

**Eduardo Andregretti**

**Alterações clínicas e morfológicas das córneas  
de coelhos implantadas com anéis intraestromais  
de FERRARA<sup>®</sup> com e sem revestimento  
de condroitin sulfato**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bases Gerais da Cirurgia – área de agressão, reparação, regeneração e transplantes de tecidos e de órgãos, da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, para obtenção do título de Mestre.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Rosa Bet de Moraes Silva**

**Botucatu - SP  
2008**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO  
DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
*BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus*

Andreghetti, Eduardo.

Alterações clínicas e morfológicas de córneas de coelhos implantadas com anéis intraestromais de FERRARA® com e sem revestimento de ácido condroitin sulfato / Eduardo Andreghetti. – Botucatu : [s.n.], 2008

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2008.

Orientador: Maria Rosa Bet de Moraes Silva

Assunto CAPES: 40101177

1. Córnea - Cirurgia - Estudos experimentais      2. Córnea -  
Transplante

CDD 617.71

Palavras-chave: Anel intraestromal; Anel de FERRARA®;  
Biocompatibilidade; Epitélio corneano; Estroma corneano; Revestimento com condroitin sulfato



*A DEUS por ter-me conduzido na  
solução de situações aparentemente  
impossíveis.*

*A meus amados pais Arlindo (in memoriam) e  
Élide por terem me proporcionado o dom da vida.*

*Aos meus filhos Marcelo, Mariana e Renato  
pela muitas alegrias proporcionadas nestes anos  
todos de crescimento, convivência e principalmente  
por terem me ensinado a valorizar a vida.*

*À Clélia pela oportunidade de termos vivido  
momentos tão maravilhosos.*

---

**Agradecimento Especial**

---

*À Profa. Dra. Maria Rosa Bet de Moraes  
Silva, minha orientadora, por seu incentivo e  
apoio inestimáveis nos momentos determinantes  
desta jornada.*

---



*Profa. Dra. Maria Aparecida Domingues do Depto. de Patologia da FMB-UNESP por seu incansável trabalho de análise morfológica das centenas de lâminas dos cortes histológicos*

*Dr. Paulo de Souza Segundo médico residente da Disciplina de Oftalmologia do Departamento Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da FMB-UNESP por sua dedicação, simplicidade e perseverança.*

*Aos Profs. Drs. Paulo Ferrara de Almeida Cunha e Frederico Bicalho Silva pelo apoio constante ,incentivo e promoção da pesquisa básica .*

*Ao Prof. Dr. Milton Massato Hida responsável por minha iniciação científica.*

*Aos Prof. Drs. Amélia Kamegazawa e Felipe Jorge Heimbeck por minha formação acadêmica em oftalmologia.*

*Aos colaboradores, Sra. Cinthia Escolástico e Nilse Ribeiro da Silva da secretaria do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço pelo profissionalismo e eficiência em suas funções.*

*Aos colegas do Instituto de Oftalmologia de Assis Dr. Valcir C. Antunes, Dra. Juliana A.C. Antunes e Dr. Victor A.C. Antunes, pela retaguarda nestes anos de atividades acadêmicas.*

*Aos colaboradores do Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço Sra. Marta Regina Russo Sargi e Sr. Carlos Alberto Martins pelo auxílio e trabalho de manutenção dos animais de experimentação.*

---

*Ao GAP (Grupo de Apoio à Pesquisa) da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, pelo estudo estatístico dos dados e abstracts.*

*À Profa. Renata Moura Campos Pardini, pela revisão do português.*

*À Sra. Adnice Ruiz Pedro pela sua valiosa atuação na formatação, digitação e encadernação dessa dissertação.*

*Ao colaboradores do Instituto de Oftalmologia de Assis, Cristina Isabel Paes Dantas, Oswaldo dos Santos, Maria Emília Rodrigues Leme, Geisa dos Santos Swartz, Fabíola Roldan da Costa Almeida, Vilma Ferreira Bueno de Brito pelo indispensável apoio.*

---



*Aproveitar o tempo!*  
*Mas o que é o tempo, que eu o aproveite?*  
*Aproveitar o tempo!*  
*Nenhum dia sem linhas...*  
*O trabalho honesto e superior...*  
*O trabalho à Virgílio, à Milton...*  
*Mas é tão difícil ser honesto ou superior!*  
*É tão pouco provável ser Milton ou ser Virgílio!*  
*Aproveitar o tempo!*  
*Tirar da alma os bocados precisos- nem mais nem menos-*  
*Para com eles juntar os cubos ajustados*  
*Que fazem gravuras certas na história*  
*(E estão certos também do lado de baixo que se não vê...)*

*Fernando Pessoa*

---





---

4.3. Exame histopatológico .....	58
4.3.1. Epitélio corneano .....	58
4.3.1.1. <i>Número de camadas do epitélio</i> .....	58
4.3.1.2. <i>Espongiose e degeneração hidrópica</i> .....	61
4.3.1.3. <i>Membrana basal</i> .....	64
4.3.2. Estroma corneano .....	65
4.3.3. Membrana de Descemet e Endotélio corneano .....	68
<b>5. Discussão</b> .....	69
5.1. Quanto ao animal de experimentação .....	70
5.2. Quanto aos resultados .....	70
5.2.1. Parâmetros Clínicos .....	70
5.2.1.1. <i>Paquimetria</i> .....	70
5.2.1.2. <i>Hiperemia conjuntival</i> .....	72
5.2.1.3. <i>Secreção conjuntival</i> .....	72
5.2.1.4. <i>Edema de córnea</i> .....	73
5.2.1.5. <i>Vascularização da córnea</i> .....	74
5.2.1.6. <i>Reação inflamatória de câmara anterior</i> .....	76
5.2.1.7. <i>Extrusão do anel</i> .....	76
5.2.2. Parâmetros morfológicos .....	78
5.2.2.1. <i>Epitélio corneano</i> .....	78
5.2.2.2. <i>Alterações morfológicas observadas no estroma corneano</i> .....	83
5.2.3. <i>Posição do anel no estroma corneano</i> .....	88
<b>6. Conclusões</b> .....	90
<b>7. Referências Bibliográficas</b> .....	92
<b>8. Anexos</b> .....	101

---



- Figura 1.** Corte histológico de córnea do Grupo controle (OE) coloração hematoxilina-eosina, HE 200 X..... 58
- Figura 2.** Corte histológico de córnea do Grupo controle (OE). a) coloração hematoxilina-eosina, b) PAS 1000 (Acido periódico de Schiff) e c) MASSON 1000X..... 59
- Figura 3.** Córnea de coelho de G1. Anel posicionado no terço posterior da córnea com acentuado afilamento da camada de células epiteliais e compactação do estroma na região do implante intracorneano. HE 100X..... 60
- Figura 4.** Córnea de coelho de G2. Edema inter e intracelular grau moderado (espongiose e degeneração hidrópica (balonização) nas camadas do epitélio sobre o anel. A diminuição do número de camadas é pouco acentuado em especial por diminuição da camada de células basais e poligonais. Compactação do estroma é correspondente. HE 400 X..... 61
- Figura 5.** Córnea de coelho de G1. Espongiose e degeneração hidrópica (balonização) intensa (detalhe). Intensa compactação estromal. HE 1000X..... 62
- Figura 6.** Edema inter e intracelular (detalhe) Tricrômio de Masson 1000X..... 62
- Figura 7.** Córnea de coelho de G1. Espongiose e degeneração hidrópica (balonização) intensa (detalhe). Intensa compactação estromal. PAS (Acido periódico de Schiff) 1000 X..... 63
-

<b>Figura 8.</b>	Córnea de coelho de G1 (OE). Membrana basal normal. HE 1000X.....	64
<b>Figura 9.</b>	Córnea de coelho de G1. Afilamento de membrana basal. PAS (Ácido periódico de Schiff) 1000 X.....	64
<b>Figura 10.</b>	Córnea de coelho de G1. Observam-se linfócitos, polimorfonucleares eosinófilos, histiócitos xantomatosos HE 1000X.....	65
<b>Figura 11.</b>	Córnea de coelho de G1. Observa-se neovasos contendo hemácias com as respectivas paredes endoteliais. HE 1000 X	66
<b>Figura 12.</b>	Córnea de coelho de G2. Observam-se células gigantes na borda da pseudo cápsula que envolve o anel intraestromal. HE 1000 X.....	67
<b>Figura 13.</b>	Córnea de coelho de G2. Observa-se que a membrana de Descemet e o endotélio estão preservados. Tricrômio de Masson 1000X.....	68

---



<b>Tabela 1.</b>	Valores da média (M) e desvio padrão (s) das paquimetrias ( $\mu\text{m}$ ) central e temporal, por momento, e valores de $p$ referentes às comparações entre os dados de paquimetria pré e pós operatória, central e temporal referentes aos grupos (G1) – anel sem revestimento e G2 - anel com revestimento.....	52
<b>Tabela 2.</b>	Hiperemia, secreção, edema, vascularização e extrusão em número (n) e porcentagem (%) assim como valores de $p$ referentes às comparações dos parâmetros clínicos: entre G1 e G2 nos diferentes momentos.....	53
<b>Tabela 3.</b>	Número de camadas de células epiteliais - Valores de mediana, 1º e 3º quartis, comparação dos valores entre G1 e G2 nas duas posições (lateral e sobre o anel) e valores de $p$ .	54
<b>Tabela 4.</b>	Espongiose, degeneração hidrópica, afinamento da membrana basal (MB) em porcentagem (%), comparações entre G1 e G2 nas duas posições e valores de $p$ .....	55
<b>Tabela 5.</b>	Neovascularização, células inflamatórias, células gigantes, histiócitos perianel, pseudocápsula, alteração da membrana de Descemet, alteração do endotélio em porcentagem (%), comparação entre G1 e G2 e valores de $p$ .....	56
<b>Tabela 6.</b>	Posição do anel no estroma corneano em número (n) e porcentagem (%) nos dois grupos experimentais.....	57



<b>OD:</b>	olho direito
<b>OE:</b>	olho esquerdo (grupo controle)
<b>G1:</b>	grupo 1 – Córneas implantadas com Anel Intraestromal de FERRARA <sup>®</sup> clássico (PMMA sem revestimento)
<b>G2:</b>	grupo 2 – Córneas implantadas com Anel Intraestromal de FERRARA <sup>®</sup> revestidos com ácido condroitin
<b>ECC:</b>	espessura corneana
<b>INTACS<sup>®</sup>:</b>	ICRr-Intra corneal ring
<b>M1:</b>	Primeiro dia de pós-operatório
<b>M2:</b>	Trigésimo dia de pós-operatório
<b>M3:</b>	sexagésimo dia de pós-operatório
<b>LASIK:</b>	Laser In situ Keratomileusis
<b>µm:</b>	micrômetro
<b>ml:</b>	mililitro
<b>Neodimium YAG (532µm):</b>	laser de neodímium
<b>PMMA :</b>	polimetilmetacrilato
<b>MD:</b>	mediana
<b>Q1:</b>	quartil 1
<b>Q3:</b>	quartil 3

---



**Objetivos:** Avaliar e comparar córneas de coelhos com implante de anel de FERRARA<sup>®</sup> com e sem revestimento de condroitin sulfato quanto à presença de hiperemia, secreção conjuntival, edema de córnea, vascularização corneana e extrusão do anel intraestromal e espessuras central e temporal da córnea. Pelo estudo histopatológico avaliar e comparar entre os dois grupos o número de camadas de células epiteliais sobre o anel, presença de alterações histopatológicas no estroma corneano, membrana de Descemet e endotélio.

**Material e métodos:** foram estudados 30 coelhos albinos da raça Norfolk divididos em 2 grupos experimentais cada qual formado por 15 coelhos em cujas córneas do olho direito foram implantados o anel de FERRARA<sup>®</sup> clássico (G1) e anel de FERRARA<sup>®</sup> revestido por condroitin sulfato (G2). Os olhos esquerdos formaram o grupo controle. Em todos os grupos foram avaliados parâmetros clínicos: paquimetria central e temporal, hiperemia conjuntival, secreção, edema de córnea, vascularização e extrusão do anel. Foram também avaliados parâmetros morfológicos: número de camadas do epitélio, o estroma corneano, a membrana de Descemet e o endotélio. Os parâmetros clínicos foram avaliados em 3 M1 (1º dia pós-operatório), M2 (30º dia pós-operatório) e M3 (60º dia pós-operatório). Os parâmetros morfológicos foram analisados no M3. As alterações encontradas foram descritas e comparadas através dos testes t de Student, Mann-Whitney, Wilcoxon para amostras independentes; Teste exato de Fisher, Teste Qui-quadrado, Teste de McNemar para amostras dependentes, conforme o parâmetro. **Resultados:** Quanto à espessura central da córnea ocorreu um aumento estatisticamente significativo entre os momentos antes e após a implantação nos dois grupos e aumento na espessura temporal apenas no G1. Os demais parâmetros clínicos não mostraram diferença significativa entre os dois grupos. Quanto aos parâmetros morfológicos, o número de camadas do epitélio,

---

apesar de estatisticamente semelhante nos dois grupos, manteve-se mais preservado no G2. As demais alterações do epitélio (espongiose, degeneração hidrópica e afilamento da membrana basal) não mostraram diferença significativa entre os dois grupos. Quanto às alterações do estroma corneano, também não houve diferença significativa entre os dois grupos mas, a neovascularização, células inflamatórias e células gigantes ocorreram de forma diferentes. A neovascularização ocorreu em 27,3% de G1 e 13,3% de G2. As células inflamatórias ocorreram em 60% de G1 e 33,3% de G2 e as células gigantes ocorreram em 20% de G2 e não no G1. **Conclusão:** 1) Não houve diferenças nos parâmetros: hiperemia, secreção edema de córnea e vascularização entre os dois tipos de anel intraestromal; 2) Houve extrusão apenas com anel intraestromal sem revestimento; 3) Os anéis intraestromais com e sem revestimento aumentaram a espessura central da córnea sem apresentar diferença entre os dois tipos de anel; 4) Apenas os anéis intraestromais sem revestimento causaram aumento da espessura temporal da córnea; 5) Anéis intraestromais com e sem revestimento levaram à redução do número de camadas de células epiteliais, acontecimento semelhante para os dois tipos de anel; 6) Degeneração hidrópica, espongiose e afilamento da membrana basal (MB) ocorreram com ambos os tipos de anel de forma semelhante; 7) Neovascularização, células inflamatórias, células gigantes, histiócitos perianel e pseudocápsula ocorrem de forma semelhante com os dois tipos de anel intraestromal; 8) Nenhum dos dois tipos de anel intraestromal causou alterações na membrana de Descemet e no endotélio.

**Palavras-chave:** Anel intraestromal; Anel intracorneano de FERRARA<sup>®</sup>; epitélio corneano; estroma corneano, biocompatibilidade, anel intracorneano revestido com condroitin sulfato.

---



**Purposes:** To evaluate and compare rabbit corneas with chondroitin-sulfate-coated and uncoated Ferrara ring implants as regards the presence of hyperemia, conjunctival secretion, corneal edema, corneal vascularization and extrusion of the intrastromal ring as well as central and temporal corneal thickness. To evaluate and compare the number of epithelial cell layers on the ring and the presence of histopathological alterations in the corneal stroma, Descemet's membrane and endothelium between the two groups by means of a histopathological investigation. **Material and methods:** Thirty albino Norfolk rabbits were studied in 2 experimental groups. Each group comprised 15 rabbits whose right-eye cornea received a classic Ferrara ring implant in group 1 (G1) and a Ferrara ring coated by chondroitin sulfate in Group 2 (G2). Their left eyes formed the control group. The following clinical parameters were evaluated in all groups: central and temporal pachymetry, conjunctival hyperemia, secretion, corneal edema, vascularization and ring extrusion. Morphological parameters were also evaluated as follows: number of epithelial layers, corneal stroma, Descemet's membrane and endothelium. The clinical parameters were evaluated at 3 moments: M1 (first post-operative day), M2 (30<sup>th</sup> post-operative day) and M3 (60<sup>th</sup> post-operative day). The morphological parameters were analyzed at M3. The alterations found were described and compared by Student's t, Mann-Whitney's and Wilcoxon's tests for independent samples and by Fisher's exact, Chi-Square and McNemar's tests for dependent samples, according to the different parameters. **Results:** As regards central corneal thickness, a statistically significant increase was found between the moments prior to and after implantation in the two groups. Temporal thickness increase was observed only in G1. The other clinical parameters showed no significant differences between

---

the two groups. In relation to the morphological parameters, although the number of epithelial layers was statistically similar in the two groups, it remained more preserved in G2. The other epithelial alterations (spongiosis, hydropic degeneration and basal membrane tapering) did not show significant differences between the two groups. With regard to corneal stroma alterations, there were also no significant differences between the two groups; nevertheless, neovascularization, inflammatory and giant cells occurred in a rather different fashion. Neovascularization occurred in 27.3% of G1 and 13.3% of G2; inflammatory cells were found in 60% of G1 and 33.3% of G2; giant cells occurred in 20% of G2. **Conclusion:** 1) No differences were found for parameters hyperemia, corneal edema secretion or vascularization between the two Ferrara ring types; 2) Extrusion occurred only with uncoated Ferrara rings; 3) The coated and uncoated Ferrara rings increased central corneal thickness, which did not differ between the two ring types; 4) Only the uncoated Ferrara rings led to corneal temporal thickness increase; 5) Coated and uncoated Ferrara rings led to a reduction in the number of epithelial cells which was similar for both ring types; 6) Hydropic degeneration, spongiosis and basal membrane tapering occurred with both ring types in a similar fashion; 7) Neovascularization, inflammatory cells, giant cells, peri-ring histiocytes, and pseudocapsule occurred similarly with both Ferrara ring types. 8- Neither Ferrara ring type caused alterations to Descemet's membrane or the endothelium.

**Key-words:** intracorneal ring segments; FERRARA<sup>®</sup> intracorneal ring segments, FERRARA<sup>®</sup> intracorneal coated ring segments; keratoconus, Surgery, prosthesis implants, corneal biocompatibility, corneal epithelium, corneal stroma, chondroitin sulphate coating.

---

## **1. Introdução**

---

A córnea forma a parte externa do globo ocular e está em continuidade com a esclerótica. É responsável por grande parte da refração da luz respondendo por aproximadamente 40 dioptrias tornando-a extremamente importante para a boa visão e, para que isto ocorra, a córnea deve manter suas características de brilho, transparência e regularidade de superfície intactos.

Patologias que deformam a córnea alteram muito a refração e, portanto, a acuidade visual. São irregularidades que, por provocarem astigmatismo irregular, em muitos casos impedem a correção com os mais diversos tipos de recursos ópticos disponíveis. Uma das principais patologias que causam este tipo de alterações na córnea é o ceratocone.

Muito tem sido escrito sobre o ceratocone. Recentes avanços na tecnologia em lentes de contato, cirurgia corneana e metodologia laboratorial têm proporcionado os meios para a melhor compreensão desta doença (Krachmer et al, 1984).

Além do ceratocone, estão entre as principais causas de deformidade da superfície corneana as iatrogenias pós-cirurgia de correção de grau e as ceratoplastias. Estas últimas podem provocar o aparecimento de ectasias de intensidades não compatíveis com correção óptica, sendo necessário lançar-se mão de procedimentos invasivos.

O Ceratocone é definido como um prolapso localizado na face anterior e/ou posterior da córnea e apresenta uma forma cônica devido o seu afilamento e protrusão. O ceratocone posterior (Krachmer & Rodrigues, 1978) é

---

uma entidade relativamente rara e que não traz isoladamente, repercussão clínica, portanto, enfocaremos o ceratocone anterior. Nesse caso, o processo é não inflamatório, a infiltração celular e vascularização não ocorrem, o processo geralmente é bilateral e, embora envolva os dois terços centrais da córnea, muitas vezes é centralizado abaixo e adjacente ao eixo visual. A progressão da doença resulta, desde pequena, a grande piora na qualidade visual (Krachmer & Rodrigues, 1978; Krachmer et al, 1984; Schor, 1988).

Estima-se que a alteração ocorra entre 50 a 230 por 100.000 habitantes, com uma taxa anual de 2 casos novos em cada 100.000 habitantes (Kennedy, 1986). Duke-Elder & Leigh (1965) observaram que a incidência parece variar entre diferentes países.

O ceratocone ocorre em pessoas de todas as raças. Uma predominância de aparecimento no sexo feminino tem sido observada na maioria dos estudos, porém, a porcentagem relativa varia (Hammerstein et al, 1974).

O aumento da curvatura corneana dá-se por um defeito estrutural no estroma da mesma. Cortes histopatológicos mostram ausência de membrana de Bowman e irregularidade da membrana basal nas áreas de prolapso (McPherson & Kiffney, 1968). A partir desse defeito estrutural, a córnea não mais suporta a pressão intra-ocular e se deforma. Existem inúmeros graus de deformações e, portanto, de acometimento clínico.

O que uniformiza a doença é seu caráter ectásico focal. Córneas globalmente abauladas não apresentam ceratocone, assim como córneas com

---

uma região ligeiramente mais abaulada (por exemplo, 0,1 dioptria). A partir da ectasia estabelecida, sinais clínicos começam a ser notados. Como consequência inicial do ceratocone tem-se a piora da acuidade visual corrigida com óculos. Tal fato é consequência direta da deformidade da superfície anterior da córnea. Os raios luminosos que seriam refratados de modo harmônico atingem uma área de curvatura muito mais elevada e são refratados irregularmente, criando imagens retinianas desfocalizadas e não passíveis de focalização por um sistema óptico convencional, do tipo óculos. Há, portanto, a determinação de um astigmatismo irregular com miopia geralmente associada (Schor, 1988).

Pacientes jovens, principalmente atópicos, com diminuição da acuidade visual, astigmatismo moderado e impossibilidade de correção 20/20 ou 1,0 devem ser investigados com a hipótese de ceratocone em mente (Sawagchi et al, 1989).

Há formas frustras e formas graves de ceratocone, nestas o diagnóstico é feito por exame a olho nu (sinal de Musson), que consiste em uma angulação da pálpebra inferior causada pela protrusão da córnea no ceratocone avançado (Krachmer, 1984).

A ectasia leva a distúrbios do filme lacrimal que deposita hemosiderina na base do cone, na parte profunda do epitélio, sendo um dos sinais precoces de ceratocone, o anel de Fleischer, definido como uma linha de ferro de localização sub epitelial (Duke-Elder & Leigh, 1965). Com o progredir da ectasia observam-se linhas de “stress” em todos os níveis do estroma ou estrias de Haab

---

e eventual rotura na membrana de Descemet com invasão do estroma por humor aquoso, hidropsia (Krachmer et al, 1984).

Novas tecnologias (biotecnologia) permitem uma discussão rica em relação à etiologia do ceratocone (Schor, 1988). Estudos de gerações mostraram uma tendência de transmissão genética do ceratocone. A ocorrência familiar de ceratocone clinicamente evidente é de 20% (Sallum, 1995).

Os trabalhos clássicos de Waardenburg et al, 1961; Falls & Allen, 1969; Hammernstein et al, 1974 e Hallermann & Wilson, 1977, descrevem padrão de herança autossômica dominante irregular na qual, aproximadamente, um em dez parentes consangüíneos são afetados, ao invés de o esperado, um em dois. Os autores explicam esse fato pela penetrância incompleta (grau de penetrância de 20%) ou expressividade variável do gene.

Com o aparecimento do vídeo ceratografia computadorizada (topografia corneana) pacientes, antes considerados normais, passaram a ter diagnóstico de possível ceratocone. São córneas com astigmatismo ligeiramente irregular, moderadamente assimétrico e com tendência à localização de uma área de prolapso (Rabinowitz & McDonnell, 1989). Exames genealógicos baseados nestas topografias mostraram que filho de pais com ceratocone têm chance de 33% de apresentarem topografias compatíveis com possíveis ceratocones e 43% de chance de ter topografia com alterações mínimas (Sallum, 1995).

Há discussão sobre a participação de fatores ambientais na origem e progressão da doença, o que classificaria a ceratocone como uma

---

doença multifatorial. O maior número de atópicos que coçam os olhos, com ceratocone, certamente investe de importância tal fato, assim como a maior frequência de pacientes com ceratocone em climas secos e quentes que propiciam o aparecimento das atopias. A progressão do ceratocone em pacientes usuários de lentes de contato também é fato, porém, não existem trabalhos definitivos sobre o tema (Bareston & Baer, 1942; Schor, 1988).

Do ponto de vista bioquímico, determinou-se que as córneas cônicas produzem mais enzimas colagenolíticas em meios de cultura que as córneas normais, o que poderia explicar parte das alterações na membrana de Bowman e membrana basal. Kenney et al, 1994). Além disso, admite-se que o ceratocone possa ser resultante de um erro metabólico dos ceratinócitos distróficos, o que causaria diminuição na síntese do colágeno normal e aumento na produção de glico saminoglicanas que não possuem função estrutural. A deficiência de uma enzima específica, a glicose-6-fosfatase desidrogenase, também pode estar envolvida na patogenia da doença levando à peroxidação e ao dano da porção lipídica da membrana basal epitelial, com deterioração do colágeno estromal (Sawagchi et al, 1989).

Com a análise de aproximadamente 8.000 pontos, a topografia corneana permite a comparação de áreas corneanas adjacentes. O aspecto clássico de uma esfera, com o centro mais curvo que a periferia ou a imagem em “asa de borboleta”, representam variações da normalidade. Córneas com assimetria, nas quais áreas opostas (em relação à linha de visão) têm curvaturas diferentes, são interpretadas como anormais (Rabinowitz & McDonnell, 1989).

---

O tratamento clínico dos efeitos ópticos do ceratocone varia de nenhum tratamento à correção com óculos e lentes de contato. Como é de se esperar, a estabilidade de uma superfície esférica (lente de contato) sobre outra irregular (córnea com ceratocone) é pequena. Usa-se, neste caso, o artifício do aumento da área de contato periférico, como o que ocorre com as lentes de contato gelatinosas na tentativa de buscar apoio em regiões menos irregulares. É a solução que aparece em combinações de lentes gelatinosas como base e rígidas gás permeáveis por cima ou lentes “a cavaleiro” ou piggyback (Krachmer et al, 1984; Tsubota et al, 1994).

Na impossibilidade de adaptação de lente de contato ou quando há opacificação corneana, o tratamento clássico do ceratocone é a cirurgia de ceratoplastia lamelar ou penetrante que consiste na trepanação da córnea ectasiada a um diâmetro apropriado e a colocação, com suturas separadas ou contínuas, de um botão de uma córnea doadora obtida nos Bancos de Olhos e nas atuais Centrais de Procura de Córneas, onde os pacientes são inscritos e chamados em ordem cronológica de inscrição. A dependência da agilidade das filas de doação tem sido um fator limitante na realização dos transplantes e a demora para se receber uma córnea varia de região para região do Brasil, levando meses a anos (Silva et al, 2000). A ceratoplastia (transplante de córnea) é um procedimento que demanda sub-especialização do oftalmologista e pode evoluir com complicações que podem levar a cegueira, infecções, rejeições, glaucoma secundário. Em geral, no ceratocone o índice de rejeição e falência primária são baixos de, aproximadamente, 5% (Nosé, 1996). O astigmatismo pode restringir o

---

prognóstico visual, como demonstrado em publicação de Buzard & Fundingsland, 1997.

Em 1949, Barraquer publicou pela primeira vez um experimento em coelhos sobre a inclusão de uma lentícula intracorneana para alterar a refração do globo ocular. Inicialmente, foram introduzidas em córneas de gatos e coelhos, através de uma bolsa, uma lente de vidro Flint com 6 mm de diâmetro e 10 dioptrias positivas. A tolerância foi muito ruim, uma vez que ocorria necrose corneana com posterior eliminação da lentícula (Barraquer, 1949).

Outros materiais (Plexiglas) com diferentes formatos, tamanhos e fenestrações foram utilizados, porém, em todos ocorria necrose severa na porção da córnea relativa a sua metade epitelial, ocorrendo relativa preservação da parte do estroma relacionado ao endotélio. Barraquer tirou algumas conclusões sobre os possíveis fatores que estariam desencadeando o severo dano tecidual relatado. Além da compressão exercida pela periferia da lentícula sobre as camadas anteriores da córnea, o fato da porção endotelial do estroma estar preservada levou à hipótese de que a ocorrência da necrose seria, principalmente, de natureza física, com o impedimento da troca metabólica entre as camadas anterior e posterior da córnea. Ao utilizar um material semipermeável (celloidin) os autores observaram que, inicialmente, ocorreu boa aceitação pela córnea (transparência mais duradoura) porém, com o tempo, ocorreu reação de intolerância ao corpo estranho levando à suposição de que um componente tóxico estaria envolvido na reação aos materiais empregados. Após vários estudos Barraquer concluiu que o melhor material para implantar no estroma corneano

---

seria a própria córnea. Foram realizados experimentos em coelhos e posteriormente em humanos com enxertos homoplásticos frescos e lenticulas silico – desidratadas de 6 a 7 mm de diâmetro com graus positivos ou negativos. A biotolerância foi muito boa ocorrendo, após tempo variável, uma “substituição” de todas as lamelas corneanas implantadas por lamelas do hospedeiro e com efeito óptico, em grande parte dos casos, compatível com o planejado. Barraquer denominou este procedimento de Keratofacia do grego *kerato* (córnea), *facia* (lente) (Krwawicz, 1961; Barraquer, 1966) reproduzindo o experimento de Barraquer observou que o implante de lentes plásticas no setor temporal da córnea e sua posterior remoção muda a curvatura da córnea sem alterações significantes de sua transparência.

Simon & Barraquer, 1988, foram os primeiros pesquisadores a apresentar um método para a correção cirúrgica de miopia através da inserção de anéis intracorneanos em coelhos sendo que, como principais complicações, observaram extrusões freqüentes ou alterações na região anterior do implante. Inicialmente, lentes desenvolvidas para correção de miopias leves e moderadas, os anéis intraestromais, apresentaram como vantagem uma maior previsibilidade dos resultados e maior controle da reação cicatricial devido à biocompatibilidade dos implantes utilizados na maior parte das vezes de PMMA (polimetilmetacrilato).

Os implantes intracorneanos têm sido utilizados segundo a “Lei da Espessura”: “Toda vez que um tecido for adicionado à periferia ou removido

---

do centro da córnea, um correspondente aplanamento é obtido e vice-versa” (Belau et al, 1964; Barraquer, 1966).

Simon et al, 1990, demonstraram que a injeção de um gel sintético, aumentando a espessura da periferia da córnea pode aplanar a área central. A relação entre o espessamento corneano e o resultante aplanamento da topografia corneana foi discutida por Barraquer, 1989.

Simon & Barraquer, 1988, apresentaram um método para a correção cirúrgica de miopia através da inserção de anéis intracorneanos em coelhos.

O anel intracorneano ICS<sup>®</sup> ou INTACS<sup>®</sup> é produzido de Polimetilmetacrilato (PMMA), tem 0.3 mm de espessura, 0.7 mm de largura e diâmetros variando de 7.75 a 9.00mm, sua secção é quadrangular e é implantado em um canal lamelar circular realizado a, aproximadamente, 2/3 de profundidade com um instrumento dissecante que requer apenas uma incisão na média periferia da córnea (Burris et al, 1991).

Os protótipos do ICS<sup>®</sup> foram implantados em coelhos por Fleming et al, 1991, e em olhos do Banco de Olhos por Burris et al, em 1988, e mostraram que geravam alterações refrativas.

A teoria da expansão pelo anel propõe que um progressivo aumento da circunferência externa do anel produzirá um respectivo aplanamento do centro da córnea, seguindo uma função matemática curvilínea (Fleming et al, 1989).

---

Nosé et al, 1996, relatam estudo investigacional com o implante de ICS<sup>®</sup> com 0,3mm de espessura, em 10 pacientes míopes, para avaliar a eficácia, previsibilidade e estabilidade do efeito refrativo produzido pelo ICS<sup>®</sup> em um período de 12 meses. Como conclusão, estes autores referem que estes estudos preliminares mostram que anéis com estas características reduzem, aproximadamente, de 1,50 a 3,00 D de miopia e mantêm a visão corrigida com óculos.

Em 1986, foi desenvolvido no Brasil um anel corneano intraestromal (ACI) patenteado como anel intraestromal de FERRARA<sup>®</sup> que foi utilizado pela, primeira vez, em 1991, em um paciente amblíope tendo demonstrado acentuada melhora da superfície corneana e tem sido indicado para a correção de miopia de até 15 graus, ceratocone e astigmatismo irregular pós transplante de córnea (Silva et al, 2000).

Este anel difere do ICS<sup>®</sup> em formato, tamanho, espessura e formato do corte transversal .

Embora o uso de anéis intraestromais para correção de erros refrativos não seja um conceito novo a técnica, instrumental e próteses ainda estão sob investigação (Nosé et al, 1996).

Uma série de trabalhos clínicos tem sido realizada nos Estados Unidos, Europa e Brasil com os anéis intracorneanos avaliando seu efeito de aplanamento e regularização da superfície corneana, principalmente em pacientes com ceratocone e portadores de miopia, avaliando aspectos refracionais,

---

topográficos, variações de técnicas cirúrgicas (Burns et al,1996; Nosé et al, 1996; Holmes-Higgin et al, 1999; Barach et al, 1999; Silva et al, 2000; Guttman & Ferrara, 2001; Sigamor et al, 2001; Gonzales et al, 2002; Moreira et al, 2002; Cunha et al, 2003). Contudo, é observada a escassez na literatura de estudos básicos sobre a interação dos anéis intraestromais com o estroma corneano sob ponto de vista morfológico, com o objetivo de avaliar, com mais precisão, as possíveis etiologias de efeitos adversos que possam ocorrer com a permanência dos anéis na córnea.

---

## **2. Objetivos**

---

Avaliar e comparar córneas de coelhos com implante de anel de FERRARA<sup>®</sup> com e sem revestimento de condroitin sulfato quanto a:

- 1) Presença de hiperemia, secreção conjuntival, edema de córnea, vascularização corneana e extrusão do anel;
  - 2) espessura central da córnea;
  - 3) espessura temporal da córnea;
  - 4) número de camadas de células epiteliais sobre e lateral ao anel;
  - 5) presença de alterações histopatológicas no estroma corneano,
  - 6) presença de alterações na membrana de Descemet e no endotélio.
-

### **3. Material e Métodos**

---

---

### 3.3. ANIMAIS UTILIZADOS

Foram estudados 30 coelhos albinos da raça Norfolk do sexo feminino, saudáveis, pesando entre 1.550g e 2.650g e com olhos de aspecto normal ao exame realizado com microscópio cirúrgico da marca DF Vaconcelos. Os animais foram cedidos pelo Biotério da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP. O experimento foi feito após a aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP (protocolo nº 502 – aprovado em 19/10/2005) (anexo 1).

### 3.4. GRUPOS EXPERIMENTAIS

3.2.1. Grupo 1 (G1) – formado por 15 coelhos implantados com anel intraestromal de FERRARA<sup>®</sup> de PMMA clássico, na córnea do olho direito (OD).

3.2.2. Grupo 2 (G2) – formado por 15 coelhos implantados com anel de FERRARA<sup>®</sup> de PMMA recoberto por condroitin sulfato na córnea do olho direito (OD).

3.2.3. As córneas dos olhos esquerdos (OE) formaram o grupo controle (não tiveram implante de anel intraestromal).

---

### **3.3. ATRIBUTOS ESTUDADOS**

#### **3.3.1. Parâmetros clínicos**

- 3.3.1.1. espessura central e temporal das córneas
- 3.3.1.2 hiperemia conjuntival
- 3.3.1.3 transparência corneana
- 3.3.1.4 secreção conjuntival
- 3.3.1.5 extrusão do anel
- 3.3.1.6 neovascularização da córnea

Estes parâmetros foram avaliados com o auxílio de microscópio cirúrgico.

#### **3.3.2. Parâmetros morfológicos**

- 3.3.2.1 epitélio corneano
  - 3.3.2.2 estroma corneano
  - 3.3.2.3 membrana de Descemet
  - 3.3.2.4 endotélio corneano
-

Estes parâmetros foram avaliados por exame histopatológico e com as colorações de Hematoxilina e eosina (HE), ácido periódico de Schiff (PAS) e ácido tricrômio de Masson.

### **3.4. MOMENTOS EXPERIMENTAIS**

3.4.1. Os parâmetros clínicos foram avaliados nos seguintes momentos:

- 3.4.1.1 Momento 1 (M1) um dia após implante do anel
- 3.4.1.2 Momento 2 (M2) 30 dias após implante do anel
- 3.4.1.3 Momento 3 (M3) 60 dias após implante do anel

3.4.2. Os parâmetros morfológicos foram avaliados no M3.

### **3.5. SEQÜÊNCIA EXPERIMENTAL**

3.5.1 Pesagem do animal

3.5.2 Identificação do coelho, com marca de caneta hidrográfica na orelha

3.5.3 Sorteio do animal

3.5.4 Anestesia endovenosa com pentobarbital sódico

3.5.5 Posicionamento na goteira de Claude Bernard em decúbito lateral

---

- 
- 3.5.6 Exame dos olhos utilizando o microscópio cirúrgico
  - 3.5.7 Colocação de brefarostato de Barraquer no OD
  - 3.5.8 Paquimetria ultrassônica das córneas de ambos os olhos (AO)
  - 3.5.9 Procedimento de anti-sepsia periocular e conjuntival com PVPI
  - 3.5.10 Irrigação do OD com ringer lactato
  - 3.5.11 Marcação do centro óptico com gancho de Sinsky (OD)
  - 3.5.12 Marcação da zona óptica de 7 mm (OD)
  - 3.5.13 Calibração de bisturi de diamante a 80% da espessura corneana (OD)
  - 3.5.14 Realização de incisão às 12 horas com 1.2 mm de extensão com bisturi de diamante (OD)
  - 3.5.15 Delaminação temporal do estroma corneano com espátula de Soares (OD)
  - 3.5.16 Complemento da delaminação formando um túnel com espátula única de FERRARA<sup>®</sup> (OD)
  - 3.5.17 Checagem do túnel com espátula única de FERRARA<sup>®</sup> (OD)
  - 3.5.18 Introdução do anel intraestromal de FERRARA<sup>®</sup> na área tunelizada temporal (OD).
  - 3.5.19 Instilação de 1 gota de colírio de ofloxacina em ambos os olhos (AO)
  - 3.5.20 Manutenção dos animais em gaiolas individuais por 60 dias
  - 3.5.21 Alimentação e ingestão hídrica “*ad libitum*”.
-

3.5.22 Instilação de colírio de ofloxacina de h/h no primeiro dia pós-operatório e a seguir de oito em oito horas até o 15º dia de pós-operatório em ambos os olhos (AO)

3.5.23 Observação nos M1, M2 e M3 quanto aos parâmetros clínicos.

3.5.23 Anestesia dos animais no momento M3

3.5.24 Realizada marcação das córneas com tinta cirúrgica as 12, 3 e 9 horas

3.5.25 Sacrifício do animais com de pentobarbital sódico

3.5.26 Enucleação em M3

## **3.6. TÉCNICAS UTILIZADAS**

### **3.6.1 Anestesia**

Os animais foram anestesiados com injeção de pentobarbital sódico a 4% na dose de 1 ml/kg na veia marginal da orelha com seringa de 5 ml e agulha 25x7 (G22). Dose complementar de 0.5 ml da solução de pentobarbital sódico foi administrada quando necessária. Foi realizada anestesia tópica adicional com colírio anestésico (Cloridrato de tetracaína 1%+ cloridrato de fenilefrina 0.1%).

---

### **3.6.2. Enucleação**

- 3.6.2.1 Posicionamento do blefarostato de Barraquer
  - 3.6.2.2 Peritomia limbar
  - 3.6.2.3 Secção dos músculos oculares externos
  - 3.6.2.4 Secção do nervo óptico
  - 3.6.2.5 Acondicionamento do globo ocular em uma gaze umedecida com ringer lactato.
  - 3.6.2.6 Incisão limbar com bisturi lâmina 11 e ampliação temporal
  - 3.6.2.7 Completada a remoção da córnea em 360° com tesoura de Westcott
  - 3.6.2.8 Seccionada a hemicórnea com anel intraestromal de FERRARA® orientando-se pelas marcas realizadas com tinta cirúrgica prévia
  - 3.6.2.9 Secção da hemicórnea em dois quartos, sendo que 1 deles foi acondicionado em formol 10%. Este procedimento foi realizado em placa de parafina e a secção feita na região correspondente à metade do anel
-

### 3.6.3. Preparo das córneas para exame histopatológico

O preparo das córneas para exame histopatológico foi realizado conforme técnica do Laboratório de Patologia Experimental da Faculdade de Medicina de Botucatu UNESP.

## 3.7. MATERIAIS, DROGAS E SOLUÇÕES UTILIZADOS

3.7.1 Anel de FERRARA<sup>®</sup> clássico (Patente INPI N° 0000016-7 de 06/01/2000), é um corpo polimérico sólido de polimetilmetacrilato (PMMA apresentando diâmetro e espessura variáveis. Os anéis utilizados no presente experimento apresentam as seguintes características: espessura de 125 micra, angulação de 150° de arco, diâmetro do ápice de 5mm, dois orifícios nas extremidades, secção piramidal com base constante, produzidos pela empresa Visiontech Medical Optic LTDA., Belo Horizonte MG.

3.7.2 Anel de FERRARA<sup>®</sup> revestido por condroitin sulfato (Patente PCT/BR 01/00002 de 08/04/2002), é um corpo polimérico sólido de PMMA possuindo a superfície externa revestida por um material reativo ao polímero biocompatível e covalentemente ligado ao corpo do dispositivo do implante apresentando características químicas semelhantes à substância fundamental da córnea (condroitin sulfato). As ligações covalentes que se formam dão origem a pontes de ancoragem entre a camada do material reativo e o corpo do implante. O anel de FERRARA<sup>®</sup> revestido por condroitin sulfato apresenta as seguintes características: espessura de 125 micra, angulação de 150°

---

---

de arco, diâmetro do ápice de 5 mm, dois orifícios nas extremidades, secção piramidal com base constante. Esses anéis foram produzidos pela empresa Visiontech Medical Optic LTDA., Belo Horizonte-MG e distribuídos pela FERRARA Ophthalmic LTDA., Belo Horizonte-MG e recobertos com condroitin sulfato no Laboratório de Engenharia de Polímeros da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte-MG.

- 3.7.3 Ringer lactato EQUIPLEX<sup>®</sup>, São Paulo – SP.
- 3.7.4 Anestésico (Cloridrato de tetracaína 1%+ cloridrato de fenilefrina 0.1%) ALLERGAN<sup>®</sup> - Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda., São Paulo-SP.
- 3.7.5 Pentobarbital sódico – solução a 4% (5ml de álcool absoluto, 45ml de água destilada e 2 g de pó de pentobarbital sódico-Cristália).
- 3.7.6 Oflox (ofloxacina 0,3%) ALLERGAN<sup>®</sup> - Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda., São Paulo – SP.
- 3.7.7 Iodopovidona PVPI em solução aquosa tópico 10% de iodo ativo- Indústria Farmacêutica Rioquímica LTDA., Rio de Janeiro – RJ.
- 3.7.8 Iodopovidona PVPI 5% colírios. Ophthalmos (Ophthalmos fórmulas oficinais LTDA.), São Paulo – SP.
- 3.7.9 Seringas descartáveis de 3, 5 e 10 ml BD Plastipak<sup>®</sup>, Curitiba-PR.
- 3.7.10 Agulhas 25/7 (G22) Plastipak<sup>®</sup>, Curitiba-PR.
- 3.7.11 Água Destilada, ampola 10 ml, Halex Istar.
-

## **4. Resultados**

---

## 4.1. PARÂMETROS CLÍNICOS

### 4.1.1. Paquimetria

Os valores da média (M) e desvio padrão (s) da espessura central e temporal da córnea dos ( $\mu\text{m}$ ) grupos experimentais (G1 e G2) e do grupo controle, pré e pós 60 dias do implante, assim como as comparações entre as médias e valores de  $p$  estão resumidos na tabela 1.

**Tabela 1.** Valores da média (M) e desvio padrão (s) das paquimetrias ( $\mu\text{m}$ ) central e temporal, por momento, e valores de  $p$  referentes às comparações entre os dados de paquimetria pré e pós-operatória, central e temporal referentes aos grupos (G1) – anel sem revestimento e G2 - anel com revestimento.

	Momento	G1		G2		$p$
		M ( $\mu\text{m}$ )	s	M ( $\mu\text{m}$ )	s	
OD	Central	Pré-op.	393,40+-18,25	380,87+-13,92	0,044 <sup>(1)</sup>	
		Pós-op.	428,2+-41,13	410,53+-46,65	0,279 <sup>(1)</sup>	
		$p$	0,008 <sup>(3)</sup>	0,017 <sup>(3)</sup>		
	Temporal	Pré-op.	389,07+-22,36	374,8+-15,31	0,051 <sup>(1)</sup>	
		Pós-op.	410(389;443)	381(349;401)	0,022 <sup>(2)</sup>	
		$p$	0,038 <sup>(4)</sup>	0,363 <sup>(4)</sup>		
OE	Central	Pré-op.	398,73+-23,75	384,33+-18,26	0,073 <sup>(1)</sup>	
		Pós-op.	405,73+-25,47	391,07+-16,37	0,073 <sup>(1)</sup>	
		$p$	0,228 <sup>(3)</sup>	0,116 <sup>(3)</sup>		
	Temporal	Pré-op.	382,53+-26,03	368,33+-21,72	0,116 <sup>(1)</sup>	
		Pós-op.	397,13±31,43	382,60±20,00	0,142 <sup>(1)</sup>	
		$p$	0,042 <sup>(3)</sup>	0,015 <sup>(3)</sup>		

(1) t de Student

(2) Mann-Whitney

(3) t de Student para amostras dependentes

(4) Wilcoxon para amostras dependentes

OD (olho direito): formam os grupos experimentais

OE (olho esquerdo): formam o grupo controle

G1 (grupo 1) – Anel de FERRARA® sem revestimento

G2 (grupo 2) – Anel de FERRARA® com revestimento

M = Média

s = Desvio Padrão

$\mu\text{m}$ : micrômetro

pré-op.: pré-operatório

pós-op.: pós-operatório

#### 4.1.2. Hiperemia, secreção, edema, vascularização e extrusão

A frequência e porcentagem destes parâmetros, assim como as comparações entre grupos e os valores de  $p$  estão descritos na tabela 2.

**Tabela 2.** Hiperemia, secreção, edema, vascularização e extrusão em número (n) e porcentagem (%), assim como valores de  $p$  referentes às comparações dos parâmetros clínicos entre G1 e G2 nos diferentes momentos.

			GRUPO 1		GRUPO 2		$p$
			n	%	n	%	-
HIPEREMIA	M 1	OD	15(100%)		15(100%)		-
		OE	-		-		-
	M2	OD	3(20%)		1(6.7%)		0,598
		OE	1(6.7%)		-		1
	M3	OD	2(13.30%)		6(40%)		0,215
		OE	-		-		-
SECREÇÃO	M 1	OD	5(33.3%)		6(40%)		0,272
		OE	2(13.3%)		4(26.4%)		0,215
	M2	OD	4(26.7%)		2(13.3%)		0,651
		OE	4(26.7%)		3(20%)		1
	M3	OD	2(13.30%)		2(13%)		0,483
		OE	3(20%)		-		0,224
EDEMA DE CÓRNEA	M 1	OD	10(66.7%)		14(93.3%)		0,169
		OE	-		-		-
	M2	OD	2(13.3%)		-		0,483
		OE	-		-		-
	M3	OD	3(20%)		1(6.7%)		0,598
		OE	-		-		-
VASCULARIZAÇÃO DA CÓRNEA	M 1	OD	-		-		-
		OE	-		-		-
	M2	OD	-		-		-
		OE	-		-		-
	M3	OD	4(26.7%)		1(6.7%)		0,142
		OE	-		-		-
EXTRUSÃO DO ANEL	M 1	OD	-		-		-
		OE	-		-		-
	M2	OD	1(6.7%)		-		1
		OE	-		-		-
	M3	OD	-		-		-
		OE	-		-		-

M1: momento 1 (1º dia pós-operatório)  
M2: momento 2 (30º dia pós-operatório)  
M3: momento 3 (60º dia pós-operatório)  
OD: olho direito

OE: olho esquerdo  
n: número de animais  
% : porcentagem

## 4.2. PARÂMETROS MORFOLÓGICOS

### 4.2.1. Epitélio

#### 4.2.1.1. Número de camadas do epitélio corneano

Os dados referentes ao número de camadas do epitélio corneano nas posições sobre e lateral ao anel estão resumidos na tabela 3.

**Tabela 3.** Número de camadas de células epiteliais - valores de mediana, 1º e 3º quartis, comparação dos valores entre G1 e G2 nas duas posições (lateral e sobre o anel) e valores de *p*.

	Posição	Anel de Ferrara		<i>p</i>
		G1 (n = 11) (MD) (Q1;Q3)	G2 (n = 15) (MD) (Q1;Q3)	
Nº de camadas do epitélio	Lateral	6 (5;5)	5 (4;7)	0,401 <sup>(1)</sup>
	Sobre	3 (3;3)	4 (4;5)	0,097 <sup>(1)</sup>
	<i>p</i>	0,003 <sup>(2)</sup>	0,003 <sup>(2)</sup>	

(1) Teste Mann-Whitney

(2) Teste Wilcoxon para amostras independentes

Lateral: células do epitélio corneano lateral ao ápice do anel intraestromal de FERRARA®

Sobre: células do epitélio corneano sobre o ápice do anel intraestromal de FERRARA®

G1: grupo 1 : anel intracorneano de FERRARA® sem revestimento

G2: grupo 2 : anel intracorneano de FERRARA® com revestimento

n: número de animais

MD: mediana

Q1: primeiro quartil

Q3: terceiro quartil

*p*: nível de significância de 5%

#### 4.2.1.2. Espongiose, degeneração hidrópica, afilamento da membrana basal

Os dados relativos à espongiose, degeneração hidrópica e afilamento da membrana basal do epitélio corneano encontram-se resumidos na tabela 4.

**Tabela 4.** Espongiose, degeneração hidrópica, afilamento da membrana basal (MB), em porcentagem (%), comparações entre G1 e G2 nas duas posições e valores de *p*.

	Relativo à posição do anel	G1 (n = 11) %	G2 (n = 15) %	<i>p</i>
Espongiose	Lateral	36,4	33,3	1,000 <sup>(1)</sup>
	Sobre	63,6	73,3	0,683 <sup>(1)</sup>
	<i>p</i>	0,250 <sup>(3)</sup>	0,070 <sup>(3)</sup>	
Deg. hidrópica	Lateral	54,5	53,3	0,951 <sup>(2)</sup>
	Sobre	45,5	73,3	0,228 <sup>(1)</sup>
	<i>p</i>	1,000 <sup>(3)</sup>	0,453 <sup>(3)</sup>	
Afilam. MB	Lateral	0,0	0,0	
	Sobre	63,6	46,7	0,453 <sup>(1)</sup>
	<i>p</i>			

(1) Teste exato de Fisher

(2) Teste Qui-quadrado

(3) Teste de McNemar para amostras dependentes

%; porcentagem

n: número de animais

G1: grupo 1

G2: grupo 2

MB: membrana basal

*p*: nível de significância de 5%

#### 4.2.2. Estroma corneano

Os resultados relativos à neovascularização, presença de células inflamatórias, células gigantes, histiócitos, pseudocápsula, alteração de membrana de Descemet e alterações endoteliais encontram-se na tabela 5.

**Tabela 5.** Neovascularização, células inflamatórias, células gigantes, histiócitos perianel, pseudocápsula, alteração da membrana de Descemet, alteração do endotélio em porcentagem (%), valores de comparação entre G1 e G2 e valores de  $p$

	G1 (n = 11) %	G2 (n = 15) %	
<b>Neovascularização</b>	27,3	13,3	0,620 <sup>(1)</sup>
<b>Cel. inflamatórias</b>	60,0	33,3	0,241 <sup>(1)</sup>
<b>Cel. gigantes</b>	0,0	20,0	0,250 <sup>(1)</sup>
<b>Hist. perianel</b>	80,0	93,3	0,543 <sup>(1)</sup>
<b>Pseudo cápsula</b>	80,0	93,3	0,543 <sup>(1)</sup>
<b>Alt. memb. Descemet</b>	0,0	0,0	
<b>Alt. no endotélio</b>	0,0	0,0	

(\*) Teste exato de Fisher

G1: grupo 1

G2: grupo 2

n: número de animais

Cel. Inflamatórias: células inflamatórias

Cel. Gigantes: células gigantes

Hist. Perianel: histiócitos perianel

Alt. memb. Descemet: alterações da membrana de Descemet

Alt. no endotélio: alterações no endotélio

$p$ : nível de significância de 5%

### 4.2.3. Posição do anel no estroma corneano

Os resultados relativos à posição do anel no estroma corneano são apresentados na tabela 6.

**Tabela 6.** Posição do anel no estroma corneano em número (n) e percentagem (%) nos dois grupos experimentais.

	OD				OE	
	Posição 1	Posição 2 n %	Posição 3 n %	Invertido n %	-	
<b>G1</b>	-	6(54,6%)	5(45,4%)	-	-	
<b>G2</b>	-	3(20%)	9(60%)	3(20%)	-	

OD: olho direito  
OE: olho esquerdo

G1: grupo 1  
G2: grupo 2

Posição 1: 1/3 anterior do estroma corneano

Posição 2: 1/3 médio do estroma corneano

Posição 3: 1/3 interno do estroma corneano

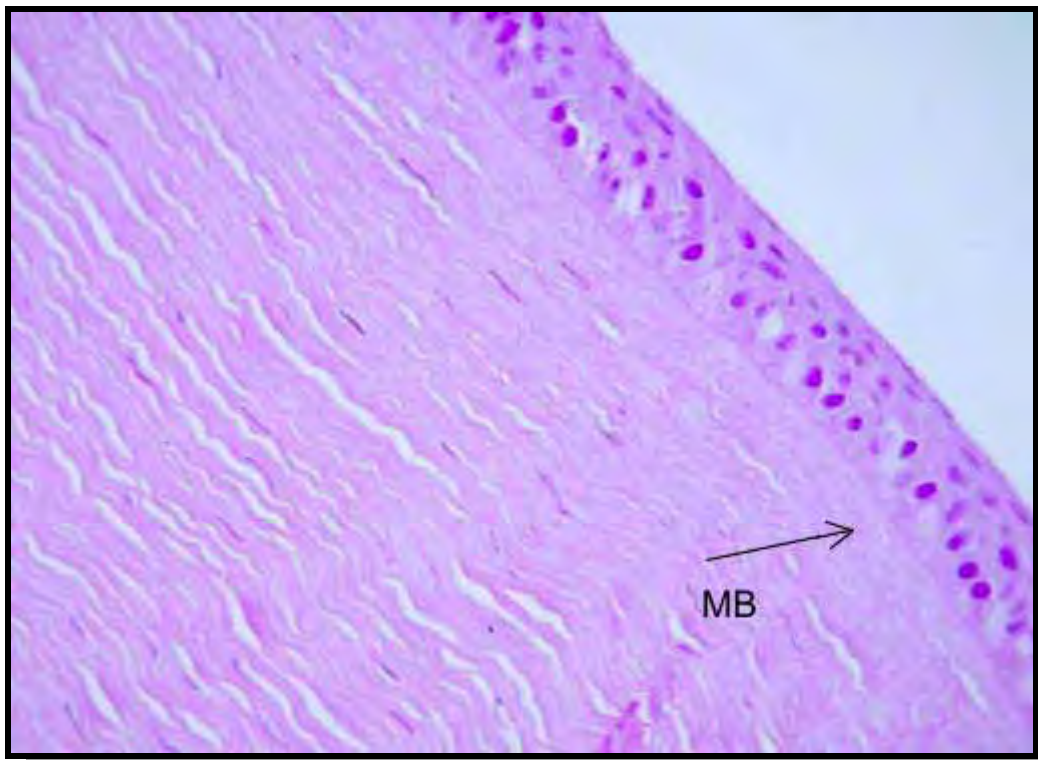
Invertido: anel com o ápice posicionado na face interna da córnea

### 4.3. EXAME HISTOPATOLÓGICO

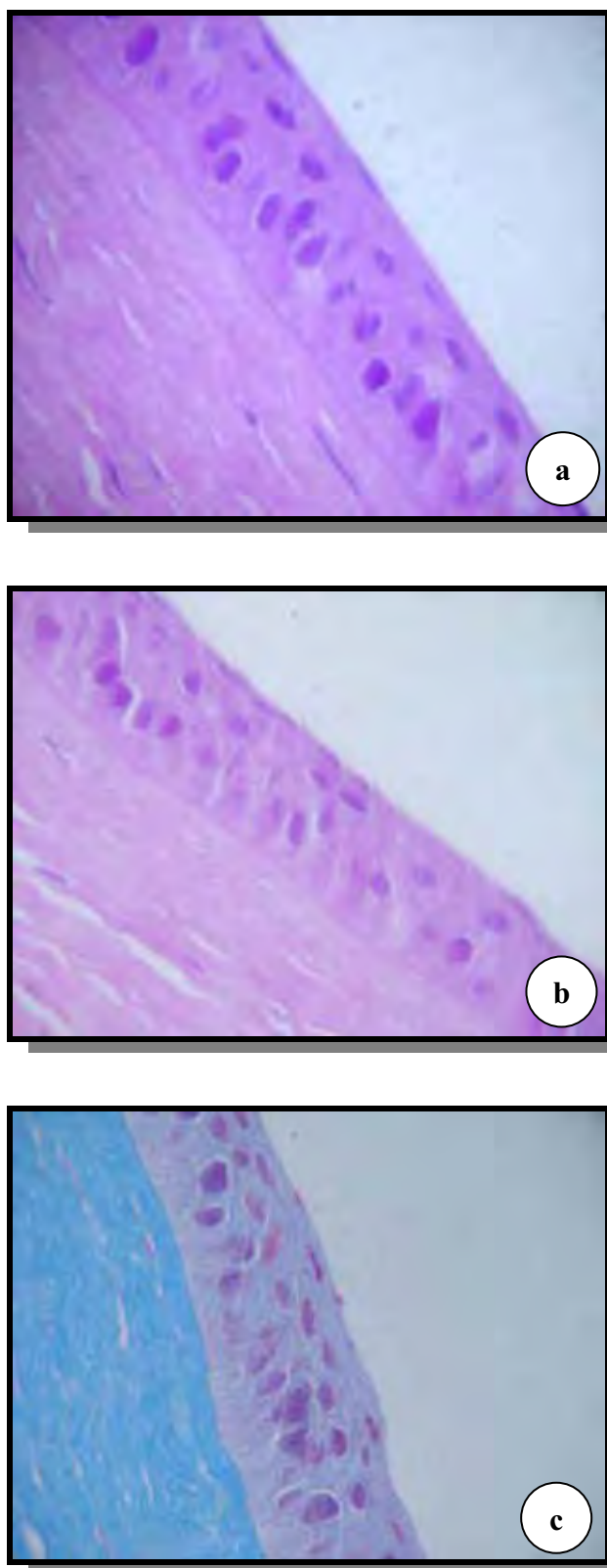
#### 4.3.1. Epitélio corneano

##### 4.3.1.1. Número de camadas do epitélio

As figuras 1 e 2 mostram córnea do grupo controle (OE) com epitélio formado por uma fileira de células basais colunares alongadas, duas camadas de células poligonais e, na superfície externa, três camadas de células em forma de asas e uma camada de células escamosas. Observa-se a membrana basal (MB) que é contínua com a do epitélio conjuntival e recebe tenofibrilas das células basais do epitélio.

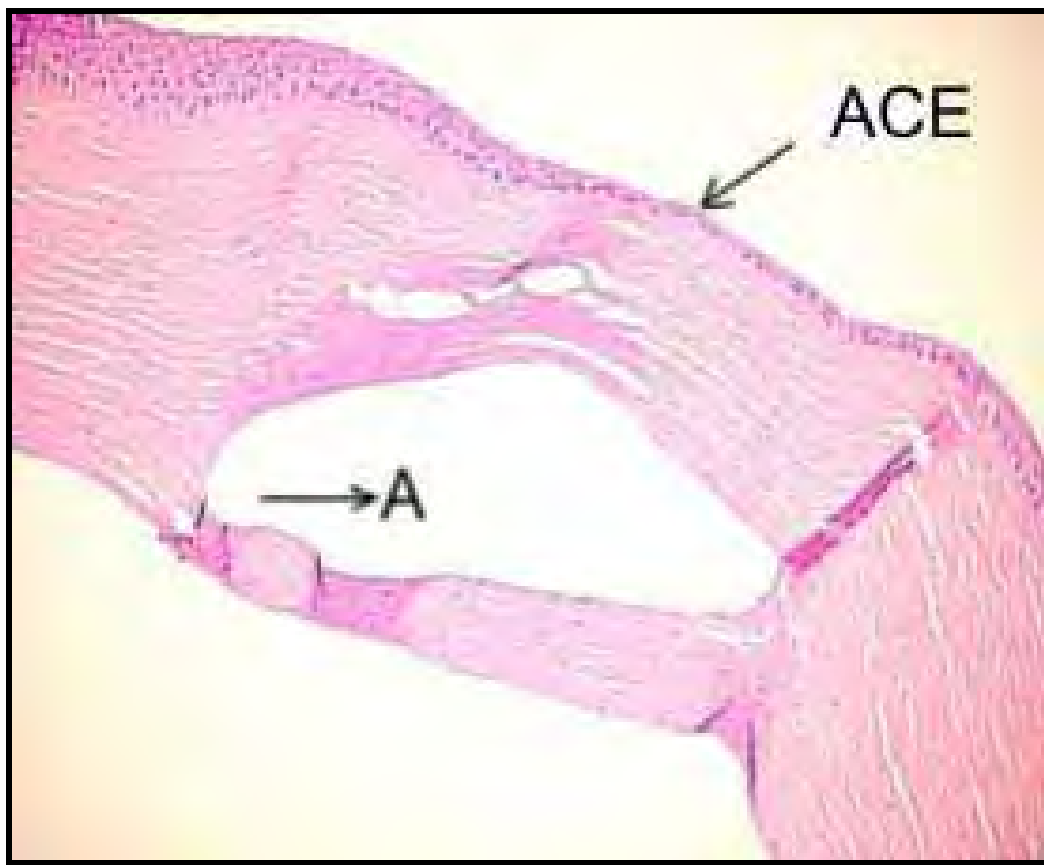


**Figura 1.** Corte histológico de córnea do Grupo controle (OE) coloração hematoxilina-eosina, HE 200 X.



**Figura 2.** Corte histológico de córnea do Grupo controle (OE). a) coloração hematoxilina-eosina, b) PAS 1000 (Acido periódico de Schiff) e c) tricromio de Masson 1000X.

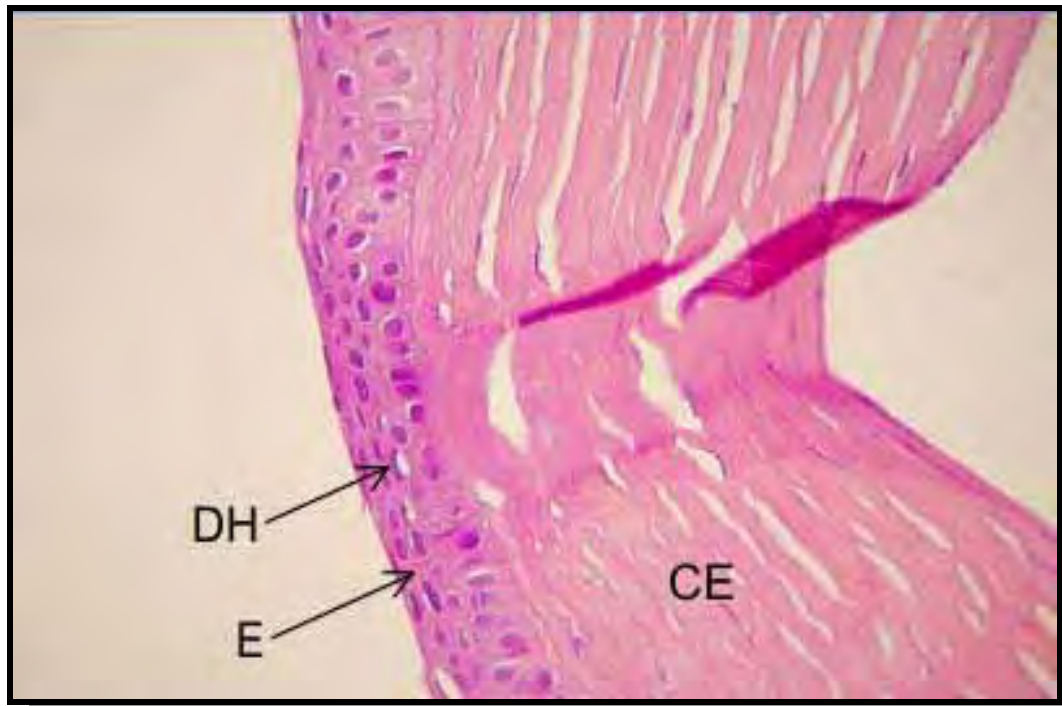
A figura 3 mostra redução do número de camadas do epitélio corneano após implante do anel intraestromal e posicionamento do mesmo no terço posterior.



**Figura 3.** Córnea de coelho de G1. Anel (A) posicionado no terço posterior da córnea com acentuado afinamento da camada de células epiteliais (ACE) e compactação do estroma na região do implante intracorneano, HE 100X.

#### 4.3.1.2. Espongiose e degeneração hidrópica

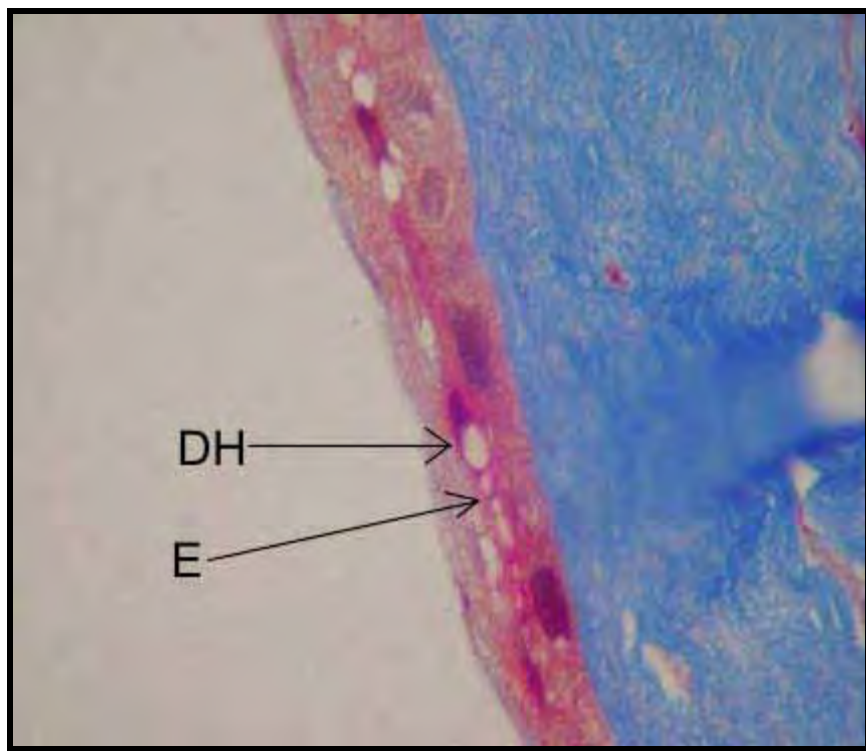
As figuras 4, 5, 6 e 7 mostram cortes histológicos em que há vários graus de espongiose e de degeneração hidrópica nas células do epitélio corneano localizado na região do anel intraestromal.



**Figura 4.** Córnea de coelho do G2. Edema inter e intracelular, grau moderado [espongiose (E) e degeneração hidrópica (DH) (balonização)] nas camadas do epitélio sobre o anel. A diminuição do número de camadas é pouco acentuada em especial por diminuição da camada de células basais e poligonais. Compactação do estroma (CE) é correspondente, HE 400 X.



**Figura 5.** Córnea de coelho do G1. Espongiose (E) e degeneração hidrópica (DH) (balonização) intensa (detalhe). Intensa compactação estromal (CE), HE 1000X.



**Figura 6.** Edema inter e intracelular (detalhe) tricrômio de Masson 1000X.



**Figura 7.** Córnea de coelho do G1. Espongiose (E) e degeneração hidrópica (DH) (balonização) intensa (detalhe). Intensa compactação estromal, PAS (Ácido periódico de Schiff) 1000 X.

#### 4.3.1.3. Membrana basal

As figuras 8 e 9 se referem a cortes histológicos que demonstram a membrana basal (MB) normal e afilada nas diversas colorações pesquisadas.



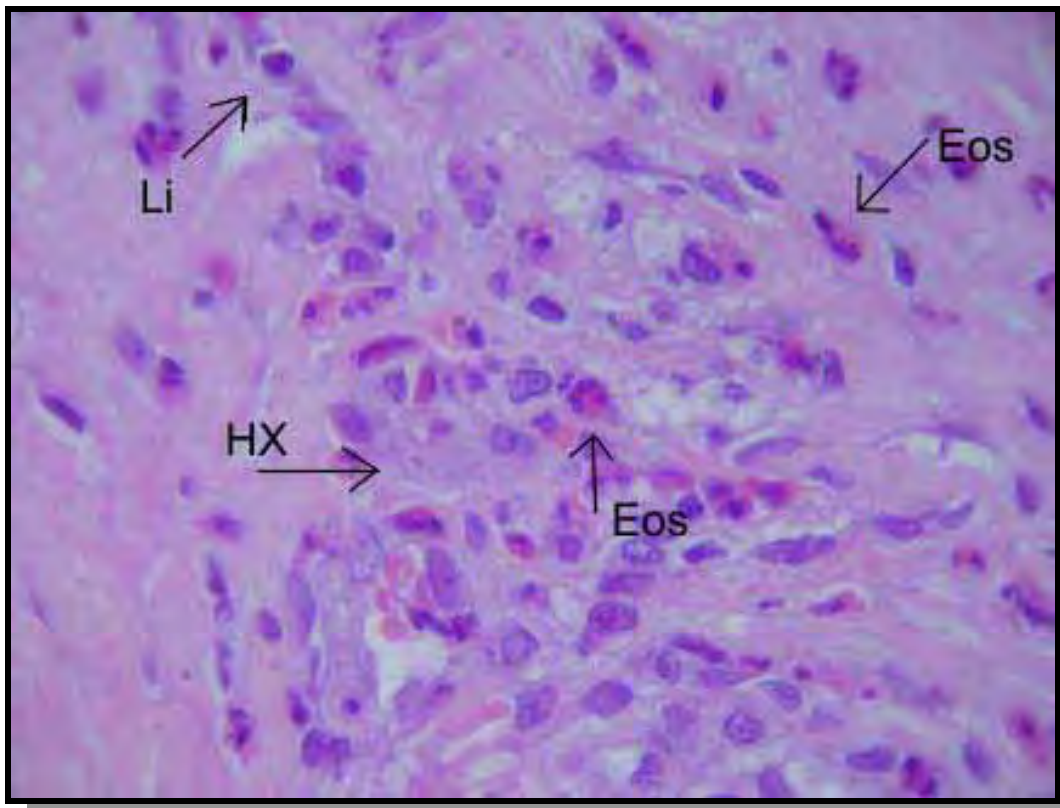
**Figura 8.** Córnea de coelho do G1 (OE). Membrana basal normal (MB), HE 1000X.



**Figura 9.** Córnea de coelho do G1. Afilamento de membrana basal (MB), PAS (Ácido periódico de Schiff) 1000 X.

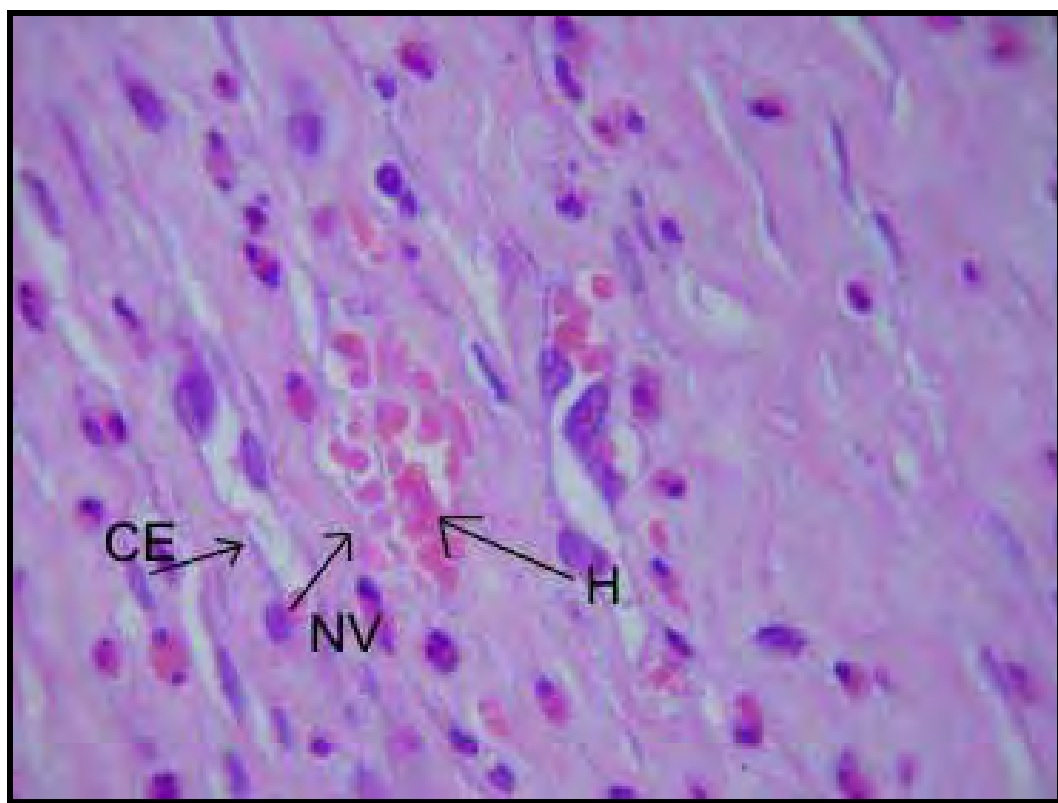
### 4.3.2. Estroma corneano

A figura 10 é de cortes histológico do estroma da região próxima ao anel intraestromal em que se pode observar células inflamatórias, com ênfase do encontro de linfócitos, abundantes polimorfonucleares eosinófilos, raros polimorfonucleares neutrófilos, e histiócitos xantomatosos em córneas de animais do G1.



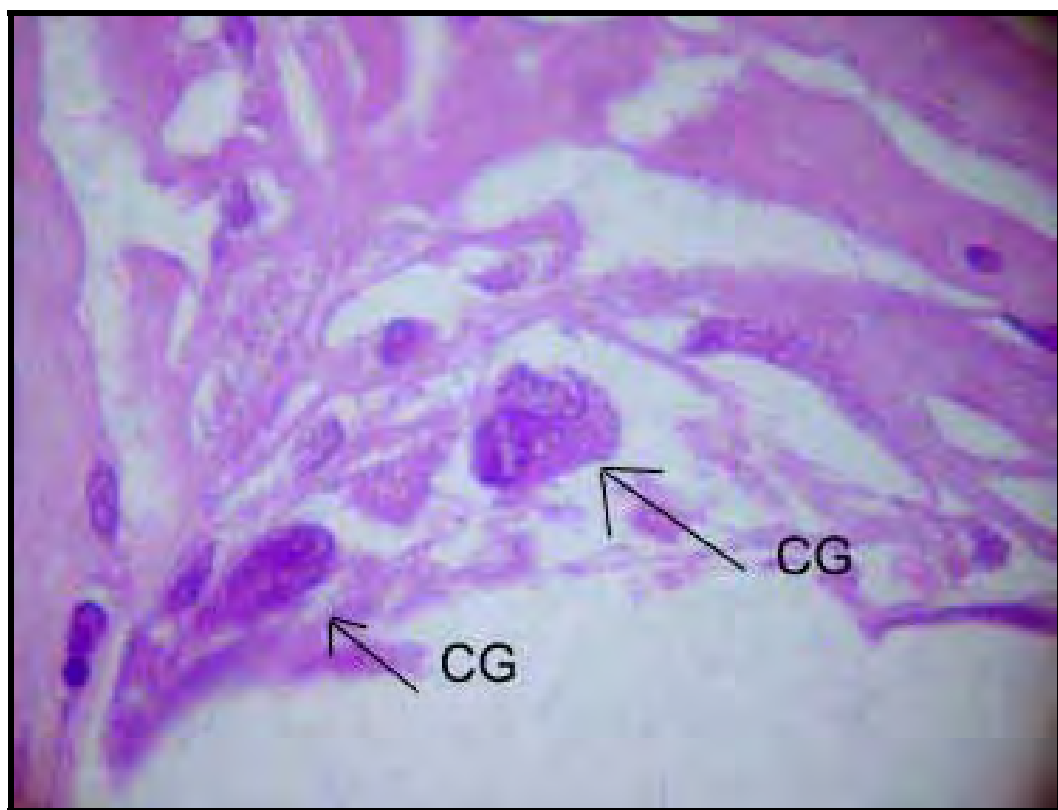
**Figura 10.** Córnea de coelho do G1. Observam-se linfócitos (Li), polimorfonucleares eosinófilos (Eos), histiócitos xantomatosos (HX), HE 1000X.

Na figura 11 é observado neovasos do estroma corneano da região próxima ao anel intraestromal. É possível observar a camada endotelial dos vasos e, no seu interior, hemáceas.



**Figura 11.** Córnea de coelho do G1. Observam-se neovasos (NV) contendo hemáceas (H) com as respectivas paredes endoteliais (CE), HE 1000X.

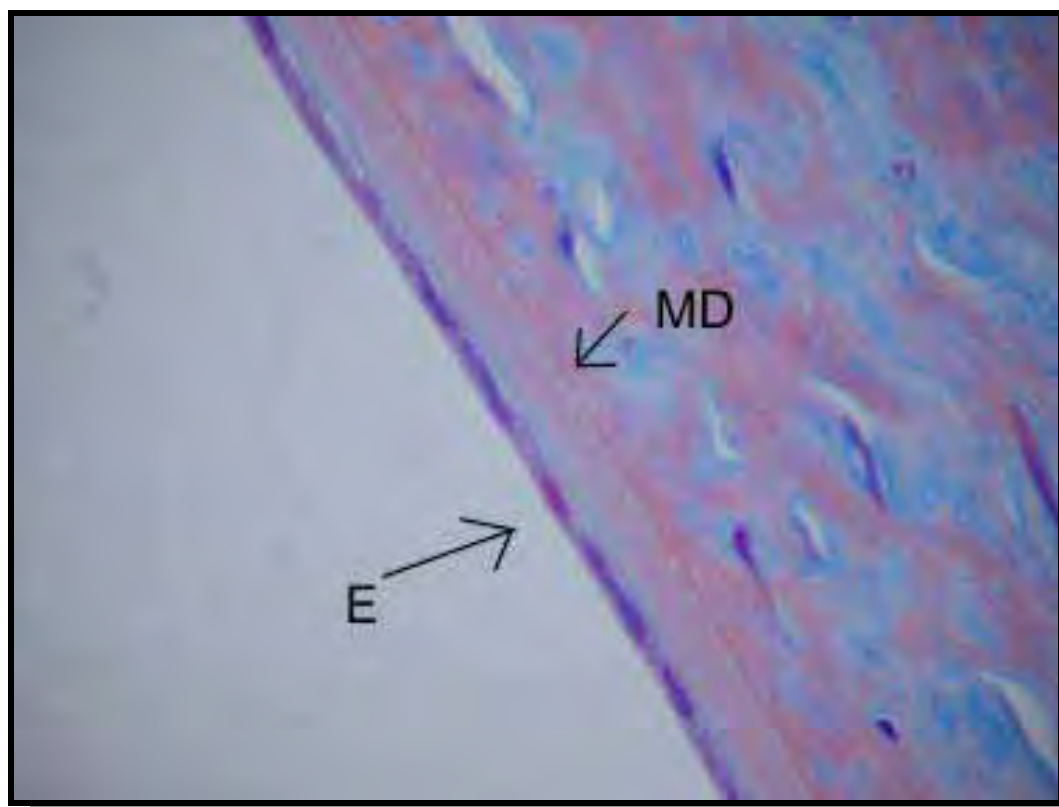
Na figura 12 de corte histológico de córnea de animal do G2, observam-se a pseudocápsula com células epitelióides e células gigantes praticamente aderidas à superfície do anel intraestromal.



**Figura 12.** Córnea de coelho do G2. Observam-se células gigantes (CG) na borda da pseudocápsula que envolve o anel intraestromal, HE 1000X.

### 4.3.3. Membrana de Descemet e endotélio corneano

A figura 13 apresenta corte histológico de córnea do G2 em que se observa a integridade da membrana de Descemet e do endotélio.



**Figura 13.** Córnea de coelho do G2. Observa-se que a membrana de Descemet (MD) e o endotélio (E) estão preservados, tricrômio de Masson 1000X.

## **5. Discussão**

---

## 5.1. QUANTO AO ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

O coelho foi escolhido como animal de experimentação neste estudo por sua facilidade de obtenção e manutenção em nosso meio e também e, principalmente, por ser o animal utilizado em experimentos de biocompatibilidade com implantes intracorneanos anteriormente realizados por vários autores (Barraquer, 1949; Simon & Barraquer, 1988; Hernier, 1991; Twa, 2003). Apesar da córnea do coelho não ter uma verdadeira membrana de Bowman é suficientemente semelhante à humana para fins de experimentação (Prince, 1964).

## 5.2. QUANTO AOS RESULTADOS

### 5.2.1. Parâmetros Clínicos

#### *5.2.1.1. Paquimetria*

A paquimetria ultrassônica realizada no pré-operatório permitiu a calibragem do bisturi de diamante em 80% da espessura corneana e também serviu como parâmetro clínico para comparar espessuras corneanas nos diferentes grupos e ao longo do experimento.

A média da espessura central da córnea dos OE (controle) dos animais do G1 e G2 foi semelhante estatisticamente, apesar do G2 apresentar valores um pouco menores. Após 60 dias houve aumento da espessura central das córneas dos OE, apesar dos OE em G2 continuarem apresentando córneas mais

---

finas na região central do que as do OE de G1. O aumento da ECC no entanto não foi significativo. A paquimetria realizada na região temporal dos OE mostrou, no início do experimento, que as córneas apresentavam espessura semelhante entre os dois grupos, mas mantinham valores menores nos OE de G2, como a avaliação feita na região central.

Após dois meses, a ECC também aumentou e foi significativamente maior do que no início do experimento. Portanto, houve aumento da espessura da córnea nos olhos controle ao longo do tempo significativa, apenas, na região temporal. Não temos explicação exata para esta aparente disparidade de resultados entre as duas regiões da córnea.

A ECC dos coelhos do grupo controle está de acordo com os resultados da literatura que aponta valores de ECC variando de 340  $\mu\text{m}$  a 450  $\mu\text{m}$  (Prince, 1964).

Nos grupos experimentais, a média dos valores da ECC no início do experimento do G2 (com revestimento) foi significativamente menor que a de G1 (sem revestimento). Após 60 dias houve aumento significativo da ECC nos 2 grupos que, no entanto, não mostrou diferença entre os mesmos.

A espessura temporal da córnea nos grupos experimentais também aumentou após 60 dias, no entanto, foi significativa apenas nos olhos com anel sem revestimento. Estes resultados podem significar benefício do anel de FERRARA<sup>®</sup> revestido, já que a implantação era feita no lado temporal e a menor espessura significa, provavelmente, menor edema.

---

---

Em estudo utilizando o anel INTACS<sup>®</sup> que é um anel não revestido, Reinstein et al, 2001, também observaram espessamento do estroma corneano na área central, medido por ultrasonografia digital tridimensional de alta frequência.

#### ***5.2.1.2. Hiperemia conjuntival***

Quanto ao parâmetro hiperemia conjuntival foi observado que no M1 todos os animais de ambos os grupos experimentais a apresentaram. Esta ocorrência se deve, possivelmente, ao trauma cirúrgico por se tratar do primeiro dia pós-operatório.

Na comparação entre G1 e G2 foi observado aumento da hiperemia conjuntival no M3 do G2, embora não significante. Para este dado isolado neste momento não se pode dar uma explicação consistente, além de uma eventual maior reação tecidual à presença do anel intraestromal de FERRARA<sup>®</sup> revestido, uma vez que não foi observada alteração em outros parâmetros que poderiam indicar um processo infeccioso em curso.

#### ***5.2.1.3. Secreção conjuntival***

A secreção conjuntival foi observada em ambos os grupos experimentais e também no controle. Ocorreu uma diminuição progressiva nos vários momentos sendo, porcentualmente, levemente mais acentuada no G2, contudo, sem significância estatística. A secreção observada foi de aspecto mucoso e talvez poderia ser imputada às condições ambientais na manutenção

---

dos animais. Não foi observada secreção com características clínicas de quadro infeccioso, mas não foi coletado material para exame laboratorial.

Na comparação entre os grupos, a ocorrência de secreção não diferiu de modo significativo, tendo ocorrido de modo semelhante também no grupo controle. Pode-se, portanto, inferir que neste experimento a presença do anel não foi um fator determinante em sua ocorrência.

#### ***5.2.1.4. Edema de córnea***

O edema de córnea clinicamente detectável não foi observado em nenhuma córnea do grupo controle. Nos grupos experimentais foi detectado edema de córnea em grande parte das córneas de G1 e G2. O edema foi diminuindo, progressivamente, sendo detectável no M3 em 20% (3 olhos) de G1 e em 6,7% (1 olho) de G2, o que sugere menor reação tecidual com os anéis revestidos.

Hofling-Lima et al, 2004, relatam a ocorrência de edema com aspecto clínico de ceratite e com cultura ou biópsia provando a infecção corneana em sete pacientes (19,45%) de uma série de 35 pacientes que foram submetidos a implante de anel intracorneano para correção de anomalia corneana causada por ceratocone (Anel de FERRARA<sup>®</sup>) ou para efeito refracional (INTACS<sup>®</sup>). Os autores apontam o uso de lentes de contato, diabetes e trauma como fatores possivelmente associados ao risco de infecção em três dos sete casos. O aparecimento dos sintomas de infecção variou de menos de uma semana até 22 meses do pós-operatório. Os implantes foram realizados em múltiplos centros (São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul), por diversos cirurgiões sob rotina de

---

antisepsia padrão de pré e pós-operatório em que se utilizou povidine tópico 0,05%, campos estéreis descartáveis e antibiótico profilático por sete dias no pós-operatório. Dois dos pacientes com ceratite que receberam implante de anel de FERRARA<sup>®</sup> ainda estavam sob uso de antibiótico profilático no início dos sintomas de infecção corneana e um dos pacientes submetido a implante de INTACS<sup>®</sup>, sob o uso de tobramicina colírio.

Os achados clínicos do presente trabalho, no qual não ocorreu nenhum caso de edema corneano com características clínicas de infecção corneana, se contrapõem aos encontrados no relato de Hofling-Lima et al. Deve-se levar em consideração que o presente experimento foi realizado em córneas clinicamente normais de animais sadios, com o diferencial da utilização de antibioticoterapia profilática por 15 dias (ofloxacino). Podemos levantar a hipótese de que um tempo de antibioticoterapia profilática maior, com quinolona de III geração e com fidelidade ao tratamento pode diminuir a ocorrência de infecção corneana pós implante de anel intraestromal.

#### ***5.2.1.5. Vascularização da córnea***

A vascularização da córnea clinicamente detectável foi observada em 26,7% dos animais do G1 e em apenas 6,7% do G2 no M3. Esta diferença, no entanto, não foi estatisticamente significativa, apesar das diferenças percentuais.

Nosé et al, 1996, relatam o aparecimento de neovascularização profunda em cinco pacientes de um grupo de 10 que receberam implante de ICS<sup>®</sup> em estudo investigacional. Al-Torbak et al, 2005, relatam um caso de paciente

---

que foi submetido a implante de anel intracorneano para correção de ectasia pós-Laser In situ Keratomileusis (LASIK) e apresentou neovascularização estromal profunda. Esta regrediu totalmente após a remoção do segmento de anel e tratamento clínico.

Casteluber et al, 2007, relatam também um paciente que apresentou ectasia corneana quatro anos após ser submetido à cirurgia de LASIK. No terceiro ano de acompanhamento após o implante do anel intraestromal, com paciente utilizando de lente de contato gelatinosa tórica, foi verificada a extrusão de um segmento de anel e neo-vascularização do túnel estromal que, com a remoção do anel intraestromal e uso de Neodimium YAG (532 $\mu$ m), evoluiu para remissão completa da neovascularização, porém, com prejuízo da refração.

De acordo com Pepper et al, 1996, a neovascularização tecidual está relacionada a processos pós-inflamatórios em fase cicatricial ou à obstrução vascular prévia.

Os dados relativos à neovascularização corneana observados no presente experimento associados aos recentes relatos na literatura sobre o mesmo tema ressaltam a importância do estudo deste parâmetro sua frequência, suas possíveis etiologias e conseqüências nas córneas que foram submetidas a implante de segmento de anel intraestromal, seja para correção de ceratocone, ectasia corneana pós procedimentos refrativos prévios, assim como procedimento refrativo primário.

---

A diferença percentual entre os casos de vascularização corneana clinicamente detectável entre os animais dos G1 e G2, embora não estatisticamente significativa, parece ser indício de uma menor reação tecidual induzida pelo anel intracorneano de FERRARA<sup>®</sup> revestido.

#### ***5.2.1.6. Reação inflamatória de câmara anterior***

Não foi observada reação de câmara anterior ao exame clínico dos olhos dos animais em nenhum dos grupos estudados, em nenhum dos momentos.

O não encontro de alterações de câmara anterior é indício de que eventuais alterações observadas na córnea não refletem em reação da íris e corpo ciliar.

#### ***5.2.1.7. Extrusão do anel***

Foi observada uma única extrusão do anel intracorneano em um olho de G1 (6,7%) no M2.

Bourges, 2003, reporta um caso de uma paciente que apresentou extrusão e necrose, concomitantes, ocorridos cinco anos após a implantação.

Miranda et al, 2004, relatam em um estudo de 36 implantes de anel intracorneal de FERRARA<sup>®</sup> implantados em 35 pacientes portadores de ceratocone a ocorrência de 13,8% de extrusão, ocorridos em 12 meses de observação. Em relato de caso Al-Torbak et al, 2005, e Casteluber et al, 2007,

---

reportam casos de extrusão do anel intraestromal acompanhados de neovascularização do túnel estromal.

Em relação aos relatos de extrusão reportados pode-se fazer uma correlação entre os dados de Miranda et al, (que usou o mesmo anel de FERRARA<sup>®</sup> sem revestimento implantado no animais do G1) e o presente experimento. O número de olhos estudados é semelhante, embora o relato seja em pacientes portadores de córneas patológicas com cirurgias realizadas em locais diferentes e por vários cirurgiões. Os dados presentes são relativos a um trabalho experimental e com implante de anel intracorneano realizado em córneas clinicamente normais. A metodologia relatada por Miranda et al, é diferente daquela deste experimento. Contudo, no experimento a extrusão ocorreu em 6,7% dos olhos dos animais do G1 e em nenhum animal do G2. Miranda et al, relatam o uso de anéis de FERRARA<sup>®</sup> clássicos de PMMA sem revestimento. A extrusão do anel pode estar relacionada desde a curva de aprendizado, na exatidão da paquimetria corneana, na calibragem incorreta da lâmina do bisturi de diamante para a realização de incisão para início de tunelização corneana, até processos inflamatórios que venham a alterar a estrutura da córnea.

A ocorrência de extrusão em apenas um olho do G1 e nenhum do G2, comparando-se com a literatura mencionada, ressalvadas as diferenças de metodologia, é baixa, portanto, pode ser um indicativo de menor reação tecidual por padronização de técnica ou menor reação tecidual ao implante.

---

Apesar do pouco tempo de observação desse estudo, a não ocorrência de extrusão com anéis revestidos por condroitin sulfato sugere maior compatibilidade deste em relação aos anéis não revestidos. Há necessidade de maiores estudos para avaliação dos possíveis mecanismos envolvidos na extrusão dos anéis intraestromais.

## **5.2.2. Parâmetros morfológicos**

### **5.2.2.1. Epitélio corneano**

- **Número de camadas do epitélio corneano**

Em relação à comparação da alteração do número de camadas epiteliais dos grupos com e sem revestimento não ocorreu alteração estatisticamente significativa, tanto na região lateral ao anel, quanto na região do ápice do anel.

A comparação do número de camadas do epitélio entre as áreas lateral e sobre o anel tanto em G1, quanto em G2, mostrou redução estatisticamente significante o que pode levar a conseqüências clínicas importantes.

Reinstein et al, 2001, em olhos com implante intracorneano INTACS<sup>®</sup> detectaram, utilizando ultra-sonografia Digital Tridimensional de muito alta freqüência, um afilamento do epitélio corneano sobre o anel. A

---

espessura do epitélio que era de 45 $\mu$  na zona central, era de 21 $\mu$  sobre o INTACS<sup>®</sup>.

Twa et al, 2003, em estudo morfológico com 21 coelhos da raça New Zeland, nos quais implantaram anéis INTACS<sup>®</sup> observaram, após três meses, poucas camadas de células no epitélio correspondente à região sobre o implante, sendo que estas células remanescentes eram achatadas.

Os relatos de Reinstein et al, 2001 e Twa et al, 2003, nos experimentos com INTACS<sup>®</sup> comparados a este experimento com anéis de FERRARA<sup>®</sup>, demonstram que o formato da secção transversal do anel (quadrangular no INTACS<sup>®</sup> e piramidal no anel de FERRARA<sup>®</sup>) não influi na diminuição das camadas de células epiteliais na região correspondente à área de implantação.

Os anéis intraestromais são órteses que devem ficar implantadas em definitivo com fins de reparo refracional, nos casos de miopia, ou com objetivo de regularizar a curvatura corneana e, assim sendo, diminuir os erros refracionais decorrentes da irregularidade das córneas ectásicas podendo melhorar o efeito da correção óptica com óculos ou lentes de contato e este procedimento é utilizado, em geral, em pacientes de baixa idade (Miranda et al, 2003; Tan & Por, 2007), devendo permanecer na córnea por muitos anos. Portanto, o adelgaçamento da camada epitelial da córnea observado na região correspondente ao ápice do anel intracorneano com o evoluir dos anos tende a ser um fator limitante para a permanência do anel no estroma corneano, podendo

---

estar relacionado a ou ser uma consequência da extrusão ou necrose estromal relatados anteriormente.

Este importante afilamento por diminuição de camadas de células do epitélio corneano na região do ápice do anel necessita ter sua etiologia determinada.

Barraquer 1949 e 1966, nos primeiros experimentos com implantes halogênicos intracorneanos realizados em coelhos, observou a formação de vesículas epiteliais que poderiam, inicialmente, estar associadas à diminuição do número de camadas e necrose do epitélio e concomitante necrose do estroma da região anterior ao implante, permanecendo o estroma posterior íntegro. Baseado nestas observações levantou a hipótese de que a impermeabilidade do implante seria uma barreira física à eliminação de metabólitos via endotélio que pode ser uma das explicações para a diminuição de camadas de células observado no presente experimento. Barraquer 1949, não exclui a possibilidade de causas de origem química do material incluído na gênese das alterações observadas.

---

- **Espongiose**

Esta alteração epitelial não foi encontrada nos olhos controle.

Como mostram os resultados da tabela 4, a espongiose não teve significância estatística na comparação entre a posição lateral e sobre o anel, em ambos os grupos experimentais.

Na avaliação entre a ocorrência de espongiose entre a posição lateral e sobre o ápice do anel, as diferenças foram estatisticamente expressivas, embora não estatisticamente significantes, ocorrendo com maior frequência sobre o anel.

Segundo Murphy et al, 2007, a espongiose é uma alteração histopatológica observada no epitélio pavimentoso estratificado agredido por um processo inflamatório. O exemplo mais clássico seria a espongiose encontrada na psoríase.

Trata-se de uma alteração das células do epitélio corneano a ser considerada uma vez que, embora por definição seja um processo reversível (Abbas AK, 2005) poderá, através do edema intercelular, ocorrer o rompimento dos desmossomos com formação de pequenas vesículas ou áreas de maior fragilidade epitelial. Esta alteração pode estar relacionada ao processo inflamatório induzido pelo anel ou pela agressão mecânica deste. A observação deste fenômeno em ambos os grupos pode vir a explicar a etiologia do afilamento epitelial apical.

---

- **Degeneração hidrópica**

A degeneração hidrópica ocorreu porcentualmente, de modo muito semelhante, nas posições laterais ao anel em ambos os grupos. Na região sobre o ápice do anel ocorreu uma diferença porcentual evidente, embora não tenha sido estatisticamente significativa.

A degeneração hidrópica é um estágio do processo da inflamação, sendo uma manifestação morfológica de alterações bioquímicas deletérias intracelulares conseqüentes a um estímulo provocativo (Abbas AK, 2005). É uma manifestação patológica que, embora seja reversível, reflete um estágio mais avançado que a tumefação turva. A progressão deste processo pode levar à necrose celular. A degeneração hidrópica, portanto, poderia ser um dos fatores intermediários do processo de afinamento da camada de células do epitélio corneano, observado no presente experimento.

- **Afilamento da membrana basal (MB)**

Dentre as possíveis alterações da membrana basal, que podem ocorrer em estados patológicos, no presente estudo foi observado o afinamento da membrana basal com uma freqüência porcentual importante em relação aos olhos controle, em ambos os grupos experimentais.

Na comparação deste parâmetro entre os dois grupos experimentais observou-se freqüência quase 17% menor no G2 (anel com revestimento), embora não estatisticamente significante.

---

O afilamento da MB pode levar a um enrijecimento desta, alteração de sua estrutura e função e pode ser causada por um processo inflamatório prévio ou por compressão mecânica pelo anel. O enrijecimento da MB a torna menos permeável à água e aos metabólitos celulares (Abbas AK, 2005).

Os dados observados em relação à alteração deste parâmetro morfológico podem ser uma indicação de que o anel intracorneano de FERRARA<sup>®</sup> revestido tem uma menor influência na gênese desta alteração.

#### ***5.2.2.2. Alterações morfológicas observadas no estroma corneano***

- **Neovascularização estromal**

Como mostram os resultados, a neovascularização do estroma perianel ocorreu em 27,3% das córneas dos animais do G1 e em 13,3% das córneas do G2. Esta diferença embora, não estatisticamente significativa, demonstra maior tendência da ocorrência de neovascularização estromal nas córneas onde foi utilizado o anel clássico.

De acordo com Pepper et al, 1996, a neovascularização tecidual está relacionada a processos pós-inflamatórios em fase cicatricial, ou à obstrução vascular prévia.

A maior indução de reação inflamatória observada no grupo de animais com anel intracorneano de FERRARA<sup>®</sup> não revestido poderia estar vinculada à maior vascularização observada no mesmo grupo.

---

A continuidade do estudo com a pesquisa dos fatores estimuladores de angiogênese *in loco* nos animais onde se observou reação inflamatória poderá esclarecer a etiologia dos neovasos.

- **Presença de células inflamatórias no estroma perianel**

Células inflamatórias (polimorfonucleares, linfócitos, eosinófilos e histiócitos) foram observadas em 60% do G1 e em 33,3% do G2. Embora a diferença entre ambos seja de quase 50%, portanto clinicamente relevante, não houve diferença na comparação estatística.

D'Hermies et al, 1991 que, em estudo experimental com anel intracorneano segmentado (ISR) de PMMA por meio de exame histopatológico realizado em 51 olhos de coelhos, desenvolveram duas fases principais quanto a alterações histopatológicas. Até três meses desenvolveram inflamação moderada principalmente as células mononucleares e alguns macrófagos. Entre três e oito meses de pós-operatório observaram moderada fibrose ao redor do anel, preenchendo irregularidades do canal estromal.

A resposta inflamatória do hospedeiro pode estar relacionada à presença do anel intraestromal que faria o papel de agente agressor. O influxo de polimorfonucleares eosinófilos que foram observados em animais do G1 nos levanta a possibilidade de reação inflamatória por hipersensibilidade tipo II que pode ser precursora de neovascularização estromal e afilamento da MB que a torna mais rígida, sendo possivelmente, um dos caminhos para a extrusão do anel (Abbas AK, 2005).

---

---

Talvez, os anéis sem revestimento se tornem antígenicamente mais ativos no estroma da córnea.

- **Presença de células gigantes**

Há uma clara tendência da ocorrência desta alteração morfológica (20%) nas córneas cujos anéis de FERRARA<sup>®</sup> implantados eram revestidos com condroitin sulfato.

A formação de processo inflamatório crônico com células gigantes tipo corpo estranho no G2, nos leva a crer que este deflagra uma resposta inflamatória com migração de macrófagos para o estroma. Estes interagem com o anel que, por motivo desconhecido, mantêm a reação inflamatória por um tempo a ser determinado. Trata-se de uma reação inflamatória tipo IV tardia que, associada à proliferação de histiócitos, leva à produção da pseudocápsula. A pseudocápsula representa uma adaptação do hospedeiro a um agente agressor (Abbas AK, 2005), podendo ser um mecanismo que venha a diminuir a reação antigênica do anel de PMMA clássico.

- **Presença de histiócitos no estroma perianel**

A análise dos dados referentes a este parâmetro morfológico mostra a ocorrência de histiócitos perianel na maior parte das córneas de ambos os grupos.

A presença dos histiócitos está relacionada a uma resposta inflamatória tipo IV tardia (Abbas AK, 2005), por interação do tecido corneano à presença do anel.

---

- **Presença de pseudocápsula na região perianel**

Foi observada pseudocápsula na grande maioria das córneas de ambos os grupos, com tendência de ocorrência maior no G2 cujos anéis são revestidos com condroitin sulfato.

A pseudocápsula, morfológicamente, significa o aparecimento de células que adquirem aspecto epitelial e tendem a revestir o anel intraestromal em toda sua circunferência.

Pode representar uma fase posterior à resolução do processo inflamatório crônico com diferenciação de células epiteliais a partir de células do estroma.

Twa et al, 2003 observaram, após 6 meses do implante de INTACS® em coelhos, neoformação de colágeno com organização lamelar adjacente ao implante e aumento da densidade de ceratócitos, além de acúmulo de material lipídico saturado e osmofílico intracelular correspondente a opacificação estromal visível ao exame com lâmpada de fenda. No presente estudo, não foram observadas alterações clínicas semelhantes àquelas do estudo de Twa et al.

Alió et al, 2004, implantaram em 11 olhos (cinco pacientes) implantes intracorneais de hidrogel, um material permeável aos metabólitos corneanos e água, com a finalidade de correção de hipermetropia. Aos 30 dias de pós-operatório ocorreu opacidade ao redor do implante e a microscopia confocal mostrou imagens compatíveis com aspecto morfológico de células epiteliais em

---

40% dos olhos. A histopatologia de membrana que recobria dois dos implantes mostrou a presença de células epiteliais, ativação dos ceratócitos do estroma anterior e uma camada de ceratócitos apoptóticos na superfície anterior do implante e células epitelióides atrás do implante. O que pode ter ocorrido nestes casos seria uma reação de hipersensibilidade tipo IV. A rejeição imunológica depende de como o hospedeiro reconhece o material implantado como estranho e produz antígenos específicos e persistentes, como no caso dos implantes intracorneanos e é considerado uma adaptação do hospedeiro. Isto seria um estímulo para a migração dos macrófagos para a região do material estranho se transformando, então, em células com aspecto epitelial, chamadas células epitelióides, causando uma resposta inflamatória no leito estromal.

Como na pseudocápsula observada no presente experimento há a formação de células com aspecto de célula epitelial, acredita-se que este achado de Alió et al, possa ser utilizado para se fazer uma correlação quanto ao mecanismo de formação desta alteração.

- **Membrana de Descemet**

Não foram observadas alterações de membrana de Descemet à microscopia de luz em nenhuma das córneas de ambos os grupos.

- **Endotélio**

Não foram observadas alterações endoteliais à microscopia de luz.

---

A preservação da membrana de Descemet e do endotélio observados no presente estudo são concordantes com as observações de Twa et al, 2001, que observaram a integridade destas estruturas corneanas sem alterações morfológicas em estudos experimentais com implante de INTACS<sup>®</sup>.

### **5.2.3. Posição do anel no estroma corneano**

Em relação à posição do anel no estroma corneano foi observado que, do total de córneas implantadas analisadas (n=26), 34,6% estavam na posição 2 (1/3 médio do estroma) e 65,4% na posição 3 (1/3 posterior do estroma). Três dos anéis do G2 foram implantados invertidos, porém na posição 3. Dentre os nove anéis implantados na posição 2, seis eram do G1 .

Lai et al, 2006 observaram, através de OCT (tomografia de coerência óptica), que a avaliação da profundidade do anel INTACS<sup>®</sup> pela lâmpada de fenda no estroma corneano não corresponde bem à medida de profundidade detectada pelo OCT. A porção distal do anel era mais superficial do que a porção proximal comprovada estatisticamente, assim como ficou demonstrado que, na porção mais superficial, o estroma anterior sofre uma maior compactação. Este último fator poderia estar relacionado à maior possibilidade de complicações.

---

A ocorrência maior de anéis mais superficiais no G1 poderia ser um fator menos favorável, contudo, no presente estudo, não é possível afirmar desvantagem pela análise estatística dos dados.

Apesar das comparações estatísticas na sua quase totalidade não mostrarem diferenças significativas entre as alterações clínicas e histopatológicas observadas nas córneas implantadas com anéis sem revestimento (G1) e com revestimento com condroitin sulfato (G2), a manutenção da paquimetria temporal no G2, assim como a menor redução do número de camada de células epiteliais, menor neovascularização superficial, menor afinamento de membrana basal, menor extrusão, menor neovascularização do estroma e menor presença de células inflamatórias do grupo implantado com anel revestido por condroitin sulfato, apontam para vantagens clínicas deste sobre o anel não revestido.

---

## **6. Conclusões**

---

No coelho albino, diante dos resultados obtidos nestas condições experimentais, podemos concluir que:

- 1) Não houve diferenças nos parâmetros: hiperemia, secreção edema de córnea e vascularização entre os dois tipos de anel intraestromal;
  - 2) Houve extrusão apenas com anel intraestromal sem revestimento;
  - 3) Os anéis intraestromais com e sem revestimento aumentaram a espessura central da córnea que não diferiu entre os dois tipos de anel;
  - 4) Apenas os anéis intraestromais sem revestimento causaram aumento da espessura temporal da córnea;
  - 5) Anéis intraestromais com e sem revestimento levaram a redução do número de camadas de células epiteliais que foi semelhante com os dois tipos de anel;
  - 6) Degeneração hidrópica, espongirose e afilamento da membrana basal ocorreram com ambos os tipos de anel de forma semelhante;
  - 7) Neovascularização, células inflamatórias, células gigantes, histiócitos perianel e pseudocápsula ocorrem de forma semelhante com os dois tipos de anel intraestromal,
  - 8) Nenhum dos dois tipos de anel intraestromal causou alterações na membrana de Descemet e no endotélio.
-

## **7. Referências Bibliográficas**

---

---

Abbas AK. Adaptação dano e morte celular. In: Robbins&Cotran. Patologia-Bases Patológicas das Doenças. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p. 4-88.

Abbas AK. Doenças da imunidade. In: Robbins&Cotran. Patologia-Bases Patológicas das Doenças. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p. 203-80.

Alió JL, Mulet E, Zapata LF, Vidal MT, De Rojas V, Javaloy J. Intracorneal Inlay Complicated by Intrastromal Epithelial Opacification. Arch Ophthalmol 2004;122:1441-6.

Al-Torbak A, Al-Amri A, Wagner WD. Deep Corneal Neovascularization After Implantation with Intracorneal Ring Segments. Am J Ophthalmol 2005;140(5):926-7.

Barach D, Mortermousque B, Bertel F, Diemer C, Dorot N, Verin P. Fluctuations in uncorrected visual acuity after refractive surgery using intrastromal corneal rings. J Fr Ophtalmol 1999;22:335-8.

Bareston ES & Baer RL. Keratoconus associated with atopic dermatitis. Report of two cases. Arch Derm Syphilol 1942; 46:358-61.

Barraquer JI. Queratoplastia refractiva, estudios e informaciones. Oftalmológicas. 1949;2:10-30.

Barraquer JI. Modification of refraction by means of intracorneal inclusion. Int Ophthalmol Clin 1966;6:53-78.

---

Barraquer JJ. Basis of refractive keratoplasty-1967. *Refract Corneal Surg* 1989;5:179-193.

Belau PG, Dyer JA, Ogle KN, Henderson JVV. Correction of ametropia with intracorneal lenses: an experimental study. *Arch Ophthalmol* 1964;72:541.

Bourgues JL, Trong TT, Ellies P, Briat B, Renard G. Intrastromal corneal ring segments and corneal anterior necrosis. *J Cataract Refract Surg* 2003;29(6):1228-30.

Burns TE, Baker PC, Ayer CT, Loomar BE, Mathis L, Silvestrini T. Flattening of central corneal curvature with intrastromal corneal ring of increasing thickness: an eye bank eyes study. *J Cataract Refract Surg* 1993;19 (suppl):182-7.

Burns TE, Ayer CT, Eversen DA, Davenport JM. Effects of intrastromal corneal ring size and thickness on corneal flattening in human eyes. *Refract Corneal Surg* 1994;7:45-50.

Burriss TE, Fleming JF, Schanzlin DE, et al. Intralamellar ring implants can flatten the cornea in eyebank eyes, poster presentation. Presented at the Contact Lens Association of Ophthalmologists Annual Meeting, Jan 13-16, 1988, Las Vegas, Nev.

---

---

Burris TE, Ayer CT, Eversen DA, Davenport JM. Effects of Intrastromal Corneal Ring Size and Thickness on Corneal Flattening in Human Eyes. *Refract Corneal Surg.* 1991;7:46-50.

Buzard K & Fundingsland B. Corneal transplant for keratoconus: results in early and late disease. *J Cataract Refract Surg* 1997;23:398-406.

Casteluber L, Silva JF, Medeiros HA. Extrusão do anel intra-estromal corneano e vascularização do túnel. *Rev Bras Oftalmol.* 2007;66(6): 403-5.

Cunha PFA, Alves EAF, Silva FBD, Cunha GHA. Estudo das modificações oculares induzidas pelo implante do anel de FERRARA<sup>®</sup> em portadores de ceratocone: *Arq Bras Oftalmol* 2003;66:417-22.

D'Hermies F, Hartmann C, Von Ey F, Holzkamper C, Renard G, Pouliquen Y. Biocompatibility of a refractive intracorneal PMMA ring. *Fortschr Ophthalmol* 1991;88(6):790-3.

Duke-Elder S & Leigh A. Diseases of the outer eye. Corneal grafts. In: Duke-Elder(ed). *System of Ophthalmology.* London, Henry Kimpton 1965. v.8 p. 964-976.

Falls HF & Allen AW. Dominantly inherited keratoconus. Report of a family. *J Genet Hum* 1969;17:317-24.

---

---

Fleming JF, Reynolds AE, Kilmer L, Abbott RL, Schanzlin DJ. The intrastromal corneal ring: two cases in rabbits. *J Refract Surg* 1987;3:227-232.

Fleming JF, Wan WL, Schanzlin DJ. The theory of corneal curvature change with the intrastromal corneal ring. *CLAO J.* 1989;15:146-150.

Gonzalez JM. Ferrara ring implant better for advanced keratoconus. *Ocular Surg News Europe/Asia-Pacific* 2002;13:7-8.

Guttman C & Ferrara P. Ring segments useful for contact lens intolerant keratoconus. *Ophthalmol Times* 2001;26:64-5.

Hallermann W & Wilson EJ. Genetische betrachtungen uber den keratoconus. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1977;170:906-8.

Hammerstein W. Zur genetic des keratoconus. *Albrecht von Graefs Arch Klin Exp Ophthalmol* 1974;190:293-308.

Hofling-Lima AL, Branco BC, Romano, AC, Campos MQS, Moreira H, Miranda D, et al. Infections After Implantation of Intracorneal Ring Segments. *Cornea* 2004;23(6)547-9.

Holmes-Higgin DK, Baker PC, Burris TE, Sivestrini TA. Characterization of the aspheric corneal surface with intrastromal corneal ring segments. *J Refract Surg* 1999;15:520-8.

---

---

Kennedy H, Bourne W, Dyer J. A 48 year clinical and epidemiological study of keratoconos. *Am J Ophthalmol* 1986;101:267-73.

Kenney M, Chwa M, Oprobok A, Brown D. Increased galatinolytic activity in Keratoconus Keratinocytes cultures. *Cornea* 1994; 13:114-24.

Krachmer JH & Rodrigues MM. Posterior Keratoconus. *Arch Ophthalmol* 1978;96:1867-73.

Krachmer JH, Feder RS, Belin MW. Keratoconus and related non inflammatory corneal thinning disorders. *Surv Ophthalmol* 1984; 28:293-322.

Krwawicz T. The new plastic operation for correcting the refractive error of aphakic eyes by changing the corneal curvature. *Br J Ophthalmol* 1961;45:59.

Lai MM, Tang M, Andrade EM, Li Y, Khurana RN, Song JC, et al. Optical coherence tomography to assess intrastromal corneal ring segment depth in keratoconic eyes. *J Cataract Refract Surg* 2006;32(11):1860-5.

McPherson S & Kiffney G. Some histologic findings in keratocones. *Arch Ophthalmol* 1968;79:669-72.

Miranda D, Sartori M, Francesconi C, Allermann N, Ferrara P, Campos M. Ferrara intrastromal corneal ring segments for severe keratoconus. *J Refract Surg* 2003;19(6):645-53.

---

---

Moreira H, Oliveira CS, Godoy G, Ali Wahab S. Anel intracorneano de Ferrara em ceratocone. *Arq Bras Oftalmol* 2002;65(suppl 1):59-63.

Murphy M, Keir P, Grant KJM. The histopathologic spectrum of psoriasis. *Clin Rheumatol* 2007;25(6):524-8.

Nosé W, Neves RA, Burrin TE, Schanzlin DJ, Belfort Jr. R. Intrastromal corneal ring: 12 month sighted myopic eyes. *J Refract Surg* 1996;12:20-8.

Nosé W. Ceratoplastias e Ceratectomias. In: *Córnea Clínica – Cirúrgica*. São Paulo, Roca 1996; 47:493.

Nosé W & Ferrara P. Anillo intracorneal. In: Albertazzi R, Centurion V. *La moderna cirurgia refrativa*. Buenos Aires: Gustavo Multedo; 1999. p. 167-81.

Oliveira CS, Moreira H, Wahab AS, Godoy G. Análise de nova técnica para o implante de anel de Ferrara no ceratocone. *Arq Bras Oftalmol* 2004;67(3): 509-17.

Pepper MS, Montesano R, Mandriota SJ, Orci L, Vassalli, JD. Angiogenesis: a paradigm for balanced extracellular proteolysis during cell migration and morphogenesis. *Enzyme Protein* 1996;49:138–62.

Prince JH. *The Rabbit in Eye Research*. Springfield-III, Charles C. Thomas Publisher;1964, 86-139.

---

---

Rabinowitz YS & McDonnell PJ. Corneal topography in early keratoconus. *Am J Ophthalmol* 1989;108:746-7.

Rabinowitz YS & McDonnell PJ. Computed assisted corneal topography in keratoconus. *Refract Corneal Surg* 1989;5:400-8.

Reinstein DZ, Srivannaboon S, Holland SP. Epithelial and stromal changes induced by INTACS Examined by Tree-dimensional Very High-frequency Digital Ultrasound. *J Refract Surg* 2001;17:310-18.

Sallum J. Estudo da etiologia genética do ceratocone. [dissertação]. São Paulo: Departamento de Oftalmologia, Unifesp; 1995.

Sawagchi S, Yue B, Sugar J, Gilboy J, Lysosomal enzyme abnormalities in Keratoconus. *Arch Ophthalmol* 1989;107:1507-10.

Schor P. Ceratocone. *Arq Bras Oftalmol* 1988; 61:235-7.

Siganos D, Chatzinikolas K, Stefanoudakis G, Bessis N, Ferrara P. New intracorneal rings segments reduce irregular astigmatism in keratoconus; first European Results. *Eurotimes* 2001;6:15.

Silva FBD, Alves AFA, Cunha PFA. Utilização do Anel de Ferrara na estabilização e correção da ectasia corneana pós PRK. *Arq Bras Oftalmol* 2000;63-3:215-8.

Simon G & Barraquer RI. Queratocricioemfitesis: nuevo procedimiento de cirugía refractiva (estúdio experimental). *Arch Soc Esp Oftalmol* 1988;1:87-94.

---

Simon G, Parrel JM, Lee W. Gel injection adjustable keratoplasty (GIAK). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:301.

Stulting RD, Lahners WJ, Carr JD. Advances in Refractive Surgery: 1975 to the Present. *Cornea* 2000;19(5):741-753.

Tan DT & Por YM. Current treatment options for corneal ectasia. *Curr Opin Ophthalmol* 2007;18(4):284-9.

Tsubota K, Mashima Y, Murata H, Yamada M. A piggyback contact lens for the correction of irregular astigmatism in keratoconus. *Ophthalmology* 1994; 101:134-9.

Twa, MD, Ruckhofer J, Kash RL, Costello MMS, Schanzlin DJ. Histologic Evaluation of Corneal Stroma Rabbits After Intrastromal Corneal Ring Implantation. *Cornea* 2007;22(2):146-52.

Waardenburg PJ, Francischetti A, Klein D. *Genetics and Ophthalmology*. Springfield, Charles C Thomas, 1961;452-6.

---



**Anexo 1 – Parecer da Comissão de Ética em Experimentação Animal.**

Universidade Estadual Paulista  
Faculdade de Medicina de Botucatu

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu – S.P.  
CEP: 18.618-970  
Fone/Fax: (0xx14) 6802-6143  
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br

Instituída na Faculdade de Medicina através da Portaria do Diretor nº 30 de 26/04/99



Comissão de Ética em Experimentação Animal

## CERTIFICADO

*CERTIFICAMOS que o Protocolo n.º 502 , sobre o projeto de pesquisa intitulado "Anel Intraestromal de Ferrara e sua interação com o estroma corneano. Estudo anatomopatológico, morfométrico e a Microscopia Eletrônica de Varredura" , sob a responsabilidade da Prof.ª Dr.ª Maria Rosa Bet Moraes Silva , com a participação de Eduardo Andreghetti, Elisa Aparecida Gregório e Cláudia Valéria Seuliner Brandão, esta de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), com a ressalva de que os coelhos são provenientes de Biotério convencional sem condições de emitir Atestado de Sanidade.*

*Projeto de Pesquisa Aprovado 19/10/2005*

*Prof.ª Dr.ª Norma Sueli P. Modolo  
Presidente da CEEA*

*Alberto Santos Capelluppi  
Secretário da CEEA*

**Tabela 1.** Resumo descritivo e valores de  $p$  referente as comparações entre os olhos por grupo e posição em relação ao número de camadas do epitélio.

<i>Posição</i>	<i>Grupo</i>	<i>Olho</i>		$p^{(*)}$
		<i>Direito</i>	<i>Esquerdo</i>	
Lateral	1	6 (5 ; 6) (n=11)	5 (5 ; 6) (n =11)	0,132
	2	5 (4 ; 7) (n=15)	5 (5 ; 5) (n =15)	0,468
Sobre	1	3 (3 ; 3) (n=11)	5 (5 ; 6) (n=11)	0,003
	2	4 (3 ; 5) (n=15)	5 (5 ; 5) (n =15)	0,005

(\*) Teste de Wilcoxon para amostras dependentes. Resumo em mediana e quartís.

**Tabela 2.** Peso dos coelhos (kg) de ambos os grupos nos momentos pré-operatórios e M3 (pós-operatórios).

PESO DOS ANIMAIS KILOGRAMA GRUPO I		PESO DOS ANIMAIS KILOGRAMA GRUPO II	
PRÉ-OPERATÓRIO 05/12/06	PÓS-OPERATÓRIO 12/02/07	PRÉ-OPERATÓRIO 05/12/06	PÓS-OPERATÓRIO 12/02/07
<b>Kg</b>	<b>Kg</b>	<b>Kg</b>	<b>Kg</b>
1	2,4	2,65	4,5
2	2,2	1,55	3,75
3	2,32	1,75	4,15
4	1,55	2,3	4,38
5	1,9	1,73	4,25
6	2,58	1,95	3,8
7	2	1,65	4,1
8	2,25	1,65	4,15
9	2,2	1,65	4,16
10	1,9	2,2	5
11	2,18	2,15	4,75
12	2,28	1,53	4,66
13	2,16	1,87	3,9
14	2,45	2,3	4,25
15	2,1	1,85	4
<b>MÉD.</b>	<b>2,1647</b>	<b>1,91867</b>	<b>4,25333</b>