É, sem dúvida, no momento um dos melhores métodos de conservação de córneas. É simples, evita o emprego de aparelhos sofisticados.

**Conservação pelo CLORETO DE SÓDIO** — O Cloreto de Sódio, por nós usado como meio de conservação, constitui um método simples de desidratação textural.

Logo no início introduzíamos a córnea diretamente no Cloreto de Sódio, mas, verificando a nocividade dos cristais, passamos a envolvê-la em papel de celofane, para em seguida colocá-la no meio conservador, sobre um papel de filtro.

O objetivo do papel de filtro é impedir o contato direto do sal com os tecidos, manter a curvatura corneana e evitar sulcos que por certo iriam interferir nos resultados; a córnea fica livre de qualquer contato.

A nossa experiência com córneas conservadas pelo Cloreto de sódio empregadas na cirurgia perfurante humana foi decepcionante.

Nossa experiência na Ceratoplastia Lamelar humana com córneas conservadas pelo Cloreto de Sódio foi satisfatória. Vale destacar o sucesso dos heterotransplantes que realizamos empregando córnea de coelho e de galinha. A característica clínica geral destas operações foi a ausência de reação violenta do receptor e transparência final satisfatória.

Podemos admitir, de acordo com nossa atual experiência, que a técnica de preservação de córneas pelo Cloreto de sódio fornece resultados comparáveis aos que a Liofilização e a Silico-dessecação propiciaram a outros autores através da cirurgia lamelar.

Atualmente os métodos de conservação da córnea doadora assim se classificam:

a) curto prazo (câmara úmida a 4°C; b) médio prazo (meio de McCAREY e KAUFMAN — TC 199); c) longo prazo (congelção a — 196°C).

A preferência ainda é pela câmara úmida a 4°C; doador jovem de 3 a 50 anos de idade; remoção do globo ocular entre 2 e 4 horas após o óbito. Nos climas quentes colocar sobre os bulbos oculares com pálpebras ocluídas cubos de gelo; dispensável se o cadáver foi colocado em geladeira.

#### BIBLIOGRAFIA

- AQUAVELLA, J. V.; VAN HORN, D. L. and HAGGERTY, C. J. — 1975 — Corneal preservation using MK medium. — *Am. J. Ophthalm.* 80: 791-799.
- ABREU FIALHO, S. — 1960 — Conservation de la cornée de cadavre par immersion du globe oculaire dans l'huile de paraffine maintenue a 4°C ou 6°C — *Ann. d'Ocul.*, 183: 563-569.
- BASU, P. K. and ORMSBY, H. L. — 1959 — In-vivo storage of corneal graft — *Am. J. Ophthalm.*, 47: 191-195.
- BUSCHKE, K. — 1951 — Studies on experimental corneal storage. (Bibliographic survey: observations on water uptake and corneal stroma cells) — *Am. J. Ophthalm.*, 34: 153-164.
- DRAHEIM, J.; McPHERSON, J. D. and EARLE, W. R. — 1957 — Further studies on the viability of frozen corneas (as determined in tissue culture). — *Am. J. Ophthalm.*, 43, 44: 183-189.
- DUQUE ESTRADA, W. — 1963 — Technique of partial penetrating optic keratoplasty in Keratoplasty. The Eye and Diabetes. *Int. Ophthalm. Clin.* 3:(3) — 499-514 Boston. Little Brown and Company, Edited by W. Duque Estrada, MD
- EASTCOTT, H. H. G.; CROSS, A. G. and NORTH, D. P. — 1954 — Preservation of corneal graft by freezing. — *Lancet*, 1: 237-239.
- FILATOV, W. P. et BAJENOVA, M. A. — 1937 — Culture des tissus de la cornée desseché — *Arch. d'Ophthalm.*, 1: 385-390.
- KING, J. H. — 1957 — Keratoplasty. Experimental studies with corneas preserved by dehydration. — *Am. J. Ophthalm.*, 43: 353-380.
- KING, J. H.; McTIGUE, J. W. and MERRYMAN, H. T. — 1962 — Preservation of cornea. — *Am. J. Ophthalm.*, 53: 445-449.
- KAUFMAN, H. — 1975 — Corneal cryopreservation and its clinical application — *Arch. Ophthalm.* 35: 201-210.
- LEOPOLD, H. I. and ADLER, H. F. — 1947 — Use of frozen dried cornea as transplant material. — *Arch. Ophthalm.* 37: 268-276.
- McNAIR, J. N. and KING, J. H. — 1955 — Preservation of cornea by dehydration. — *Arch. Ophthalm.* 53: 519-521.
- McPHERSON, Jr. S. D.; DRAHEIM, J. W.; EVANS, V. J. and EARLE, W. R. — 1956 — The viability of fresh and frozen corneas (as determined) in tissue culture. — *Am. J. Ophthalm.* 41: 513-519.
- MUELLER, F. O.; CASEY, T. A. and TREVOR-ROPER, P. D. — 1964 — Use of deep frozen human cornea in full-thickness grafts. — *Brit. Med. J.*, 5407: 473-480.
- McCAREY, B. E. and KAUFMAN, H. E. — 1974 — Improved corneal storage. *Invest. Ophthalm.* 13: 165.
- PAYRAU, P.; BONEL, L. et GUYARD, M. — 1958 — Keratoplasties homogenes et heterogenes pratiquées avec des greffons conservés par le méthode de lyophilisation. — *Ann. d'Ocul.*, 191: 636-669.
- PAYRAU, P. et POULIQUEN, Y. — 1959 — Une procédé pratique de conservation des cornées et des sclères. — *Bul. Soc. Ophth. (France)*, 3: 209-212.
- PAYRAU, P.; POULIQUEN, Y. et FAURE, J. P. — 1961 — Heterogreffes de la cornée. Etude expérimentale et premiers résultats cliniques. — *Ann. d'Ocul.*, 194: 1-30.
- PERKINS, E. S.; GLOSTER, J. and ARDEN, G. B. — 1963 — Institute of Ophthalmology Eye Hospital. Sixteenth annual report. Department of experimental Ophthalmology, 27-28.
- PAULO, FILHO A. — 1957 — Aspectos histológicos da córnea conservada. Contribuição ao estudo experimental. — Tese. Rio de Janeiro.
- PLATTS, S. and REED, H. — 1963 — Use of dimethyl sulphoxide for preserving corneal tissue. — *Brit. J. Ophthalm.*, 47: 334-338.
- POLGE, C.; SMITH, A. V. and PARKES, A. S. — 1949 — Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. — *Nature*, 164: 666.
- POLACK, F. M. — 1970 — Modified corneal cryopreservation method. In corneal and external diseases of the eye. First Inter-American Symposium, Ed. M. Polack. Springfield — Charles C. Thomas pp. 363.
- ROBBINS, J. E.; CAPELLA, J. A. and KAUFMAN, H. E. — 1965 — A study of endothelium in Keratoplasty and corneal preservation — *Arch. Ophthalm.* 73: 242.
- SACHS, A. — 1957 — A new method for the storage of donor eyes for corneal grafts. — *Brit. J. Ophthalm.* 41: 558-561.
- STOCKER, F. W.; MATTON-VAN LEUVEN, M. T. I.; EIRING, A.; GEORGIADÉ, R. and GEORGIADÉ, N. — 1960 — Long term preservation of donor tissues for corneal grafting: correlation of results from tissue culture with those from experimental graftings. — *Am. J. Ophthalm.*, 49: 729-740.
- STOCKER, F. W.; MATTON-VANLEUVEN, M. T. L.; EIRING, A.; GEORGIADÉ, R. and GEORGIADÉ, N. — 1961 — Morphologic and histochemical changes occurring in cat corneas during long-term glycerol freezing. — *Am. J. Ophthalm.*, 51: 579-584.
- STUCCHI, C. A. — 1963 — Keratoplasties lamellaires et transfixantes avec homogreffes sur congelées. (Premiers résultats). — *Ophthalmologica*, 145: 306-311.
- URRETS-ZAVALIA, Jr. A. — 1963 — Keratoplasties lamellaires avec greffons conservés par dessecation spontanée. — *Bull. Soc. Ophth. (France)*, 76: 547-557.
- URRETS-ZAVALIA, Jr. A. — 1964 — Spontaneous desiccation of corneal donor material. — *Am. J. Ophthalm.*, 57: 247-255.