

## ESTADO ATUAL DOS TRANSPLANTES DE CÓRNEA (\*)

LUIZ EURICO FERREIRA (\*\*)

Graças ao progresso verificado nos últimos anos em diversos setores do conhecimento humano, a cirurgia do transplante de córnea tomou nova posição. Por um lado, foram as indicações ampliadas e, por outro lado, voltou o enxerto de córnea a merecer atenção pelo aspecto imunológico.

Lamentavelmente, entre nós, os transplantes de córnea não chegaram ao lugar de grandeza verificado em outros países. O grande óbice para sua difusão em nossa terra é a falta de material doador. Os impecilhos de ordem legal desafiam nossa força e nosso prestígio. É imperioso resolver esse angustiante problema no Brasil.

Do ponto de vista científico, no entanto, a colaboração brasileira tem se manifestado de modo brilhante, como ressalta das observações de dessecação da córnea em atmosfera livre, feitas por Abreu Fialho (1948) e ainda pelo mesmo autor (1950) a conservação em óleo de parafina, os estudos histológicos feitos por Paulo Filho (1957) em córneas conservadas pela glicerina e, finalmente, entre outras, as contribuições da Escola de Hilton Rocha. Os estudos feitos no Hospital São Geraldo destacaram-se no desenvolvimento de técnicas experimentais e, sobretudo, de imunologia com idéias pioneiras. Cumpre ressaltar, como homenagem e gratidão, de brasileiros que somos, os nomes de Hilton Rocha (1961 a 1975), Joaquim Marinho de Queiroz (1961-1966) Lucyr Antunes (1965 a 1975), Paulo Gustavo Galvão (1965 a 1975) e Osvaldo Travassos de Medeiros (1973).

O transplante de córnea representa importante papel médico social no combate à cegueira, cuja maior causa, segundo dados da Organização Mundial de Saúde, é representado pelas doenças da córnea. Nos Estados Unidos são estimados serem realizados anualmente 2.000 enxertos de córnea; enquanto na Inglaterra estima-se em 500 por ano. Esses números dão uma proporção de 1 a 2 transplantes por 100.000 habitantes (Jones, 1973). No Brasil, não conhecemos dados a respeito, mas, podemos assegurar que realizamos muito menos transplantes do que necessitamos.

---

(\*) Trabalho do Instituto Brasileiro de Oftalmologia e apresentado em conferência especial no curso de atualização da Associação dos Ex-residentes e Estagiários do Hospital São Geraldo (Serviço do Prof. Hilton Rocha) — março, 1975.

(\*\*) Professor Titular da Universidade Gama Filho, Diretor do Instituto Brasileiro de Oftalmologia — Rio de Janeiro — Brasil.

## INDICAÇÕES

As indicações do enxerto de córnea podem ser esquematizadas em cinco grupos: 1. Refrativa; 2. Terapêutica; 3. Recuperadora; 4. Estética 5. Mista.

A ceratoplastia refrativa iniciada por J. S. Barraquer (1949), teve seu coroamento entre 1967 a 1970 quando retomada e definitivamente consagrada pelo mesmo ilustre cirurgião. Sendo a córnea o maior dioptra ocular, foi natural a tentativa de procurar solucionar certos vícios de refração importantes através de modificações no poder dióptrico dessa membrana ocular. Existem duas maneiras básicas de executar a ceratoplastia refrativa: ceratomileuse e ceratofacia. A ceratomileuse consta da retirada de um lenticulo estromal da córnea, levá-lo ao forno após congelação, modificar sua curvatura conforme cálculos previamente realizados e colocá-lo novamente em seu lugar. A ceratofacia é feita através de implante de um disco homólogo de curvatura previamente preparada no estroma profundo do receptor. Os cálculos matemáticos são elaborados através de minicomputadores e a cirurgia realizada sob microscopia. No momento, a principal indicação da ceratoplastia refrativa é a anisometropia, podendo ser realizada também em altas ametropias inclusive na afacia .

A ceratoplastia terapêutica é destinada ao tratamento de doenças de córnea rebeldes ao tratamento médico, tais como úlceras em vias de perfuração ou perfuradas, herpes recidivantes, ceratomicoses e outras formas de ceratite, etc. Com a segurança técnica atual e com os conhecimentos da patologia do pós-operatório, esta modalidade de indicação vem sendo ampliada dia a dia.

A ceratoplastia recuperadora é feita com a finalidade de restaurar a função visual perdida total ou parcialmente por opacificação da córnea. Esta constitui a forma mais freqüente de indicação.

A ceratoplastia estética pode ser realizada em pacientes portadores de opacificação corneana inestética e sem possibilidade visual, como, por exemplo, na presença de grande e antiga ambliopia.

A ceratoplastia mista é aquela que comporta mais de uma das formas de indicação estudadas acima. Ao mesmo tempo que recuperamos a função de um olho portador de leucoma desfigurante através de ceratoplastia, também resolvemos o problema cosmético.

Os aspectos principais, que a nosso ver, caracterizam o estado atual dos transplantes de córnea dizem respeito aos seguintes tópicos: seleção do material doador, aprimoramento técnico da cirurgia e do instrumental e, finalmente, identificação e controle das complicações.

### SELEÇÃO DO MATERIAL DOADOR:

Ainda hoje a melhor impressão que se tem da viabilidade do material doador é aquela obtida da observação do comportamento clínico do material enxertado e do receptor.

O material doador pode ser usado fresco ou após períodos variáveis de conservação.

Para a cirurgia da córnea, consideramos material fresco, aquele que é retirado do cadáver: algumas horas após a morte, guardado em atmosfera úmida, a temperatura de 4°C e implantado no receptor, dentro de 24 horas, ou, no máximo, 48 horas.

Está provado clínica e experimentalmente, que a integridade endotelial é indispensável para o êxito do enxerto. Algumas condições do indivíduo doador podem perturbar a estrutura e função do endotélio. Podemos dividir essas condições em dois grupos:

- a) aquelas que ocorrem antes da morte, como a idade e a maneira de morte;
- b) aquelas que acontecem depois da morte, como o lapso de tempo decorrido entre a morte e a enucleação, o lapso entre esta e a estocagem na câmara úmida e, finalmente, o tempo mantido nesta até a aplicação no receptor.

De modo geral, nos locais em que há facilidade de material, os cirurgiões preferem córneas oriundas de doadores com idade compreendida entre 15 e 50 anos. Sabe-se que alterações degenerativas corneanas são encontradas com maior freqüência nas idades avançadas (Kaufman et al. 1965, 1966). Corroborando com esta assertiva estão os estudos de Hoefle (1969), que encontrou "in vitro" maior permeabilidade do endotélio a não eletrólitos, tais como uréia e sucrose em córneas de pessoas idosas. Por outro lado, as córneas de pessoas abaixo de 12 anos, devem ser evitadas pela flacidez, hidrofília e morfologia diferente (Sherrard, 1973).

No que se refere à maneira da morte, encontramos apenas esparsas referências. Stocker (1969), por exemplo, não encontrou células endoteliais em uma senhora que morreu de câncer com grande edema e demorou dois dias em estágio terminal.

A remoção dos olhos deve ser feita o mais precocemente possível, o que na prática se torna difícil. De modo geral, o maior lapso de tempo aceito na obtenção de olhos para transplante penetrante é de 6h (Sherrard, 1973), e até mesmo 8h (King, 1970). Estudos experimentais demonstram que em prazos superiores a este limite, ocorrem alterações acentuadas no endotélio, seja por poluição do aquoso (Maurice, 1969), seja por privação de oxigênio (Langham, 1960) ou seja ainda, por fatores ainda não suficientemente estudados.

Pollack (1973) verificou destruição de 30 a 50% do endotélio em olhos enucleados de cadáveres conservados por 15h em temperaturas superiores a 4°C. Já, em cadáveres conservados à temperatura de 4°C, a destruição atingiu o percentual de 10 a 30 no prazo de 48h, 50% em 77h, 90% em 80h e 100% em 100h.

Hoje em dia, com a facilidade dos recipientes de poliestireno, o lapso de tempo entre a remoção dos olhos e sua colocação em câmara úmida refrigerada tornou-se extremamente reduzido. Na verdade, estes recipientes apresentam temperatura em torno de 9°C a 10°C, segundo observações de vários autores (Michell, 1973; Cassey, 1973). Harris (1973) conseguiu

## INDICAÇÕES

As indicações do enxerto de córnea podem ser esquematizadas em cinco grupos: 1. Refrativa; 2. Terapêutica; 3. Recuperadora; 4. Estética 5. Mista.

A ceratoplastia refrativa iniciada por J. S. Barraquer (1949), teve seu coroamento entre 1967 a 1970 quando retomada e definitivamente consagrada pelo mesmo ilustre cirurgião. Sendo a córnea o maior dioptra ocular, foi natural a tentativa de procurar solucionar certos vícios de refração importantes através de modificações no poder dióptrico dessa membrana ocular. Existem duas maneiras básicas de executar a ceratoplastia refrativa: ceratomileuse e ceratofacia. A ceratomileuse consta da retirada de um lenticulo estromal da córnea, levá-lo ao forno após congelação, modificar sua curvatura conforme cálculos previamente realizados e colocá-lo novamente em seu lugar. A ceratofacia é feita através de implante de um disco homólogo de curvatura previamente preparada no estroma profundo do receptor. Os cálculos matemáticos são elaborados através de minicomputadores e a cirurgia realizada sob microscopia. No momento, a principal indicação da ceratoplastia refrativa é a anisometropia, podendo ser realizada também em altas ametropias inclusive na afacia .

A ceratoplastia terapêutica é destinada ao tratamento de doenças de córnea rebeldes ao tratamento médico, tais como úlceras em vias de perfuração ou perfuradas, herpes recidivantes, ceratomicoses e outras formas de ceratite, etc. Com a segurança técnica atual e com os conhecimentos da patologia do pós-operatório, esta modalidade de indicação vem sendo ampliada dia a dia.

A ceratoplastia recuperadora é feita com a finalidade de restaurar a função visual perdida total ou parcialmente por opacificação da córnea. Esta constitui a forma mais freqüente de indicação.

A ceratoplastia estética pode ser realizada em pacientes portadores de opacificação corneana inestética e sem possibilidade visual, como, por exemplo, na presença de grande e antiga ambliopia.

A ceratoplastia mista é aquela que comporta mais de uma das formas de indicação estudadas acima. Ao mesmo tempo que recuperamos a função de um olho portador de leucoma desfigurante através de ceratoplastia, também resolvemos o problema cosmético.

Os aspectos principais, que a nosso ver, caracterizam o estado atual dos transplantes de córnea dizem respeito aos seguintes tópicos: seleção do material doador, aprimoramento técnico da cirurgia e do instrumental e, finalmente, identificação e controle das complicações.

### SELEÇÃO DO MATERIAL DOADOR:

Ainda hoje a melhor impressão que se tem da viabilidade do material doador é aquela obtida da observação do comportamento clínico do material enxertado e do receptor.

O material doador pode ser usado fresco ou após períodos variáveis de conservação.

Para a cirurgia da córnea, consideramos material fresco, aquele que é retirado do cadáver algumas horas após a morte, guardado em atmosfera úmida, a temperatura de 4°C e implantado no receptor, dentro de 24 horas, ou, no máximo, 48 horas.

Está provado clínica e experimentalmente, que a integridade endotelial é indispensável para o êxito do enxerto. Algumas condições do indivíduo doador podem perturbar a estrutura e função do endotélio. Podemos dividir essas condições em dois grupos:

- a) aquelas que ocorrem antes da morte, como a idade e a maneira de morte;
- b) aquelas que acontecem depois da morte, como o lapso de tempo decorrido entre a morte e a enucleação, o lapso entre esta e a estocagem na câmara úmida e, finalmente, o tempo mantido nesta até a aplicação no receptor.

De modo geral, nos locais em que há facilidade de material, os cirurgiões preferem córneas oriundas de doadores com idade compreendida entre 15 e 50 anos. Sabe-se que alterações degenerativas corneanas são encontradas com maior freqüência nas idades avançadas (Kaufman et al. 1965, 1966). Corroborando com esta assertiva estão os estudos de Hoefle (1969), que encontrou "in vitro" maior permeabilidade do endotélio a não eletrólitos, tais como uréia e sucrose em córneas de pessoas idosas. Por outro lado, as córneas de pessoas abaixo de 12 anos, devem ser evitadas pela flacidez, hidrofilia e morfologia diferente (Sherrard, 1973).

No que se refere à maneira da morte, encontramos apenas esparsas referências. Stocker (1969), por exemplo, não encontrou células endoteliais em uma senhora que morreu de câncer com grande edema e demorou dois dias em estágio terminal.

A remoção dos olhos deve ser feita o mais precocemente possível, o que na prática se torna difícil. De modo geral, o maior lapso de tempo aceito na obtenção de olhos para transplante penetrante é de 6h (Sherrard, 1973), e até mesmo 8h (King, 1970). Estudos experimentais demonstram que em prazos superiores a este limite, ocorrem alterações acentuadas no endotélio, seja por poluição do aquoso (Maurice, 1969), seja por privação de oxigênio (Langham, 1960) ou seja ainda, por fatores ainda não suficientemente estudados.

Pollack (1973) verificou destruição de 30 a 50% do endotélio em olhos enucleados de cadáveres conservados por 15h em temperaturas superiores a 4°C. Já, em cadáveres conservados à temperatura de 4°C, a destruição atingiu o percentual de 10 a 30 no prazo de 48h, 50% em 77h, 90% em 80h e 100% em 100h.

Hoje em dia, com a facilidade dos recipientes de poliestireno, o lapso de tempo entre a remoção dos olhos e sua colocação em câmara úmida refrigerada tornou-se extremamente reduzido. Na verdade, estes recipientes apresentam temperatura em torno de 9°C a 10°C, segundo observações de vários autores (Michell, 1973; Cassey, 1973). Harris (1973) conseguiu

imaginar e fazer construir um recipiente de poliestireno que mantém a temperatura em cerca de 4°C por 24h, estando o ambiente exterior a 25°C. Dentro do "container" e em torno dos frascos contendo os olhos, são colocados cubos de gelo seco em sacos plásticos.

Outro cuidado que se faz fundamental para conservar da melhor forma possível o endotélio corneano, é a manutenção firme do olho, mas sem pressão exagerada, durante o transplante. Para esse fim Elstein (1973) desenvolveu modelo próprio que me parece bem interessante.

Outro aspecto que merece ser referido é o que diz respeito às condições gerais do doador. As opiniões variam muito e encontramos os mais diversos dados na literatura. Olhos oriundos de portadores de hepatite, de septicemia e de leucemia plástica aguda devem ser evitados para transplante, segundo Keates (1973). Este autor, no entanto, usa córnea de olhos portadores de melanoma e já utilizou, embora em caráter de emergência, córnea de leucêmico, sem que tivesse notado complicações em uma ou outra destas condições.

Kaufman (1973) tem usado olhos de pacientes portadores de doenças infecciosas, sem ter tido infecção do enxerto.

Somente 23% dos bancos de olhos americanos fazem rotineiramente cultura do material doador (Raab e Brose, 1973) e a maioria só instila "Neosporin" depois da enucleação. A sorologia para lues é feita em 60% dos bancos, segundo os mesmos autores.

Outros estudos referentes aos doadores dizem respeito à histocompatibilidade, fundamental em transplante de outros órgãos, mas que nos corneanos ainda está engatinhando. Os achados de diferentes autores que cuidaram do assunto são díspares. Devemos ressaltar as dificuldades práticas para realização destas pesquisas. Ehlers e Ahrons (1971) acreditam que a seleção de doadores e receptores obediente à compatibilidade tecidual reduziria as reações imunológicas do enxerto de córnea. Tais reações, de natureza celular e humoral, são provocadas pelos antígenos de histocompatibilidade presentes no doador, e ausentes no receptor. Parece que a histocompatibilidade forte na cirurgia corneana é representada pelo sistema genético HL-A (human leucocyte-locus A). Cada indivíduo tem, no mínimo, 4 genes diferentes HL-A e seus antígenos correspondentes.

As técnicas de tipagem da compatibilidade frequentemente apenas podem indicar os melhores e piores casamentos. As possibilidades de variações nos graus de compatibilidade são enormes, especialmente quando estudamos indivíduos não aparentados.

O estudo da histocompatibilidade ABO para transplantes de córnea são discordantes. Uns autores encontraram nitida influência (Klen 1955) e Nelken et al. (1957) e Alberth, (1968); outros não (Meyer, 1966; Ehlers e Ahrons, 1971; Ehlers e Kissmeyer — Nielsen, 1973). Embora a córnea, por sua avascularidade, se constitua num lugar de relativo privilégio imunológico, ela é antigênica podendo, portanto, sofrer imuno-reações nos casos de transplantes. Tendo isto em mente, podemos esperar eventuais reações de histocompatibilidade nos casos de transplantes em indivíduos anteriormente submetidos à transfusões, gravidez e outros transplantes.

Khodadoust (1973) lembra que a tipagem dos tecidos representa promissor futuro para as córneas vascularizadas, nas quais as reações imunológicas são mais frequentes. É importante conhecer a viabilidade do material doador, particularmente do endotélio.

Hoefle, Maurice e Sibley (1973) dividem os métodos de avaliação do material corneano doador em dois grupos: testes primários e secundários.

Os testes primários tentam conseguir o objetivo de verificação da viabilidade de uma determinada córnea, sem comprometer sua estrutura e função. Entre eles podemos anotar os mais exequíveis:

1. Biomicroscopia. A biomicroscopia oferece elementos quanto à integridade epitelial, estromal e endotelial, presença ou não de alterações como córnea gutata, dobras, etc. Na verdade, não nos dá a avaliação do metabolismo, permeabilidade, etc.

2. Azul de tripânio (Stockler, 1973). Este teste tem a desvantagem de exigir a remoção da córnea e do globo com antecedência, expondo o endotélio à temperatura ambiente durante a microscopia e o trauma de irrigação de manuseio cirúrgico para a trepanação, etc.

3. Medida da espessura da córnea. A indicação de seus resultados ainda é falha, devido às variações de temperatura, filme lacrimal e condições de evaporação.

4. Microscopia especular. Este método foi desenvolvido por Maurice (1968) e Dickstein e Maurice (1972) e, segundo, Hoefle, Maurice e Sibley (1973), tem a vantagem de propiciar o estudo de camada por camada da córnea, num aumento de 500x.

Os principais testes secundários estudados por diversos pesquisadores são os seguintes:

1. Transplantes animais realizados com córneas em diferentes períodos de estocagem. Salceda (1967), por exemplo, utilizou córneas com estocagem a 4°C, variando de 1 a 3 semanas para alotransplantes em coelhos. Verificou ser necessário pelo menos a presença de 50% das células endoteliais para sucesso dos enxertos. Observou, por outro lado, que as células endoteliais do coelho são mais resistentes que as humanas, podendo ficar estocadas em atmosfera úmida na temperatura de 4°C, por mais tempo, durando até uma semana.

2. Produção de RNA. Os estudos de Hanna e col. (1969) pesquisando a habilidade das células endoteliais em produzir RNA e proteína com marcação pela timidina uridina, não foram suficientemente esclarecedores para divulgação do método.

3. A microscopia eletrônica foi empregada por Schaeffer (1963) em córneas estocadas em bancos e alterações endoteliais irreversíveis são descritas a partir de 24h. Van Horn e Schultz (1973) observaram alterações ultraestruturais em córneas com diferentes períodos de estocagem em câmaras refrigeradas a 4°C. As alterações mitocondriais foram notadas nas células endoteliais a partir de 12h de estocagem, tornando-se progressivamente mais severas com o decorrer do tempo. Alterações consideradas graves ocorreram no prazo de 90h.

4. Robbins e col (1965) procuraram verificar a presença de enzimas respiratórias em córneas estocadas a 4°C através do nitro-azul tetrazólio, chegando à conclusão que depois de 24h, um número variável de células estariam lesadas.

5. Os estudos da permeabilidade endotelial feitos por Maurice (1961), com a difusão da sucrose e microscopia eletrônica e por Waltman (1970) através da fluoresceína, mostram que essa função diminui com o tempo de estocagem dos olhos e também em relação à idade. Hoefle, Maurice e Sibley (1973) resumem a relação idade do doador e estocagem em câmara refrigeradora, em termos práticos da maneira seguinte: a córnea de um doador idoso é boa para ceratoplastia penetrante por 24h, a córnea de um doador de 30 anos, por 2 dias e a córnea de um doador de 15 anos por 3 a 4 dias.

Naturalmente, que estes testes secundários são úteis para orientação geral de como selecionar as córneas doadoras e tratá-las até o momento do enxerto. Eles não servem, entretanto, para ser utilizados em uma determinada córnea que se pretenda aproveitar para transplante, pois comprometem a integridade da mesma.

Admitindo que o olho chegue às mãos do cirurgião nas mais perfeitas condições de colheita, transporte e estocagem é ainda, nos dias de hoje, a biomicroscopia de rotina que dará a última palavra quanto à viabilidade da córnea, particularmente do endotélio. Os demais meios de avaliação ainda não conseguiram entrar na rotina, mas ao que parece, o processo do corante de azul de tripânio e a microscopia especular terão brevemente assegurado seu lugar.

#### TIPOS DE TRANSPLANTES QUANTO À ORIGEM

Do ponto de vista da origem, podemos dividir os enxertos em autólogos ou auto-enxertos (em que é usado material do próprio indivíduo); isólogos são os enxertos em que utilizamos material doador procedente de indivíduos de constituição genética idêntica (singeneicos); homólogos (ou alo-enxertos), a que chamamos os transplantes em que nos servimos de material de membros de uma mesma espécie, porém de constituição genética diferente; heterólogos (ou xeno-enxertos), que são os enxertos com material doado de espécies diferentes.

Hoje em dia, a tendência é usar material da mesma espécie, já que do mesmo indivíduo é raro surgir oportunidade. Nos primórdios da ceratoplastia, muitas tentativas foram feitas com material corneano de animais para cirurgia humana, os resultados porém, não foram animadores, como ainda tem acontecido com tentativas recentes.

#### TIPOS DE TRANSPLANTES QUANTO AO LOCAL

Podemos dividir os enxertos quanto à localização em isotópicos e heterotópicos, conforme seja a córnea doadora ou parte dela colocada no mesmo local de onde foi removida a córnea do receptor ou parte dela.



## CONSERVAÇÃO DA CÓRNEA

Existem vários métodos para preservar a córnea, armazenando-a para uso posterior conforme conveniência do caso e da equipe cirúrgica.

A simplificação da conservação da córnea tornando-a acessível a centros menos dotados de pessoal e de técnica trará um dos maiores passos para a divulgação do transplante ao ponto necessário, pelo menos entre nós. O método de conservação que tem alcançado os melhores resultados especialmente para cirurgia penetrante, é o da congelação, desenvolvido por Capela (1973) e Capela e Kaufman (1973). O processo é trabalhoso, exigindo cuidados com o controle da temperatura, elaboração das soluções e esterilização. As soluções preservativas são constituídas de sucrose e de DMSO (dimetil sulfoxide) em percentagens variáveis, de modo a formar 4 soluções diferentes, diluídas em albumina humana a 25%. No caso de experimentação as soluções são preparadas em soro do animal em estudo. O cuidado com a temperatura tem que ser rigoroso, porque o DMSO solidifica a 4°C, temperatura da solução de albumina. Assim o DMSO, à temperatura de 20°C, terá que ser adicionado gota a gota, agitando-se o frasco após cada gota. Outro ponto importante, nesta fase inicial, é a atenção à esterilização pois que a conservação é válida também para bactérias e fungos. O globo ocular deve ser lavado com instilações de "neosporin" cada dois minutos, durante 10 minutos. A seguir é feita a remoção da córnea, com o máximo de cuidado para não lesar o endotélio, deixando um anel escleral circundante. A córnea é passada pelas 4 soluções e, finalmente, congelada em nitrogênio líquido, podendo ser armazenada por período de até 6 meses. Na ocasião do uso terá que sofrer o descongelamento, ponto mais crítico de todo o processo, no dizer de Capella (1973). O descongelamento terá que ser rápido, mas sem superaquecimento.

Estando a córnea descongelada deve a mesma ser colocada em solução de albumina a 25%, durante 10 minutos, e, se possível, imediatamente usada.

Apesar de terem sido verificadas certas lesões criogênicas, elas são discretas e reversíveis, permitindo o emprego da córnea preservada em ceratoplastias perfurantes.

Outros métodos existem para conservação da córnea, mas somente para uso em ceratoplastia lamelares, como a glicerina, cloreto de sódio, sílica, que são os mais em voga (McTigue e King Jr., 1973, Stocker, 1973, Paulo Filho, 1957 e M. Queirós, 1966).

Os trabalhos encontrados na literatura referindo o emprego de córneas conservadas pela congelação são bastante animadores, conforme podemos ver em alguns dados obtidos dessas publicações.

Mathie (1973) fez estudo comparativo entre 40 operações realizadas antes de 1969 e 32 outras feitas a partir dessa época até 1973, verificando uma elevação nos bons resultados obtidos de 52.5% na primeira série, para 70.8% na segunda série. Essa melhoria é atribuída pelo autor aos seguintes fatores: redução do tempo decorrido entre a morte do doador e a congelação, melhor seleção dos doadores atentando para a causa e condições da

morte e, finalmente, o menor número de queimaduras químicas entre os operados na segunda série.

Keates (1973) teve oportunidade de realizar autotransplante em um dos olhos e transplante com córnea conservada no outro olho, guardando as restrições em um olho que apresentava hipertensão.

Kaufman, Capella e Polack (1973) estudam 585 ceratoplastias consecutivas realizadas para diversas doenças com córneas criopreservadas. Dentro deste quadro vale assinalar resultados piores (59%) com material criopreservado do que os obtidos com córneas frescas (71%) em pacientes operados de enxertos e catarata. Nas ceratopatias bolhosas também as percentagens de êxito são superponíveis (76 para as frescas e 74 para criopreservadas). Os resultados são tabulados em prazos de até 5 anos, tendo-se a impressão que quanto mais longo o prazo mais favorável para a córnea criopreservada.

Shultz (1973) obteve excelentes resultados com córnea crioconservada em 15 ceratoplastias penetrantes.

Bons resultados têm sido obtidos em ceratoplastias lamelares com córneas preservadas pela sílica (Stocker, 1973) e pela glicerina (Mctigue e King Jr. 1973).

Muitos dos problemas da ceratoplastia teriam solução se conseguíssemos criar um Banco Nacional de Olhos, ou similar. Este banco ficaria encarregado da colheita do material, armazenamento e distribuição entre os cirurgiões previamente inscritos, como também atenderia as emergências. Seria uma organização maior, de caráter nacional, com correspondentes regionais, que não só controlaria o material doador, como também faria um registro central das operações e eventuais ocorrências pré e pós-operatórias, mediante o recebimento de formulários especiais previamente enviados aos oftalmologistas credenciados pelo Banco. Os globos oculares não utilizados para transplantes de córnea seriam aproveitados para estocagem de esclera, de vítreo, etc, como também para pesquisa e ensino. Os métodos atuais de conservação, em meios de cultura de tecido, oferecem grande esperança para aplicação do material doador em até oito dias.

## TÉCNICA CIRÚRGICA

O transplante de córnea pode ser realizado sob várias modalidades técnicas: lamelar, interlamelar e penetrante. Vale a oportunidade para assinalar uma variante de cirurgia da córnea, que é a ceratomileuse, muito ligada ao transplante. Esta cirurgia foi desenvolvida por Barraquer, J.I. (1949, 1967, 1970) e lentamente vem ganhando adeptos pelo mundo afora. Consiste essencialmente em remover um disco não penetrante da córnea e modificar sua curvatura posterior de modo a corrigir o defeito de refração do indivíduo operado. O disco é novamente implantado no leito do qual saíra.

Ceratoplastia lamelar, defendida especialmente por Paufigue e Charlieux (1973), hoje em dia tem suas indicações restritas a casos de opacidades corneanas superficiais. Durante alguns tempos, usamos a ceratoplastia

lamelar com frequência em todos os casos de finalidade terapêutica, como preparatória da ceratoplastia penetrante. Atualmente, somente empregamos a modalidade lamelar de ceratoplastia, com fins terapêuticos nos casos em que se faz necessário enxerto superior a 8mm, ou quando a córnea receptora tem muito más condições de vitalidade (vascularização intensa, secura do meio conjuntival, etc.). É sabido que o transplante tem melhor possibilidade de êxito, sofrendo menor incidência de complicações, sejam elas de origem imunológica ou não. Procuramos, ao máximo, realizar transplantas lamelares, sempre que há esperança de que a opacificação não comprometa a Descemet e endotélio. Fazemos a delaminação bem profunda, pré-Descemet. Se, no ato operatório, encontramos opacidade mais profunda, transformamos em penetrante.

O método interlamelar de ceratoplastia é também chamado de ceratofacia, e consiste em fazer a implantação de disco de córnea doadora dentro das lamelas do estroma. O disco doador é retirado do estroma da córnea, moldado conforme cálculos especiais previamente feitos e colocado no leito receptor, já preparado. A córnea receptora sofre a retirada de um disco cuja profundidade vai até as últimas lamelas do estroma.

Outras técnicas ligadas à ceratoplastia tem evoluído e chegado a melhores resultados clínicos, tais como a ósteo-odontocerato-prótese (Strampelli e Marchi, 1972), ceratoprótese em geral (Cardona et al., 1972), ceratoplastias marginais, termoceratoplastia (Gasset et al, Aguavella (1974), Sherv e Gasset (1974), tarsoconjuntivoceratoplastia (Rodrigues Barrios et al (1973) e Galvão (1975), etc. Nesta revisão o espaço não permite discorrer sobre estas aquisições e refinamentos.

A realização técnica do transplante de córnea vem sofrendo aprimoramento crescente, o que tem contribuído decididamente para a grande margem de sucesso que se obtém com essa cirurgia nos tempos hodiernos. Nesta oportunidade, não podemos nos referir a todas as minúcias de técnica conseguidas nos últimos tempos, mas procurar ressaltar apenas alguns aspectos: proteção do endotélio, redução da inflamatogênese, aperfeiçoamento da anestesia, facilidade de controle da pressão ocular, vitrectomia e cirurgia combinada.

## PROTEÇÃO DO ENDOTÉLIO

Várias medidas técnicas são tomadas para evitar lesão do endotélio já que é sabido ser a integridade dessa camada corneana a mais importante condição para o sucesso do transplante. Entre essas providências podemos assinalar: a contensão do enxerto, a bolha de ar na câmara anterior, as suturas cardinais, a microscopia cirúrgica, etc. A contensão do enxerto é feita passando previamente na córnea do receptor, pontos cruzados, de tal maneira que ao colocarmos o disco doador, podemos atá-los e assim manter o enxerto firmemente no local enquanto realizamos a sutura normal (Ainslie, 1974). Outro recurso útil para minimizar a agressão do endotélio durante a sutura, é a introdução de bolha de ar, que impede o roçar do disco doador à superfície da íris. Também suturas cardinais evitam

o deslizamento do material, que está sendo implantado. O prosseguimento da sutura pode ser de modo contínuo ou em pontos separados, com "nylon" monofilamento 10/0. Ainslie (1974) aconselha a remoção da córnea doadora, com um anel escleral e montá-la em um suporte de parafina e trepaná-la por via posterior evitando, assim, irregularidades no ato de trepanar.

#### **REDUÇÃO DA INFLAMATOGÊNESE**

A delicadeza do instrumental, particularmente das agulhas e fios tem contribuído sobremaneira para reduzir o traumatismo operatório e consequentemente a inflamação. Da mesma forma, os medicamentos anti-inflamatórios, particularmente os inibidores da prostaglandina (indometacina, etc), trouxeram sua útil contribuição nesse sentido.

#### **ANESTESIA**

Os recursos anestésicos modernos, de aparelhagem e medicação como monitorização, mio-relaxantes e outros medicamentos trouxeram mais tranquilidade e uniformidade ao plano anestésico, permitindo à equipe cirúrgica e ao paciente mais segurança. Mesmo a anestesia local, com hialuronidase e manobra da compressão intermitente do globo, já se apresenta com mais confiança.

#### **CONTROLE DA PRESSÃO OCULAR**

Os inibidores da anidrase carbônica, a hialuronidase com compressão intermitente do globo ocular e os hiperosmóticos vieram colaborar com a ação anestésica no permitir melhor controle da pressão ocular no pré, per e pós-operatório.

#### **VITRECTOMIA**

Sem dúvida, uma das mais fortes razões, a nosso entender, do maior sucesso que se obtém atualmente com os transplantes de córnea em olhos afáticos é o emprego da vitrectomia, impedindo o maléfico contáto do vítreo com o endotélio doador.

#### **CIRURGIA COMBINADA**

Os recursos acima referidos, particularmente aqueles referentes ao controle da pressão ocular, vitrectomia e bolha de ar, vieram trazer maior êxito e, consequentemente, maior estímulo à cirurgia combinada de catarata e transplante de córnea, facilitando a vida do paciente. A técnica que estamos usando atualmente é a referida por Khodadoust (1973) em que ampliamos radiariamente a incisão em direção ao limbo. Esta incisão radiária a partir da borda da trepanação até o limbo, permite a remoção

do cristalino sem dificuldades e sem traumatizar o endotélio receptor. Removido o cristalino, suturamos a incisão radiária e prosseguimos o transplante normalmente.

Finalizando o capítulo referente à técnica cirúrgica poderíamos acrescentar dois tópicos adaptados de Moore e Aronson (1973), um referente aos fatores influentes nas ceratoplastias e outro que enumera alguns princípios cirúrgicos específicos.

Os fatores diversos que podem interferir no andamento da ceratoplastia são os seguintes:

1. Seleção do paciente;
2. Seleção da córnea doadora;
3. Terapêutica médica;
4. Procedimento cirúrgico;
5. Causas de fracasso no período precoce do transplante: a. falha primária do doador, b. inflamatogênese cirúrgica, c. toxicidade das suturas, d. toxicidade microbiana, e. incompatibilidade tecidual,
6. Causas inflamatórias tardias: a. alteração estrutural, b. estímulo inflamatório (exógeno, endógeno, traumático e de histocompatibilidade), c. fatores sócio-econômicos;
7. Correção óptica e lentes de contato.

Os princípios gerais que parecem interessantes e são referidos por Moore e Aronson (1973) são os seguintes:

1. O cirurgião necessita capacitar-se para executar técnica reproduzível e que conduza à maior percentagem de êxito. Para tanto deve ser capaz de reconstituir a estrutura e a função do olho operado, tanto quanto possível.
2. Material e técnicas usados devem ser o mínimo inflamatogênicos.
3. O procedimento cirúrgico deve ser relativamente atraumático.
4. Os fatores cirúrgicos representam apenas uma faceta do problema. A assistência pré e pós-operatória, a curto e longo prazo, deve ser ótima.

## INSTRUMENTAL

Os grandes aprimoramentos do instrumental nos últimos anos foram: microscópio cirúrgico, documentação, pinças, porta-agulhas, tesouras de córnea, agulhas, esponja de celulose e vitreótomos. O microscópio trouxe mais segurança ao ato operatório permitindo maior atenção à minúcia e ao uso de material cada vez mais delicado. A visualização, com aumento de 10 a 40 vezes, propicia condições de bem identificar a borda do disco doador e do anel receptor, permitindo a passagem das suturas pelos locais exatos, obtendo assim coaptação perfeita dos lábios da ferida. Indiretamente, o microscópio exigiu mais do cirurgião, habituando-o progressivamente aos pormenores da delicada cirurgia a que se propõe. Por outro lado, a facilidade de documentação trazida pelo microscópio, com máquinas acopladas para fotografar e para filmar, contribui para maior atenção do operador que tem assim oportunidade de examinar o trabalho executado

e corrigir falhas eventuais. Os fabricantes de material cirúrgico em conjunto com os cirurgiões foram imaginando e elaborando peças de instrumental cada vez mais delicadas para corte, sutura e atamento dos fios. Estes também acompanharam a evolução e chegaram ao “nylon” monofilamentado de 10/0, muito bem tolerado pelos tecidos. Sua remoção deve ser feita somente com seis meses nas córneas avasculares, prazo que pode ser reduzido para as córneas vascularizadas. Ainslie (1974) assinala, com razão, como desvantagem do “nylon” o fato de ser o mesmo elástico e por isso dificultando a obtenção de uniformidade tênsil da sutura. Esse autor refere ao “ethiflex”, que é terilene multifilamentoso e que seria aparentemente o material ideal para ceratoplastia, não fosse ele 7/0 em sua forma mais delicada.

## PATOLOGIA DO ENXERTO

No estudo da patologia do enxerto, suas falhas e complicações, vamos abordar dois grandes grupos de problemas: não imunológico e imunológico, embora reconheça que muitas vezes estejam combinados, não sendo possível dirimir entre um e outro.

## COMPLICAÇÕES NÃO IMUNOLÓGICAS DO TRANSPLANTE DE CÓRNEA

As complicações não imunológicas do transplante de córnea podem ser imediatas, intermediárias ou tardias. As primeiras são aquelas que surgem nos primeiros cinco dias decorridos do ato operatório; intermediárias as manifestadas entre cinco e quinze dias, e, finalmente, as complicações tardias que são as surgidas após quinze dias da operação. Naturalmente, que esta divisão é arbitrária, sendo que uma mesma complicação pode aparecer nas primeiras 24 h. ou quinze dias depois. A classificação de tardia também é muito vasta.

As complicações imediatas são sempre não imunológicas. Entre as complicações não imunológicas, em geral, podemos citar: deslocamento do enxerto, prolapso da íris, hipotonia por má aposição das suturas, infecção, perda da sutura, catarata por falha técnica, edema por má qualidade do doador, hifema, atalâmia ou acoremia, bloqueio pupilar, ectasia do enxerto, membrana retrocorneana, necrose asséptica, recorrência da doença do receptor (herpes simples, ceratopatia bolhosa e distrofia endotélio-epitelial de Fuchs), uveíte, formação de sinéquias, dehiscência da ferida operatória, glaucoma etc.

Podemos resumir com Moore e Aronson (1973) estas complicações em dois sub-grupos conforme a dependência das mesmas:

- a. Antes da retirada dos pontos: córnea doadora, fatores cirúrgicos, efeito do material de sutura, falhas na indicação do tipo de cirurgia, infecção microbiana da conjuntiva e trauma acidental.
- b. Após a retirada dos pontos: trauma cirúrgico, estímulo exógeno, uveíte endógena, trauma acidental, fatores sócio-econômicos.

## COMPLICAÇÕES IMUNOLÓGICAS DO TRANSPLANTE DE CÓRNEA

A reação imune do alo-enxerto é, no momento, a mais importante causa de insucesso do transplante de córnea (Jones, 1973). Os estudos experimentais feitos por Khodadoust (1973) em coelhos parecem corresponder à cirurgia humana. Fator fundamental para ser feito diagnóstico de reação imune é que o enxerto tenha passado por um período de transparência de pelo menos dez dias (Jones, 1973), quando tratar-se de primeiro transplante.

O quadro característico compreende o aparecimento de fenômenos inflamatórios em um olho até então calmo. Estes fenômenos inflamatórios são os seguintes: edema corneano de progressão rápida, irritação ciliar, lacrimejamento, precipitados na face posterior do enxerto, precipitados no aquoso, linhas de infiltração corneana no disco iniciadas nas proximidades de pontos ou alças vasculares em direção ao centro. Estas linhas são também referidas com o nome de linhas de Khodadoust (Jones, 1974). Nos estudos experimentais de transplantes por camadas isoladas da córnea também foram verificadas estas linhas no epitélio, no estroma e no endotélio (Silverstein e Khodadoust, 1973). Jones, 1973 dá grande importância ao aparecimento da linha de Khodadoust, chegando a chamar outros casos de reação aparentemente imune de "reação de alo-enxerto sem linha", como que pondo em dúvida a natureza imunológica do processo.

É possível acontecer reação de alo-enxerto sobrepondo-se à alterações endoteliais ou processos inflamatórios de outra origem, mas, em uns e em outros, permanecerá a dúvida de reação imune. Como também uma reação inflamatória, traumática ou não, poderá propiciar o início de reação imunológica.

Num estudo de 400 casos de transplante penetrante primário feito com córneas frescas, Khodadoust (1973) verificou que, em 20% dos portadores de reação de rejeição, o processo iniciou pelo endotélio, seguindo-se comprometimento discreto do estroma. Em 30% dos casos de rejeição, o processo ficou limitado ao endotélio. Em todas as operações, o epitélio foi removido. É interessante assinalar os pontos fundamentais de que Khodadoust (1973) se serviu para o diagnóstico de reação de enxerto:

1. o processo se iniciou em 3 semanas ou mais em enxerto tecnicamente de sucesso;
2. o processo se iniciou nas margens do disco doador, o mais próximo dos vasos sanguíneos;
3. o processo inflamatório ficou limitado primariamente ao enxerto;
4. ocorreu movimento de reação inflamatória de sua origem para envolver todo o disco;
5. nos casos descritos ou moderados foi possível identificar a linha de rejeição endotelial e/ou faixa de rejeição estromal.

Nos estudos da rejeição do enxerto de córnea é importante discutir os seguintes aspectos que caracterizam condições de maior risco: 1. Vasculização corneana; 2. Herpes simples; 3. Queimaduras químicas e deficiên-

cia lacrimal; 4. Re-operações; 5. Histocompatibilidade tecidual; 6. Glaucoma.

### 1. Vascularização

A vascularização corneana desempenha importante causa de predisposição às reações imunes nos transplantes da córnea. Admite-se que a vascularização retira da córnea a característica de local privilegiado do ponto de vista imunológico, tornando as reações imunes mais comuns. Fine e Stein (1973) fazem interessante retrospectivo em 1291 transplantes perfurantes procurando avaliar o papel da vascularização corneana no sucesso ou não dos operados. Devemos assinalar também que a simples presença de vasos na córnea já indica uma certa gravidade da afecção corneana, geralmente com destruição de tecido. Nos levantamentos feitos pelos autores acima citados, a percentagem de reação de alo-enxerto foi maior nas córneas vasculares do que nas não vascularizadas, como 15 e 11.2%, respectivamente, em enxertos primários. A diferença maior foi encontrada no grupo das distrofias, pois enquanto nas córneas vascularizadas ocorreram 34.7% de reações imunes, naquelas em que não havia vasos ocorreram somente 10.2%. Nos re-enxertos persistiu a maior percentagem de reações nas distrofias com vascularização, mas já em menor diferença (27,4 x 20.0%). No cômputo geral dos transplantes feitos em olhos anteriormente submetidos à idêntica cirurgia, a percentagem de reação imune foi maior nas córneas avasculares. Outro achado a assinalar foi a redução do tempo de aparecimento da reação no caso de leitos vascularizados. Em ocorrendo a reação do enxerto, os casos de córneas desprovidas de vasos responderam melhor à terapêutica que os demais. Como bem lembrou Collin (1966), o fator determinante para o desencadeamento da reação imune pode não ser a vascularização corneana e sim a presença de linfáticos. A importância dos linfáticos nas reações deste tipo evidenciada experimentalmente por Barker e Billingham (1967). Outro aspecto que deve ser notado relativamente ao papel dos vasos e o fato de que os enxertos maiores de 7 mm, cujas bordas ficam mais próximas do limbo e dos vasos são conseqüentemente mais sujeitos à rejeição.

A fluoresceinografia do segmento anterior trouxe um requinte a mais na identificação da vascularização da córnea, principalmente para verificar a atividade do vaso encontrado.

### 2. Herpes simples

O transplante lamelar tem provado ser ineficiente no tratamento da ceratite herpética (Rice e Jones, 1973) porque ocorre recidiva da virose no estroma (65%) ou no epitélio (35%). A ceratoplastia penetrante, no entanto, fornece boa margem de cura, 78%. As drogas contra o vírus têm-se mostrado limitadas, enquanto que a corticoterapia após a cirurgia tem sido de grande valia. Os antiviróticos são agressores do epitélio corneano. Os olhos portadores de herpes e uveíte mostram resultados inferiores àqueles que não apresentam essa complicação (Rice e Jones, 1973). Hoje, o recurso da linfocitoterapia e do levamisol, empregado pré-operatoriamente, constitui esperança para melhores resultados, como já tivemos oportunidade de verificar.



### 3. Queimaduras químicas e hipossecreção lacrimal

As queimaduras alcalinas são as mais graves por sua severidade, rapidez e tendência a aprofundar-se a curto e longo prazo. O endotélio e o epitélio representam barreiras polares (para substâncias solúveis na água), enquanto que o estroma é uma barreira não polar (para substâncias lipossolúveis). Os alcalis reagem com os lipídeos formando compostos solúveis que penetram rapidamente nos tecidos oculares.

Com o aumento do pH há favorecimento da dissociação dos lipídeos nas membranas celulares e rotura das barreiras. Os álcalis provocam também hidratação dos tecidos por serem higroscópicos, e por outro lado destroem enzimas e proteínas. Os efeitos maléficos dependem fundamentalmente da concentração do álcali e da duração do contato.

As alterações conjuntivais levam à formação de simbléfaro, havendo também destruição dos ductos glandulares (com secura correspondente), destruição vascular e linfática, com neoformação posterior. Parece que nessas queimaduras ocorre proliferação linfática, e que esta seria a principal responsável pela maior percentagem de rejeição nos transplantes realizados em olhos que anteriormente sofreram queimaduras por estas substâncias. Outra alteração importante, é a destruição do colágeno pela colagenase, fermento encontrado no epitélio dos queimados. Provavelmente, a colagenase é produzida pelos polimorfonucleares que invadem a córnea. Relativamente à ceratoplastia, há a assinalar a presença de vasos e de linfáticos, a falta de lágrimas e, finalmente, a má qualidade do epitélio receptor que não irá proliferar satisfatoriamente a fim de recobrir o disco doador. Nos casos de queimadura, tratados com ceratoplastia, devemos manter o epitélio do doador e usar córnea mais fresca possível e nas melhores condições.

### 4. Re-operações

De modo geral as re-operações tem mostrado piores resultados que as operações realizadas de primeira vez. Cowdin, Kaufman e Pollack (1974) estudam 51 retransplantes em áfacos, obtendo 64% de êxito, num período de observação de até um ano. Os autores obtiveram os mesmos resultados com córneas frescas e com córneas preservadas. Ocorreram 19 falhas, com as seguintes alterações: 19 com membrana retrocorneana, 10 com episódio característicos de doença do enxerto, 2 edemas maculares, 2 descolamentos da retina e 18 glaucomas. 37 casos necessitaram vitrectomia e 14 não. Entre os primeiros, o sucesso quanto à transparência da córnea foi de 70% e entre os segundos foi de 44%. Interessante assinalar que os deslocamentos de retina ocorreram entre os que não se submeteram à vitrectomia.

Com os recursos atuais de anestesia, controle da pressão ocular, vitrectomia, delicadeza de manobras cirúrgicas e medicamentos anti-inflamatórios e antissupressivos, os resultados das re-operações melhoraram muito, particularmente em córneas avasculares.

### 5. Histocompatibilidade

Os antígenos de histocompatibilidade presentes no doador e ausentes no receptor provocam uma reação maior ou menor de imunidade celular e humoral, caracterizando a reação imunológica, que pode levar à cessação

das funções de enxerto, isto é, à rejeição. Em transplante de córnea, a rejeição chega à opacificação, sem eliminação. Existem antígenos de fraca e de forte compatibilidade. No homem, os antígenos de forte histocompatibilidade pertencem a dois sistemas: sistema sanguíneo de ABO e o sistema HL-A (human leucocyte-locus A). O sistema HL-A é determinado por duas séries segregantes de alelos pertencentes a dois "loci" intimamente relacionados: o L-A (ou I) e o 4 (ou II). Esses antígenos são determinados, na prática, nos linfócitos e plaquetas do sangue periférico. O grau de incompatibilidade entre dois indivíduos, é referido pelas letras: A, B, C, D, E, F e G.

A não A significa identidade entre doador e receptor; B significa que o recipiente tem um ou mais dos antígenos HL-A não presentes no doador, mas o doador não possui antígenos não presentes no receptor; C, D, E e G significam que o doador possui um, dois, três ou quatro dos antígenos HL-A não presentes no receptor; e, finalmente, F significa que o recipiente tem anticorpos circulantes contra os antígenos do doador. Nem sempre há possibilidade de determinar exatamente os antígenos, e daí frequentemente podemos apenas prever as melhores e as piores combinações. Ehlers e Kissmeyer-Nielsen (1973) estudaram experimentalmente o assunto e verificaram que enxertos compatíveis em coelhos não resultaram em reações imunes, enquanto os incompatíveis apresentaram esse tipo de reação, mesmo quando sensibilizados previamente mediante enxerto de pele. Os estudos realizados pelos mesmos autores em transplantes humanos mostraram que as reações de rejeição foram observadas mais frequentemente entre os mais incompatíveis (G e F) do que entre os mais compatíveis (C e D), ficando como razoavelmente compatíveis o E. Nos 45 casos referidos pelos autores não foi encontrada nenhuma combinação A, nem B.

Do ponto de vista da histocompatibilidade, para que um enxerto não sofra reação imune, faz-se necessário que o receptor tenha todos os antígenos existentes no doador, ou melhor, que todos os antígenos existentes no doador existam também no receptor. O reverso não se faz necessário. O enxerto pode sobreviver mesmo que o receptor tenha antígenos não existentes no doador.

Para o caso da córnea, como vimos anteriormente, em virtude de ser um local privilegiado, do ponto de vista imunológico, por não possuir vasos, a exigência não é tão grande.

As pesquisas da compatibilidade do sistema ABO mostrou não ter valor em transplante de córnea.

A tipagem dos tecidos é difícil em termos práticos pelo menos enquanto estivermos atados ao uso de córneas frescas. Não há dúvida, no entanto, que seria condição ideal, particularmente para os chamados receptores de alto risco (córnea vascularizada, olhos que sofreram queimaduras químicas, indivíduos que já receberam transfusões, mulheres que estiveram grávidas, casos de herpes simples etc.).

Resumindo a observação clínica da patologia do enxerto, poderíamos considerar como ponto fundamental o diagnóstico do tipo de complicação, se imunológica ou não, para estabelecer em tempo hábil o esquema tera-

pêutico. Por outro lado, isto nos daria com o correr do tempo, dados suficientes para reavaliação de nossos conhecimentos e experiências, em prol de melhores resultados. Vejamos os elementos em que podemos basear nosso diagnóstico de reação imune de enxerto:

1. O processo é primariamente limitado ao enxerto;
2. O processo habitualmente se inicia pela parte mais vascularizada da córnea ou, pelo menos, mais próxima de vasos;
3. A linha epitelial de rejeição de Khodadoust, quando presente é patognomônica;
4. Em cerca de metade dos casos também aparece a linha endotelial;
5. Em alguns casos aparecem precipitados ceráticos de modo agudo limitados ao enxerto e que rapidamente (em 24h) são acompanhados de edema estromal;
6. Em alguns casos pode-se observar a faixa estromal de infiltração;
7. O olho previamente estava tranqüilo por período não inferior a uma semana;
8. Células no aquoso e congestão ciliar são frequentes;
9. É possível o início da reação independentemente dos vasos, através de linfócitos vindos pelo aquoso, a partir da rede vascular da úvea anterior (Billingham, 1973)
10. Em outros casos, a reação do enxerto vem de doença do hospedeiro espalhando-se pelo disco doador.

De acordo com Jones (1973) podemos assim considerar o arco reflexo imunológico: partindo o braço aferente do enxerto corneano, por uma das seguintes vias: a) vias linfáticas até os nódulos linfáticos regionais (submaxilares, pré-auriculares, ...); b) vias venosas até o baço; medula óssea etc.); c) aquoso, canal de Schlemm, veias episclerais e conjuntivais etc; d) aquoso, uvea anterior e circulação venosa. Em todas as hipóteses, a via eferente seria a arterial até o enxerto novamente.

Os antígenos H-L partiriam do enxerto e, através de uma ou outra das vias aferentes referidas atingiriam as células imunologicamente competentes do receptor, as quais iniciariam a resposta imunológica de ataque ao enxerto, enviando seus anticorpos e células pela via eferente arterial ao local onde foi implantado o material doador tentando eliminá-lo.

Os estudos experimentais da reação imunológica em enxertos de pele nos dão boa idéia de seu mecanismo. Quando se trata de auto-enxerto verifica-se isquemia inicial em virtude da inexistência de vasos entre o hospedeiro e o enxerto. A nutrição, nessa fase, é feita por imbibição do líquido intersticial. Em consequência da isquemia inicial, estabelece-se processo inflamatório caracterizado por infiltrado polimorfonuclear que vai cedendo a medida que os vasos aparecem e invadem o enxerto. Na reação de alo-enxerto, o mecanismo ocorre em tres fases: isquemia inicial, invasão de células mononucleares linfóides e, novamente, isquemia, agora grave e irreversível. Depois da infiltração de polimorfonucleares, vem a infiltração de mononucleares linfóides, inicialmente em torno de vasos sanguíneos, depois comprometendo todo o enxerto. Por volta do oitavo e nono dias ocor-

rem fenômenos de trombose generalizada e nova isquemia aparece, a isquemia final. Há morte e eliminação do enxerto.

É interessante assinalar que nos casos de sensibilização prévia, há antecipação da reação imunológica (fenômeno do 2.º enxerto ou "second set"). Essa aceleração pode ser mais acentuada ainda pelos enxertos múltiplos, chegando ao que se chama em enxertia de pele, o enxerto branco.

O fenômeno da rejeição é específico, isto é, adquirido e especificamente dirigido contra antígenos existentes no enxerto.

A rejeição é fundamentalmente fenômeno de imunidade celular ou retardada, que ocorre sob a responsabilidade principal dos linfócitos T ou timodependentes. Ela pode ser transferida de um para outro indivíduo mediante transplantação de células.

O único caso em que esta transferência pode ser feita através de soro é quando se trata de indivíduo superimune, isto é, que já sofrera múltiplos transplantes.

As células imunocompetentes responsáveis pelo ataque ao enxerto são oriundas da medula óssea. Aquelas provenientes dos órgãos linfóides secundários não tem essa capacidade. Há cooperação entre células linfóides e mielóides, sendo as últimas as efetores, enquanto as primeiras são as informantes. Os linfócitos imunocompetentes (linfócitos K ou matadores), destroem a especial ou anticorpo em sua superfície que facilitaria o contato tâncias especial ou anticorpo em sua superfície que facilitaria o contato com o antígeno.

Existe ainda a possibilidade inversa de o enxerto atacar o hospedeiro constituindo a reação enxerto versus hospedeiro ("grafting versus host" ou GVH), podendo chegar à destruição do receptor (morte). Se o hospedeiro for imunocompetente, ele pode ser atacado e destruído pelas células do enxerto. É o caso, por exemplo, que ocorre quando enxertamos células linfóides competentes em embrião de galinha. As células enxertadas proliferam e reagem com as células do hospedeiro por considerá-las estranhas, provocando dificuldade de desenvolvimento (nanismo ou "runt disease").

Nos olhos com problemas uveais ou corneanos, provavelmente, já existem no limbo ou nos vasos de neoformação da córnea, células imunocompetentes. As reações de imunidade celular são as mais importantes nos transplantes, mas sem dúvida a imunidade humoral tem papel ainda não bem avaliado. Três aspectos devem ser lembrados no desencadeamento da reação imunológica: massa antigênica; integridade das barreiras; vias de circulação (antígenos, anticorpos e células) e reatividade do hospedeiro.

A massa antigênica procuramos reduzi-la, removendo o epitélio, salvo nos olhos receptores secos, como também usando discos doadores de diâmetro não superior a 8 mm. A integridade das barreiras e facilidade de circulação das células, antígenos e anticorpos ficam na dependência de patologia prévia e eventuais acidentes no per e pós-operatório que passam contribuir nesse campo. A reatividade do hospedeiro, podemos controlar através de estudos de histocompatibilidade prévia e recorrendo a auxílio de medicamentos imunossuppressores.

As alterações histopatológicas dos enxertos de córnea têm sido estudadas experimentalmente e na cirurgia humana por diversos autores. Podemos apresentar os principais achados no epitélio, no estroma, no endotélio e na linha divisória do doador-receptor, seguindo as descrições de Pollack (1973). No epitélio são verificadas infiltrações de linfócitos e células plasmáticas nas camadas basais. Clinicamente podemos encontrar linhas e/ou pontos que se coram com rosa de bengala ou azul de metileno. No estroma são encontrados linfócitos acompanhando os vasos ou entre as lamelas, bem como destruição de fibras colágenas e de fibroblastos. Na junção doador-hospedeiro existe tecido conectivo, vasos de neoformação, células inflamatórias e fibroblastos. O processo inflamatório facilita a migração de células sanguíneas e fibroblastos para a câmara anterior e desenvolvimento de membrana retrocorneana.

A presença de edema corneano significa usualmente comprometimento do endotélio, que pode ser localizado ou difuso. Por vezes, este acometimento endotelial é acompanhado de vasos, membrana e células que invadem a câmara anterior.

#### 6. Glaucoma

O glaucoma é uma das mais sérias complicações do pré, per e pós-operatório da ceratoplastia e seu controle faz-se necessário a todo custo a fim de obtermos enxertos claros. O tratamento médico ou cirúrgico deve ser cuidado a tempo. A identificação da afecção antes da operação deve ser pronta, como também eventualmente no pós-operatório. Durante o ato operatório acompanhamos a pressão ocular, que deve ser mantida em níveis inferiores a 15 mm Hg. É recomendável o uso de manitol a 20% e, eventualmente, outros recursos.

### RECURSOS TERAPÊUTICOS

A terapêutica médica pode ser aplicada de modo preventivo ou curativo. Medicamentos gerais e locais são utilizados para minorar o desconforto do paciente, para controlar a pressão ocular, para minimizar o processo inflamatório, para evitar infecção e para prevenir ou tratar de reações imunológicas. Vamos abordar neste momento somente alguns relacionados com as reações imunológicas, tais como os corticoides, imunossuppressores, soro antilinfocitário, antibióticos e raios X. Não abordaremos por agora os processos cirúrgicos da timectomia e bursectomia.

### CORTICOIDES

A efetividade dos corticoides na prevenção e no tratamento de reações imunológicas dos transplantes tem sido demonstrada experimental e clinicamente. Uns cirurgiões, em que nos incluímos, usam o corticoide de rotina, outros só utilizam esse medicamento preventivamente nos casos de córnea vascularizada (Maumenee (1973), por exemplo). Todos, no entanto, estão de acordo em iniciar a terapêutica com corticoide tão logo apareçam os primeiros sinais de reação imunológica. Nós utilizamos a dexameta-

sona de depósito subconjuntival no ato operatório, na dose de 2 mg. Nos dias subsequentes são feitas instilações de colírio a 0.1%, 3 vezes por dia durante 2 meses. Ao lado da medicação local, é feito esquema de 1.5 mg por dia, a partir do 7.º dia até dois meses, decrescendo a dose a partir de 30 dias. Nos casos de reação, aumentamos a dose e repetimos as aplicações subconjuntivais de 10 em 10 dias, na dependência da evolução clínica.

Os corticóides apresentam os seguintes efeitos relacionados com a reação imunológica dos enxertos. 1. reduzem a formação de anticorpos circulares, quando em doses elevadas; 2. inibem a produção de lesões vasculares na reação de Arthus; 3. parecem diminuir a ação fagocitária dos macrófagos; 4. inibem a reação do tipo celular; 5. prolongam as reações do enxerto.

### IMUNOSSUPRESSORES

Os imunossupressores podem agir nos diversos mecanismos das reações imunológicas: 1. reconhecimento antigênico; 2. cooperação celular; 3. transporte celular; 4. proliferação celular; 5. diferenciação celular; 6. mecanismo não específico; 7. destruição celular.

Para que a reação imunológica aconteça faz-se necessário inicialmente o contato entre o antígeno e o linfócito imunologicamente competente. A configuração molecular superficial da célula reconhece o antígeno.

A fase de reconhecimento varia conforme os antígenos, sendo necessário em alguns casos a colaboração dos macrófagos, em outros a colaboração dos linfócitos T apresentando ou estimulando os linfócitos B. Já em outros casos os linfócitos T suprimem parcialmente a resposta, como é o caso dos polissacarídeos do pneumococo (Allison et al., 1971). Algumas células linfocitárias e macrófagos são circulantes e outras são presentes nos gânglios linfáticos, baço, espaços intervasculares e maioria dos tecidos. Nesta fase, teria ação preventiva, por exemplo, a administração de anti-corpo anti-D à mãe, contra a doença hemolítica.

Na fase de cooperação celular teria efeito o soro antilinfocitário, que atacaria as células T. Os macrófagos só poderão ser atacados através da irradiação.

Na fase de tráfico celular, têm efeito os corticóides que exercem poder inibitório do tráfico linfocitário, reduzindo a permeabilidade da membrana. Parece que o maior efeito é do ACTH (Spry, 1972).

Na fase de proliferação celular, temos um grande número de medicamentos ativos: antimetabolitos purínicos (6-mercaptopurina, azatioprina, 6-tioguanina); antimetabolitos pirimidínicos (5-fluorocil, fluoroceoxiuridina, citosina arabinosida); antimetabolitos fólicos (ácido tetrahidrofólico); inibidores da polimerase DNA (5-iodo-2-deoxiuridina); antiglutamínicos (azaserina); formadores de complexos com DNA (actinominina, acridina), etc.

Na diferenciação celular, muitos agentes terapêuticos podem interferir, através da inibição de síntese proteica, formando complexos com ribossoma ou competindo com a transferência do complexo amino ácido-RNA.

Aqui agem vários antibióticos, tais como, cloranfenicol, estreptomicina e a puromicina e antimetabolitos. O cloranfenicol, por exemplo, dado precocemente, é altamente efetivo na supressão da produção de anticorpos. Se a administração, no entanto, for retardada por uns dias já não se observa o mesmo efeito.

Existem agentes que provocam respostas não específicas, sem interferir com a resposta específica, como a aspirina, fenilbutazona e outros. Devemos considerar ainda que os medicamentos enumerados antes e que provocam respostas específicas, também produzem efeitos não específicos, particularmente anti-inflamatórios.

O mecanismo da imunossupressão não é específico a uma fase do processo imunológico, havendo geralmente interferência em um e outro mecanismo. Por exemplo, o soro antilinfocitário age fundamentalmente na resposta celular, mas também atua nas células T circulantes, portanto na destruição celular.

Devemos ter em mente as seguintes regras em relação ao uso dos antissuppressores na transplantação de tecidos (Dias da Silva, 1973) que transcreveremos na íntegra:

- “1. Desde que use doses adequadas do imunossupressor, aplicadas em tempo ótimo com respeito à introdução do antígeno, pode-se obter:
  - a. prevenção das respostas imunitárias humoral primária e secundária;
  - b. indução de tolerância imunológica;
  - c. prolongamento do período de produção de IgM, que por sua vez vai inibir a formação de IgG;
  - d. aumento de formação de anticorpos humorais;
  - e. supressão da hipersensibilidade do tipo tardio.
2. Quanto mais próxima a dose da droga estiver do seu limiar tóxico, maior será a sua ação imunossupressora.
3. Os antimetabolitos são mais ativos quando empregados na fase de indução, enquanto os alquilantes funcionam melhor na fase de pré-indução.
4. Depois que a formação de anticorpos estiver se processando, são requeridas doses muito mais elevadas, geralmente tóxicas, para conseguir supressão.
5. A resposta primária é mais sensível às drogas que a resposta secundária.
6. É muito mais fácil impedir que uma resposta imunitária retardada se estabeleça do que bloquear a manifestação de uma hipersensibilidade já estabelecida.
7. Sempre que se deixa de administrar o imunossupressor antes de o antígeno estar totalmente catabolizado, persiste a possibilidade de formação de anticorpos”.

Os agentes antissuppressores são altamente tóxicos e devemos vigiar atentamente sua administração. Os principais efeitos secundários são: a. corticóides: Cushing, diabete melítico, pancreatite, necrose avascular, osteoporose, catarata, glaucoma, úlcera gastroduodenal; b. azatioprina: de-

pressão da medula óssea, alopecia, icterícia e úlcera oral; c. ciclofosfami-  
da: depressão da medula óssea, alopecia, úlcera oral, náusea, vômitos, cis-  
tite química, amenorréia, azoospermia; d. globulina antilinfocitária: trom-  
bocitopenia, doença do soro, alergia; e. combinações: infecção, neopla-  
sia (?)

#### COLABORAÇÃO EXPERIMENTAL

Sem dúvida, a experimentação trouxe grande contribuição para o es-  
tudo e progresso da ceratoplastia, particularmente nos seguintes setores:  
identificação da reação imunológica e realce de seu valor no transplante  
de córnea, estudos de histocompatibilidade, tipagem linfocitária, fator de  
transferência, imunidade celular, exaltação imunológica, conservação da  
córnea, avaliação da viabilidade corneana e seleção do material doador.

#### O FUTURO

Pensamos que, em futuro não muito remoto, teremos encaminhado a  
solução dos seguintes problemas: tipagem da histocompatibilidade, uso ge-  
neralizado de material conservado, controle mais efetivo da reação imu-  
nológica, refinamento técnico crescente, maior difusão do transplante de  
córnea.

Particularmente, no Brasil, esperamos ver o Banco Nacional de Olhos  
funcionando efetivamente para atender nossas reais necessidades, como  
também um serviço Nacional de Órgãos e Tecidos com registro dos trans-  
plantes realizados.

#### REFERÊNCIAS

- ABREU FIALHO, S. (1948) — Comunicação pessoal.  
ABREU FIALHO, S. (1950) — Conservation de la cornée de cadavre par inmesion du  
globe oculaire dans l'huile de paraffine maintenue a 4 ou 6°C. *Ann. Oculist.* 183-563,569.  
AGUAVELLA, J. V. (1974) — Thermokeratoplasty. *Ophthalmic Surgery.* 5.1:39-47.  
AINSLIE, D. (1974) — Recents advances in keratoplasty. *Brit. J. Ophthalm.* 58:335-343.  
ALBERTH, B. (1968) — Surgical treatment of caustic injuries of the eye. *Akademiai  
Kiadó. Budapest.*  
ALLISON, A. C. et al. (1971) — Cooperating and controlling functions of thymus —  
derived lymphocytes in relation to autoimmunity. *Lancet* 2:135-140.  
ANTUNES, L. J. (1965, 1966, 1973) — Anticorpos heterófilos no soro de coelhos imuni-  
zados com córnea de galinha. *Rev. Bras. Oftalm.* 24-43.  
ANTUNES, L. J. (1975) — Comunicação pessoal.  
BARKER, C. F. & BILLINGHAM, R. E. (1973) — Immunologically privileged sites and  
tissues in corneal faillures. Elsevier, North — Holland: 79-105.  
BARRAQUER, J. I. (1949) — Queratoplastia refractiva. *Estudios y informaciones oftal-  
mológicas.* 2,10:1-21.  
BARRAQUER, J. I. (1967) — Bases de la queratoplastia refractiva. *Arch. Soc. Amer.  
Oftalm. y Optom.* 6:21-68.  
BARRAQUER, J. I. (1970) — Queratoplastia refractiva. vol. I (Recopilación de reim-  
presos).  
BILLINGHAM, R. E. (1973) — In Discussion on diagnosis of allograft reactions, in  
Corneal Graft Faillure: Elsevier. North-Holland. 346-347.  
CAPELLA, J. A. (1973) — Techniques of corneal cryopreservation. *Corneal preserva-  
tion.* Charles C. Thomas. Springfield. 308-317.  
CAPELLA, J. A. & KAUFMAN, H. E. (1973) — Corneal cryo-preservation and its cli-  
nical application, in corneal grafting, T.A. Casey; 219-232. Butterworths. London.



- CARDONA, H. et al. (1972) — Advances in prosthokeratoplasty in corneal grafting, T. A. Casey: 313-329. Butterworths. London.
- CASEY, T. A. (1973) — In Discussion on donor cornea quality, corneal graft failure. Elsevier. North-Holland.
- COLLIN, H. B. (1966) — Corneal lymphatics in alloxan vascularized rabbit eyes. Invest. Ophthalmol. 5:1.
- COWDIN, J.; KAUFMAN, H. E. & POLLACK, F. M. (1974) — The prognosis of keratoplasty after previous graft failures. Amer. J. Ophthalm. 78-523-525.
- DIAS DA SILVA, W. (1973) — Imunossupressão in Imunologia básica e aplicada, Bier e outros: 413-431, Guanabara — Koogan, RJ, Brasil.
- DICKSTEIN, S. & MAURICE, D. M. (1972) — The metabolic basis to the fluid pump in the cornea. J. Physiol., 221-29-
- EHLERS, N. & AHRONS, S. (1971a) — The influence of histocompatibility upon the corneal immune reaction after interlamellar allotransplantation in rabbits. Rissue Antigens. 23-31.
- EHLERS, N. & AHRONS, S. (1971b) — Corneal transplantation and histocompatibility. Acta Ophthalmol. 49:513-527.
- EHLERS, N. & F. KISSMEYER-NIELSEN (1973) — Influence of histocompatibility on the fate of the corneal transplantation. Corneal Graft Failure: 307-322. Elsevier. North-Holland.
- ELSTEIN, J. K. (1973) — In discussion on Eye Bank Procedure. Corneal Preservation. pp. 14-17. Charles C. Thomas.
- FINE, M. & STEIN, M. (1973) — The role of corneal vascularization in human corneal graft reactions, in Corneal Graft Failure: 193-208. Elsevier. North-Holland.
- GALVÃO, P. G. & ANTUNES, L. J. (1965) — Anticorpos heterófilos no sôro de coelhos imunizados com córnea de galinha. Rev. Bras. Oftalm. 24-43.
- GALVÃO, P. G. (1966) — Autotransplante de córnea Comunicação a XII Jornada Brasileira de Oftalmologia. Uberaba.
- GALVÃO, P. G. (1966) — Aspectos imunológicos da córnea. Comunicação a Sociedade de Medicina e Cirurgia do Rio de Janeiro.
- GALVÃO, P. G., ANTUNES, L. J. & GOES MONTEIRO, R. (1966) — Aspectos de imunologia do auto e do heterotransplante de córnea. VI Cong. Bras. Soc. Investig. Alerg. Imunopatol. Belo Horizonte.
- GALVÃO, P. G., ANTUNES, L. J. & GOES MONTEIRO, R. (1966) — Estudo experimental da auto-antigenicidade da córnea através da isoimunização. VI Cong. Bras. Soc. Investig. Alerg. Imunopatol. Belo Horizonte.
- GALVÃO, P. G. & GAMA, G. G. (1966) — Auto-anticorpos nas doenças do colágeno. sua relação com córneas e cartilagens homólogas e heterólogas. VI Cong. Bras. Soc. Investig. Alerg. Imunopatol. Belo Horizonte.
- GALVÃO, P. G., ANTUNES, L. J. e GOES MONTEIRO, R. (1966) — Precipitação de extrato corneano homólogo e heterólogo na presença de soros normais do homem e de animais. VI Cong. Bras. Soc. Investig. Alerg. Imunopatol. Belo Horizonte.
- GALVÃO, P. G. (1971) — Nuevas concepciones sobre la inmunologia de la cornea y queratopatias de auto-agresión. Inst. Barraquer de América.
- GALVÃO, P. G. (1972) — Córnea e uveítes. Segregação imunológica da córnea barreira hémató-cerática e ceratopatias de auto-agressão. Arq. Bras. de Oftalm. 35:8-25.
- GALVÃO, P. G. (1973) — Imunologia do transplante. Novos conceitos. Conferência magistral Prof. Ivo Corrêa Meyer. XVIII Cong. Bras. Oftalm. Salvador
- GALVÃO, P. G. & ANTUNES, L. J. (1973) — Produção de anticorpos circulantes no coelho. Inocular escleral. Rev. Bras. Oftalm. 22:53.
- GALVÃO, P. G. (1975) — Microcirurgia da córnea — Comunicação ao Congresso do Colégio Internacional de Cirurgiões — Rio de Janeiro.
- GALVÃO, P. G. (1975) — Tarsosconjuntivoplastia nas úlceras micóticas da córnea. Curso anual da Ass. Resid. Estag. H. S. Geraldo — Belo Horizonte.
- GALVÃO, P. G. (1975) — Comunicação Pessoal.
- GASSET, A. et al. (1973) — Thermokeratoplasty — Trans. Amer. Acad. Ophthalm. and Otolaryngol. 7:441-454.
- HANNA, e col. (1969) — RNA and protein synthesis by cells of human eye banks corneas. Ann. Ophthalmol., 1:53 -

- HARRIS, R. B. (1973) — Eye bank shipping container. Corneal preservation. Charles C. Thomas. Springfield. 19-26.
- HOEFLE, F. B. (1969) — Human corneal donor material :«in vivo» studies. Arch. Ophthalmol. 82:361-367.
- HOEFLE, F. B.; MAURICE, D. M. & SIBLEY, R. C. (1973) — Methods of Evaluating corneal donor material. Corneal preservation. Charles C. Thomas. Springfield. 96-108.
- HORN, D. L. V. & SCHULTZ, R. O. (1973) — Ultrastructural changes in the endothelium of human corneas stored under eye bank condition. Corneal preservation. Springfield. Charles C. Thomas 29-38.
- JONES, B. R. (1973) — Introduction to the problems of corneal graft failure. Corneal graft failure. 1-3 Elsevier. North-Holland.
- JONES, B. R. (1973) — Summing up. Present knowledge and problems of corneal graft failure. In corneal Graft failure: 349-354 — Elsevier — North-Holland.
- KAUFMAN, H. E. et al. (1965) — The endothelium in normal and abnormal corneas. Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Oto-laryngol. 69:331-367.
- KAUFMAN, H. E. et al. (1966) — The human corneal endothelium. Am. J. Ophthalmol. 61:835-841.
- KAUFMAN, F. E. (1973) — In Discussion on Survey of the Eye Bank Procedures. Corneal preservation: 13 Charles C. Thomas. Springfield.
- KAUFMAN, F. E.; CAPELLA, J. A. & POLLACK, F. M. (1973) — Keratoplasty with refrigerated and cryopreserved donor tissue. Corneal preservation. Charles C. Thomas. Springfield: 191-202.
- KEATES, R. H. (1973) — In Discussion on survey of Eye Bank Procedures. Corneal preservation: 13. Charles C. Thomas. Springfield.
- KEATES, R. H. (1973) — Clinical results with cryopreserved corneas. Corneal preservation. Charles C. Thomas. Springfield. 179-202.
- KHODADOUST, A. A. (1973) — Discussion on histocompatibility and grafting. Corneal graft failure. pp. 322. Elsevier. North-Holland.
- KHODADOUST, A. A. (1973) — The allograft rejection reaction: the leading cause of late failure of clinical corneal grafts in Corneal graft failure: 151-168. Elsevier — North-Holland.
- KING, J. H. (1970) — Donor eyes and eye banks. In Advances in keratoplasty (Bronson, N.R. II & Paton, R.T., eds.), pp. 313-318 Little, Brown, Boston (Int. Ophthalmol. Clin. 10, n° 2).
- KLEN, R. (1955) — Changes in antibody titres of ABO and Rh systems II Evaluation of 50 cases. Csl. Ophthalmol. 11, 246-249. Cited by Excerpta. Med. Section XII, 10, 45i.
- LANGHAM, M. E. (1960) — Corneal metabolism and its influence on corneal hydration in the excised eye and in the living animal. In The transparency of the cornea (Duke-Elder, Sir S. & Perkins E. S., eds.). pp. 87-110, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- MATHIEU, M. (1973) — Further results obtained with cryopreserved corneas. Corneal preservation. Charles C. Thomas. Springfield 172-178.
- MAUMNEE, A. E. (1973) — The role of steroids in the prevention of corneal graft failure in corneal graft failure: 241-256. Elsevier. North-Holland.
- MAURICE, D. M. (1961) — The use of permeability studies in the investigation of sub-microscopic structure. In Smelser, G. K. (Ed.) The structure of the eye. New York and London, Academic Press.
- MAURICE, D. M. (1968b) — The cornea and sclera. In The eye (Davson, H. ed.), vol. 1, pp. 566-567. Academic Press, New York & London
- McTIGUE, J. & KING Jr., J. H. (1973) — Glycerin preservation for lamellar keratoplasty. Corneal preservation. Charles C. Thomas. Springfield. 159-165.
- MEDEIROS, O. T. (1973) — Estudo biomicroscópico e imunológico da ceratoplastia experimental em coelhos, com córneas autólogas e homólogas frescas e conservadas em câmara úmida. Tese de doutoramento. Belo Horizonte.
- MEDEIROS, O. T.; CABRAL, S. C. e GALVÃO, P. G. (1973) — Observações clínicas e histológicas do comportamento de sutura de monofilamento de nylon na córnea. XVII. Cong. Bras. Oftalmol., Salvador.
- MEYER, H. G. (1966) — Klinische und experimentelle untersuchungen zur Bedeutung von Antikörpern bei keratoplastik in Böke, W. (1968) Immunopathologie des Auges. Bibl. Ophthalmol. 78:61-96.

- MICHEL, (1972) — Comunicação pessoal a Sherrard.
- MOORE, T. E. & ARONSON, S. B. (1973) — The role of surgical factors in corneal graft failure. In *Corneal Graft Failure*: 209-220. Elsevier. North-Holland.
- NELKEN, E. et al. (1957) — Studies on antigens in the human cornea and their relationship to corneal grafting in man. *J. Lab. Clin. Med.* 49, 745-752.
- PAUFIQUE, L. & CHARLIEUX, J. (1973) — Lamellar keratoplasty in corneal grafting. *T. A. Casey*: 121-176. Butterworths. London.
- PAULO FILHO, A. (1957) — Aspectos histológicos da córnea conservada. Tese. Rio de Janeiro.
- POLLACK, F. M. (1973) — In *Discussion on eye Bank Shipping Container*. Corneal preservation. Charles C. Thomas. Springfield. pp. 27.
- POLLACK, F. M. (1973) — Corneal graft rejection; clinic-pathological correlation in corneal graft failure: 127-150. Elsevier. North-Holland.
- QUEIRÓS, J. M. (1966) — Conservação de córneas pelo cloreto de sódio. Tese. Belo Horizonte.
- RABB, M. F. & BROSE, B. (1973) — Survey of eye bank procedures. Corneal preservation. Charles C. Thomas. Springfield. 3-18.
- RICE, N. S. C. & JONES, B. R. (1973) — Problems of corneal grafting in herpetic, in *Corneal graft failure*: 221-239. Elsevier. North Holland.
- ROBBINS, J. E.; CAPELLA, J. A. & KAUFMAN, H. E. (1965) — A study of endothelium in keratoplasty and corneal preservation. *Arch. Ophthalmol.* 73:242.
- ROCHA, H. & QUEIROZ, J. M. (1961) — Ensaio de heterotransplante lamelar e desidratação da córnea pelo cloreto de sódio. *Arch. Inst. Penido Burnier.* 18:25-55.
- ROCHA, H. & GALVAO, P. G. (1966) — Immunological aspects of corneal heterografts. *Int. Ophthal. Clin.* 6:19-52.
- ROCHA, H. & GALVAO, P. G. (1969) — Olho, reumatismo e auto-agressão. Livro jubilar Prof. Ivo Corra Meyer. Ed. por L. A. Osório. Porto Alegre: 165-234.
- ROCHA, H. (1972) — Auto-agressão em oftalmologia. Conferência. II Cong Luso-Hispano Bras. Oftal. Rio de Janeiro.
- ROCHA, H. (1975) — Comunicação pessoal. Belo Horizonte.
- RODRIGUES-BARRIOS, R.; MEERHOFF, E. & ZYLBERGLAJT, F. (1973) — *Bull. et Mem. Soc. Française d'Ophthalm.* 65-76.
- SALCEDA, S. R. (1967) — Endothelial cell survival after keratoplasty in rabbits. *Arch. Ophthalmol.* 78:745.
- SHAFFER, E. M. (1963) — Ultrastructural changes in moist chamber corneas. *Invest. Ophthalm.* 2:272.
- SCHULTZ, R. O. (1973) — Clinical results using cryopreserved corneal grafts. *Corneal preservation*: 166-171. Charles C. Thomas. Springfield.
- SHERRARD, E. S. (1973) — The quality of donor corneas for penetrating keratoplasty. *Corneal graft failure.* 43-54. Elsevier. North-Holland.
- SHERV, E. L. & GASSET, A. R. (1974) — Thermokeratoplasty (TK8) temperature profile. *Inv. Ophthalm.* 13:181-186.
- SILVERSTEIN, A. M. & KHODADOUST, A. A. (1973) — Transplantation immunobiology of the cornea: in *Corneal graft failure*: 105-125 Elsevier — North-Holland.
- SPRY, C. J. F. (1972) — Inhibition of lymphocyte recirculation by stress and corticotropin. *Cell. Immunol.* 4:86-92.
- STOCKER, F. W. (1969) — The transparency of corneal grafts. In *corneo-plastic surgery (Proc. and Int. Corneo-Plastic Conf.)* (Rycroft, P. V., ed.), pp. 495-499, Pergamon Press, Oxford.
- STOCKER, F. W. (1973) — Testing donor corneas with trypan blue. *Corneal preservation*: 62-74. Springfield. Charles C. Thomas.
- STOCKER, F. W. (1973) — Preservation of cornea and sclera by silicadessication. *Corneal preservation*. Charles C. Thomas. Springfield: 152-158.
- STRAMPELLI, B. & MARCHI, B. (1972) — Osteo-adonto-keratoprosthesis in corneal grafting. *T. A. Casey*: 291-312. Butterworths. London.
- VAN HORN, D. L. (1973) — Evaluativa of trypan blue staining of human corneal endothelium. *Corneal Preservation*: 75-80. Charles C. Thomas. Springfield.
- WALTMAN, S. R. (1970) — Measurements of human corneal endothelium permeability «in vivo». In *Pollack, F. M. (Ed.): Corneal and external diseases of the eye. First Interamerican Symposium.* Springfield. Charles C. Thomas.