

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

**Transposição corneocconjuntival para o tratamento de
sequestro corneano felino: estudo retrospectivo de 12 olhos
em 12 gatos**

- Versão definitiva -

Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária

Cathy Pereira e Silva

Orientadora: Professora Doutora Justina Maria Prada Oliveira

Co-orientadora: Doutora Maria Cristina Moreira dos Santos Farrajota
Seruca



Vila Real, 2018

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

**Transposição corneoconjuntival para o tratamento de
sequestro corneano felino: estudo retrospectivo de 12 olhos
em 12 gatos**

Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária

Cathy Pereira e Silva

Orientadora: Professora Doutora Justina Maria Prada Oliveira

Co-orientadora: Doutora Maria Cristina Moreira dos Santos Farrajota
Seruca

Composição do Júri:

Presidente: Doutor Carlos Alberto e Silva Venâncio

Orientador: Doutora Justina Maria Prada Oliveira

Arguente: Doutor Luís Miguel Maltez da Costa

Vila Real, 2018

DECLARAÇÃO

NOME: CATHY PEREIRA E SILVA

CC: 14400497

TELEMÓVEL: (+351) 916947736

CORREIO ELETRÓNICO: CATHYPEREIRASILVA@GMAIL.COM

DESIGNAÇÃO DO MESTRADO: MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA:
TRANSPOSIÇÃO CORNEOCONJUNTIVAL PARA O TRATAMENTO DE SEQUESTRO
CORNEANO FELINO: ESTUDO RETROSPETIVO DE 12 OLHOS EM 12 GATOS

ORIENTADORES:

PROFESSORA DOUTORA JUSTINA MARIA PRADA OLIVEIRA
DOUTORA MARIA CRISTINA MOREIRA DOS SANTOS FARRAJOTA SERUCA

ANO DE CONCLUSÃO: 2018

DECLARO QUE ESTA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO É RESULTADO DA MINHA PESQUISA E TRABALHO PESSOAL E DAS ORIENTAÇÕES DOS MEUS SUPERVISORES. O SEU CONTEÚDO É ORIGINAL E TODAS AS FONTES CONSULTADAS ESTÃO DEVIDAMENTE MENCIONADAS NO TEXTO E NA BIBLIOGRAFIA FINAL. DECLARO AINDA QUE ESTE TRABALHO NÃO FOI APRESENTADO EM NENHUMA INSTITUIÇÃO PARA OBTENÇÃO DE QUALQUER GRAU ACADÉMICO.

VILA REAL, 8 DE FEVEREIRO DE 2018
CATHY PEREIRA E SILVA

Agradecimentos

A realização desta dissertação de mestrado, etapa final do mestrado Integrado em Medicina Veterinária, muito deve aqueles que me acompanharam ao longo deste percurso. Gostaria assim de agradecer a todos aqueles que nestes últimos seis anos me apoiaram direta ou indiretamente. O meu muito obrigada.

À Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro e à Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias.

À coordenação do mestrado Integrado em Medicina Veterinária e a todo o corpo docente pela pronta resposta sempre que solicitada.

À professora Doutora Maria Justina Prada Oliveira, minha orientadora, por toda a disponibilidade demonstrada.

À Doutora Cristina Seruca, minha coorientadora e amiga, especialista europeia em oftalmologia veterinária diplomada pelo ECVO, pela transmissão de conhecimentos, ideias e ideais, pelo exemplo de esforço, perseverança e dedicação.

Ao Hospital Veterinário da Universidade do Porto e toda a equipa técnica bem como colegas de estágio pela aprendizagem e troca de conhecimento fornecido durante o estágio curricular.

Ao Hospital Veterinário Central da linha de Cascais – VetOeiras, pelo acolhimento de toda a equipa técnica desde médicos veterinários, enfermeiros, auxiliares e rececionistas. Um agradecimento especial ao Doutor Zé Diogo pela preocupação do bem-estar dos estagiários e partilha de conhecimento nas sessões de “Journal Club”.

A todas as minhas amigas de curso Catarina, Daniela, Diana, Helena, Iolanda e Sónia que sempre me fizeram sentir em casa quando as saudades apertavam. Pelas noites de estudo que me ajudaram a partilhar conhecimentos.

À Sara e Joana que foram um grande apoio durante todo o percurso académico pela ajuda e conselhos partilhados que nos ajudaram a crescer.

À Comunidade Lisboeta, que me acolheu calorosamente no estágio curricular em Oeiras. Por todo o apoio prestado sem nunca querer nada em troca, pela convivência, pelas gargalhadas, pela partilha dos problemas diários de cada um. Senti-me em família com todos vocês Tiago, Liliana, Ilídio e Célia.

Um agradecimento especial à Soraia. Por todos os anos em que vivemos juntas e que fomos o pilar uma da outra ao longo da vida académica e depois dela. Pelos desabafos, conselhos e orientação nos momentos mais stressantes do curso, dissertação de mestrado inclusive.

A toda a minha família.

Aos meus avós Leonor e António.

Ao meu irmão Dany, pela boa disposição e paciência.

Aos meus pais, Daniel e Nathalie, pelos exemplos de vida que me inspiram, pela força e motivação dada, pela educação e pelo carinho. Por acreditarem sempre que conseguiria alcançar este sonho.

Resumo

O sequestro de córnea é uma doença que afeta principalmente o gato. A lesão caracteriza-se por uma área de necrose corneana com descoloração desde âmbar (em casos precoces) a castanha escura ou preta (em casos avançados). Pode surgir secundariamente a uma irritação crónica da córnea por ex. entrópion, triquíase, etc, queratite crónica por herpesvírus, ou aparecer como doença primária da córnea, como ocorre nas raças Persa e Himalaia.

O tamanho da lesão pode variar desde 1-2 mm de diâmetro à afeção de mais de metade da córnea e a profundidade pode variar desde o estroma superficial até à membrana de Descemet.

A remoção cirúrgica é o tratamento de eleição. O tratamento cirúrgico inclui uma excisão lamelar da lesão através de uma queratectomia e, em caso da espessura ser superior a 50% da profundidade da córnea, deve-se associar uma técnica cirúrgica complementar para restaurar a espessura da córnea, mantendo a sua transparência de forma a preservar a visão do animal.

Este estudo retrospectivo inclui 11 sequestros de córnea de profundidade média, profunda e perfurante (apenas em um caso) diagnosticados em 11 gatos que foram submetidos a queratectomia lamelar associada a transposição corneconjuntival. O objetivo do estudo foi avaliar a eficácia, o prognóstico e as complicações na combinação de ambas as técnicas no tratamento da doença. A transposição corneconjuntival foi avaliada como tratamento, quanto ao tempo de cicatrização, a taxa de recorrência e a formação de cicatriz. Os dados presentes neste estudo retrospectivo foram analisados recorrendo a estatística descritiva e recolhidos durante o estágio curricular no Hospital Veterinário Central da linha de Cascais – VetOeiras.

A população em estudo apresenta 5 gatos machos e 6 fêmeas, dos quais 36,4% são gatos persa, 9,1% cruzado de persa e siamês, 9,1% cruzado de bosques da Noruega e 45,5% gatos europeus comuns. A idade média foi de 7,2 \pm 4,4 anos com idades compreendidas entre 8 meses e 15 anos.

O sinal clínico mais frequente foi a presença de uma descoloração corneana focal desde âmbar a preta opaca que afetou todos os gatos, tipicamente contornada por uma zona ulcerativa. A transposição corneconjuntival foi feita unilateralmente em todos os gatos. O tempo de cicatrização médio foi de 15 dias. O tempo de acompanhamento variou entre 15 e 1229 dias e não houve recorrência do sequestro. Todos os gatos acompanhados obtiveram bons resultados estéticos e funcionais com preservação da visão axial.

A queratectomia lamelar seguida de transposição corneconjuntival é um procedimento cirúrgico efetivo no tratamento de sequestro corneano felino de espessura média, profunda ou perfurante fornecendo um excelente suporte tectónico à área afetada com bons resultados estéticos e visuais.

Palavras-chave: Gato doméstico, sequestro de córnea, tratamento cirúrgico, transposição corneconjuntival, estudo retrospectivo

Abstract

Corneal sequestration is a disease that mainly affects the cat. The lesion is characterized by an area of corneal necrosis with an amber (in early cases) or brown-to-black discoloration (in advanced cases). It may occur secondary to chronic corneal irritation, e.g. entropion, trichiasis, etc., chronic herpesvirus keratitis, or appear as a primary disease of the cornea, as occurs in the Persian and Himalayan breeds.

The size of the lesion may range from 1-2 mm in diameter to the affection of more than half of the cornea and the depth may vary from the superficial stroma to the Descemet's membrane.

Surgical removal is the treatment of choice. Surgical treatment includes a lamellar excision of the lesion through a keratectomy and, if the thickness is greater than 50% of the depth of the cornea, a complementary surgical technique should be used to restore the thickness of the cornea, maintain its transparency in order to preserve the animal's vision.

This retrospective study included 11 medium depth, deep and perforating corneal sequestrations (only one case) diagnosed in 11 cats submitted to lamellar keratectomy associated with corneconjunctival transposition. The aim of the study was to evaluate the efficacy, prognosis and complications of the combination of the both techniques in the treatment of the disease. The corneconjunctival transposition was evaluated as treatment, regarding the healing time, the recurrence rate and the scar formation. The data present in this retrospective study were analyzed using descriptive statistics and collected during the clinical training in Hospital Veterinário Central da linha de Cascais – VetOeiras.

The study population includes 5 males and 6 females, 36,4% of which are Persian cats, 9,1% are Persian and Siamese crossbreds, 9,1% are crossbreds from Norwegian forests and 45,5% are domestic shorthair cats. Median age was 7.2 ± 4.4 years, aged between 8 months and 15 years.

The most frequent clinical sign was the presence of a focal corneal discoloration from amber to opaque black that affected all cats, typically surrounded by an ulcerative zone. Corneconjunctival transposition was done unilaterally in all cats. The mean healing time was 15 days. The follow-up time ranged between 15 and 1229 days and there was no recurrence. All the followed cats obtained good esthetic and functional results with preservation of axial vision.

Lamellar keratectomy followed by corneconjunctival transposition is an effective surgical procedure in the treatment of feline corneal sequestration of medium thickness,

deep or perforating, providing excellent tectonic support to the affected area with good aesthetic and visual results.

Key-words: Domestic cat, corneal sequestration, surgical treatment, corneoconjunctival transposition, retrospective study.

Índice geral

Agradecimentos	v
Resumo.....	vii
Abstract.....	ix
Índice de Figuras.....	xiii
Lista de siglas/acrónimos/abreviaturas/símbolos.....	xvii
1. Introdução	1
1.1. Anatomia e função da Córnea.....	1
1.1.1. Inervação da córnea	3
1.1.2. Película lacrimal.....	4
1.2. Sequestro corneano felino.....	5
1.2.1. Tratamento médico e cirúrgico	10
1.2.2. Tratamentos complementares.....	14
2. Objetivo.....	25
3. Material e Métodos.....	27
4. Resultados	31
5. Discussão	39
6. Conclusão	45
7. Bibliografia	47

Índice de Figuras

Figura 1.1 Estrutura normal da córnea	1
Figura 1.2 Regeneração da camada epitelial da córnea	2
Figura 1.3 Olho direito de um gato Persa com sequestro corneano	9
Figura 1.4 Sequestro de córnea central num gato Persa com vascularização	9
Figura 1.5 Queratectomia lamelar	12
Figura 1.6 Gato sujeito apenas a queratectomia após remoção de sequestro	13
Figura 1.7 Tarsorrafia temporária	14
Figura 1.8 Autoenxerto conjuntival e tarsorrafia temporária parcial.....	14
Figura 1.9 Autoenxerto pediculado da conjuntiva bulbar.....	15
Figura 1.10 Transposição corneoconjuntival.....	16
Figura 1.11 Mobilização do flap corneoconjuntival.....	17
Figura 1.12 Transposição corneoconjuntival cicatrizada.....	17
Figura 1.13 Queratoplastia lamelar.....	18
Figura 1.14 Queratoplastia penetrante	19
Figura 3.1 Procedimentos cirúrgicos.....	28
Figura 4.1 Resultado de caso.....	35
Figura 4.2 Resultado de caso.....	36
Figura 4.3 Resultado de caso.....	36

Figura 4.4 Resultado de caso37

Índice de Tabelas

Tabela 1 Funções da película lacrimal	4
Tabela 2 Caraterização dos animais	34
Tabela 3 Caraterização do sequestro	34
Tabela 4 Resultados pós-cirúrgicos	35

Lista de siglas/acrónimos/abreviaturas/símbolos

Ex. - Exemplo

FHV-1 – Herpes vírus felino tipo 1

Fig. - Figura

IM – Intramuscular

IV – Intravenoso

MBU – Matriz de bexiga urinária

Na⁺/K⁺ ATPase – Bomba Na⁺/K⁺ ATPase

Nº - Número

OD – Olho direito

OS – Olho esquerdo

PCR – Reação de cadeia em polimerase

SC - Subcutâneo

SIS – Submucosa intestinal suína

spp. – Espécies

TCC – Transposição corneconjuntival

® - Marca registada

% - Percentagem

1. Introdução

1.1. Anatomia e função da Córnea

A córnea, juntamente com a esclera, formam a túnica fibrosa do globo ocular (Gelatt e Brooks 2011). A córnea é uma barreira física, resistente e impermeável entre o olho e o ambiente. A sua transparência facilita duas funções primárias: refração e entrada da luz em quantidade e qualidade suficientes no olho para a formação de uma imagem na retina (Gelatt 2014). A zona onde gradualmente a córnea fica opaca e transita para esclera é designada de *limbus* (Gelatt e Brooks 2011). A córnea normal do gato tem um diâmetro vertical e horizontal de 15-16 mm e 16-17 mm, respetivamente, e uma espessura de 0,5-0,7 mm, sendo dividida em área axial (central) e para-axial (periférica) sendo a primeira a mais importante para a visão (Kafarnik, Fritsche et al. 2007, Hartley 2010, Gelatt e Brooks 2011). Esta estrutura é constituída por 4 camadas (fig.1.1): Epitélio, Estroma, Membrana de Descemet e Endotélio (da mais externa para a mais interna) (Gelatt e Brooks 2011, Maggs D. J., Miller et al. 2013).

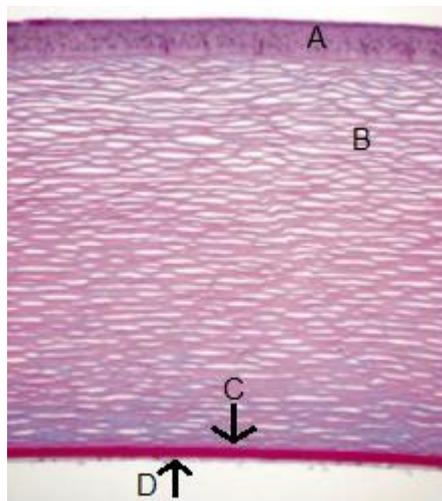


Figura 1.1 Estrutura normal da córnea, A-epitélio, B-estroma, C-membrana de Descemet, D-endotélio – adaptado de (Dubielzig, Ketring *et al.* 2010)

Epitélio

O epitélio é uma camada constituída por 5 a 7 camadas de células, a mais profunda abrange uma camada única de células colunares aderidas a uma membrana basal por

hemidesmossomas, seguida de 2 a 3 camadas de células intermediárias ou poliédricas e 2 a 3 camadas superficiais de células escamosas não queratinizadas que possuem microvilosidades que ajudam a ancorar a película lacrimal à superfície (Dubielzig, Ketring *et al.* 2010, Maggs D. J., Miller *et al.* 2013). A regeneração e maturação desta camada ocorre da periferia para o centro e simultaneamente da camada mais profunda para as mais superficiais (fig. 1.2) (Maggs D. J., Miller *et al.* 2013).

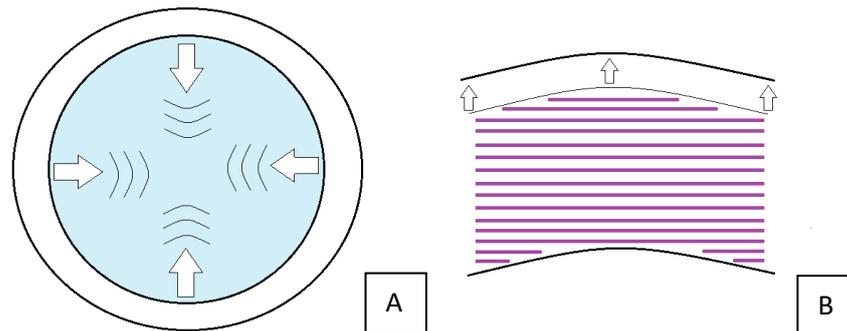


Figura 1.2 Regeneração da camada epitelial da córnea da periferia para o centro (A) e da camada mais profunda para a superficial (B)

Estroma

O estroma, responsável por 90% da espessura total da córnea e por fornecer rigidez ao globo, é composto por feixes paralelos, de diâmetro e espaçamento uniforme, de fibrilhas de colagénio organizadas numa estrutura lamelar (Herring 2003, Hartley 2010, Maggs D. J., Miller *et al.* 2013). A manutenção do colagénio estromal ocorre devido à presença de fibroblastos especializados designados por queratócitos (Herring 2003). A presença de proteoglicanos e glicosaminoglicanos intercalados com a estrutura lamelar, juntamente com os queratócitos e o colagénio, constituem 15-25% do estroma, e o restante é água (Hartley 2010).

Membrana de Descemet

A membrana de Descemet é uma membrana basal para as células endoteliais, formada principalmente por colagénio (Dubielzig, Ketring *et al.* 2010, Gelatt 2014). Por ser continuamente produzida pelas células endoteliais, a membrana aumenta de espessura com a idade (Maggs D. J., Miller *et al.* 2013, Gelatt 2014).

Endotélio

O endotélio é a camada posterior da córnea que contacta com a câmara anterior (Gelatt e Brooks 2011, Maggs D. J., Miller *et al.* 2013). Este é constituído por uma única camada de células hexagonais que comunicam entre si por diferentes junções intercelulares nomeadamente de oclusão, de adesão e comunicantes (Gelatt e Brooks 2011). A função principal do endotélio é manter o estroma num estado de desidratação relativo, não só por ser uma barreira física à entrada de água da câmara anterior para o estroma, mas também porque permite o movimento de água do estroma para a câmara anterior contra o gradiente de pressão por transporte ativo (Na^+/K^+ ATPase) (Dubielzig, Ketring *et al.* 2010, Gelatt 2014). Nos animais adultos, a redução da capacidade de proliferação do endotélio resulta num edema subtil devido à passagem de água da câmara anterior para o estroma (Dubielzig, Ketring *et al.* 2010, Maggs D. J., Miller *et al.* 2013).

1.1.1. Inervação da córnea

Os nervos sensitivos da córnea estão distribuídos a partir da porção média do estroma e provêm do ramo oftálmico do nervo trigémio (Gelatt e Brooks 2011). A ausência de nervos no terço posterior da córnea justifica que as úlceras superficiais sejam mais dolorosas do que as úlceras que envolvem o estroma corneano profundo. (Chan-Ling 1989, Gelatt e Brooks 2011). Foi descrito em córneas de gato uma inervação simpática do gânglio cervical superior representando 10 a 15% da inervação corneana total e ainda uma modesta inervação parassimpática a partir do gânglio ciliar (Muller, Marfurt *et al.* 2003).

A principal fonte de inervação do epitélio no centro da córnea são os nervos provenientes do estroma, enquanto que os nervos da conjuntiva fornecem inervação periférica da córnea (Chan-Ling 1989). A córnea central é mais sensível do que a periférica devido à elevada densidade e maior sobreposição de fibras nervosas na córnea central (Chan-Ling 1989, Blocker e Van Der Woerdt 2001).

Kafarnik, Fritsche *et al.* (2008) descreveram que raças braquicefálicas mostraram menor sensibilidade da córnea em comparação com raças mesocefálicas e dolicocefálicas e que a densidade das fibras nervosas a nível epitelial em gatos persa era significativamente menor do que em gatos domésticos de pêlo curto. Anteriormente Blocker e Van Der Woerdt (2001) haviam já afirmado que a sensibilidade da córnea era menor em gatos braquicefálicos comparativamente a gatos domésticos de pêlo curto, concluindo que existiria uma relação causa-efeito entre o aumento da exposição do globo proeminente e a

subsequente perda de sensibilidade da córnea. A combinação de olhos proeminentes e a diminuição da sensibilidade da córnea pode tornar os gatos braquicefálicos mais suscetíveis a queratite crônica, úlceras de córnea ou sequestro corneano.

1.1.2. Película lacrimal

A superfície do olho é revestida por uma fina película lacrimal importante para o conforto ocular, a claridade ótica e a saúde corneconjuntival (Sebbag, Kass *et al.* 2015). A película lacrimal possui uma estrutura trilaminar consistindo numa camada mucosa mais interna formada pelas células calciformes e epiteliais da conjuntiva e por células epiteliais da córnea que libertam mucinas, uma camada aquosa produzida pelas glândulas lacrimais e por último uma camada lipídica gerada pelas glândulas de Meibomio cuja função é evitar a evaporação da película bem como estabilizá-la (Dubielzig, Ketring *et al.* 2010, Sebbag, Kass *et al.* 2015). Devido a estas características a película lacrimal tem diversas funções referidas na tabela 1:

Tabela 1 Funções da película lacrimal – adaptado de (Ohashi, Dogru *et al.* 2006, Dubielzig, Ketring *et al.* 2010)

Funções da película lacrimal
Manutenção de uma superfície lisa e transparente para a refração da luz;
Lubrificação das pálpebras;
Lubrificação da conjuntiva e córnea de modo a evitar lesões mecânicas na superfície ocular devido a elevadas pressões provocadas pelo reflexo palpebral;
Prevenção da desidratação do epitélio e estroma anterior da córnea;
Fornecimento de nutrientes e oxigénio à córnea (epitélio e estroma anterior) considerando que esta é avascular;
Proteção da superfície ocular: remoção de corpos estranhos, produtos químicos e infeções por microrganismos e fornecimento de um meio pela qual as células inflamatórias têm acesso e ainda pela presença de imunoglobulinas e outras proteínas e péptidos antimicrobianos não específicos, como lisozima e lactoferrina

Uma alteração da componente aquosa da lágrima resulta numa deficiência quantitativa da película lacrimal manifestado clinicamente por queratoconjuntivite seca. Já alterações da componente lipídica ou mucosa resultam numa deficiência qualitativa da película lacrimal, o que provoca instabilidade e evaporação prematura ou rutura da

película e conseqüentemente agressões quer da conjuntiva quer da córnea (Sebbag, 2015).

1.2. Sequestro corneano felino

O sequestro corneano é uma doença comum dos gatos que afeta o estroma com degeneração do colagénio e descoloração de córnea, associado ou não à perda do epitélio e que se pode designar ainda por necrose corneana, mumificação da córnea, degeneração focal, *nigrum* da córnea, queratite *nigra*, queratite necrosante primária e queratite ulcerativa crónica (Moore 2005, Dalla, Pisoni et al. 2007, Graham, White et al. 2017). Apesar de estar descrito em gatos, o sequestro de córnea já foi documentado no cão e no cavalo (McLellan e Archer 2000, Bouhanna, Liscoet et al. 2008).

A doença é observada frequentemente em raças braquicefálicas (persa, himalaia, birmanês) e siamês, mas também ocorre no gato doméstico comum (Startup 1988, Featherstone e Sansom 2004, Dalla, Pisoni et al. 2007). Não há predisposição relacionada com o género e pode ocorrer em qualquer idade (excluindo neonatos) (Startup 1988, Andrew, Tou et al. 2001, Dalla, Pisoni et al. 2007).

As raças braquicefálicas têm órbitas pouco fundas e exoftalmia, eventual lagoftalmia, tendência para desenvolver entrópion médio do canto do olho e diminuição da sensibilidade da córnea que predispõe a irritação corneana (Blocker e Van Der Woerd 2001, Moore 2005).

A patogenia do sequestro corneano ainda não é bem entendida. O sequestro pode desenvolver-se como consequência de uma irritação crónica da córnea como por ex. entrópion ou triquíase, como consequência de queratite crónica por herpesvirus, ou pode aparecer como doença primária da córnea, como ocorre nas raças Persa e Himalaia. No entanto, também pode manifestar-se em gatos sem história de queratite crónica e sem predisposição racial. (Dubielzig, Ketring et al. 2010, Gelatt, Gilger et al. 2013).

Featherstone, Franklin et al. (2004) verificaram uma diminuição do conteúdo lipídico da película lacrimal em animais afetados com a doença, sugerindo que esse facto poderia estar associado a uma dispersão prematura da camada aquosa, causando agressões na córnea que poderiam facilitar a formação do sequestro. No entanto, este estudo não permitiu associar a diminuição do conteúdo lipídico como causa da doença.

Um estudo posterior feito por Grahm, Sisler et al. (2005) levantou a hipótese de que alterações da qualidade da película lacrimal não serem a causa mas sim um efeito provocado pelo sequestro corneano. Porém, o estudo não demonstrou uma associação

entre esta patologia e um número reduzido de células caliciformes, alterações qualitativas da película lacrimal ou a sua destruição ao longo do tempo.

Vários estudos têm analisado a associação da presença de agentes infecciosos com o sequestro de córnea.

O herpes vírus felino tipo 1 (FHV-1) é o vírus mais comum que provoca doença ocular no gato e tem sido associado à presença de sequestro (Stiles 2014).

Nasisse, Guy *et al.* (1989) induziram experimentalmente a infeção por FHV-1 em gatos saudáveis e dividiram-nos em dois grupos, em que num deles foi administrado corticoesteróides após a infeção e avaliados os efeitos provocados ou não pelo fármaco. Verificaram que uma infeção primária afetava preferencialmente as células epiteliais da conjuntiva, mas que o epitélio da córnea também suportava o crescimento vírico. A administração dos corticosteroides permitiu aumentar a severidade e o prolongamento da infeção inibindo a epitelização da córnea e prolongando a dispersão do vírus para o estroma corneano. A queratite estromal (reconhecida pela presença de edema e vascularização profunda) apresentou-se nesses casos associado à ulceração epitelial crónica e manifestada de entre vários sinais clínicos por sequestro corneano. A presença de sequestro pôde não representar uma resposta específica à infeção por FHV-1 mas antes uma sequela inespecífica ao dano estromal significativo, concluíram por fim.

Sabe-se que o vírus se encontra em latência no gânglio do nervo trigémio mas que pode persistir de forma quiescente no tecido ocular particularmente na córnea (Stiles 2014). A reativação do vírus está associada a fatores de stress naturais ou artificiais como a lactação, sobrepopulação e administração de corticosteroides (Nasisse 1990). Uma resposta imunitária ineficaz, episódios crónicos ou recorrentes da infeção provocam um dano progressivo do colagénio estromal, desarranjo fibrilar e eventualmente opacificação (Nasisse 1990, Gould 2011).

Posteriormente, Nasisse, Glover *et al.* (1998) estudaram animais que possuíam sequestro corneano e detetaram a presença de ADN de FHV-1 em 55,1% da população, suscitando o envolvimento de FHV-1 na patogenia do sequestro e concluindo que este deve ser considerado no seu tratamento. Apesar disso, a prevalência do vírus nas raças persa e himalaia era menor que no gato doméstico concluindo que nestas, outros fatores não víricos estariam presentes.

Volopich, Benetka *et al.* (2005) investigaram a correlação entre os sinais oculares (incluindo o sequestro corneano) e a infeção por FHV-1 detetando ADN de FHV-1 por PCR, concluindo que não havia uma associação estatisticamente significativa entre a infeção e o sequestro de córnea.

Cullen, Wadowska *et al.* (2005), para tentarem compreender a patogenia do sequestro felino, submeteram as amostras de córnea para PCR, testando não só FHV-1 mas também *Toxoplasma gondii*, *Clamydophila felis* e *Micoplasma spp.*, e observaram-nas ao microscópio eletrónico de transmissão. Todas as amostras de sequestro, independentemente da presença de ADN dos microrganismos avaliados, apresentavam queratócitos com morfologia indicativa de apoptose, sendo antes este processo que desempenhava um papel importante na patogenia da doença e não a presença de agentes infecciosos.

Um trauma de córnea iatrogénico através da realização de desbridamento e de queratotomia em grade no tratamento de úlceras não cicatrizantes poderá também predispor ao desenvolvimento subsequente de sequestro corneano (La Croix, van der Woerd *et al.* 2001).

Ao microscópio ótico, a histologia do sequestro pode incluir necrose de coagulação superficial a média, perda de queratócitos e alteração da coloração eosinofílica homogénea do colagénio ao longo da lesão. É comum a presença de células inflamatórias limitadas à periferia do sequestro nomeadamente neutrófilos, plasmócitos e linfócitos, no entanto, podem estar ocasionalmente presentes dentro da lesão, e, ainda, neovascularização e fibrose (Gemensky e Wilkie 2001, Cullen, Wadowska *et al.* 2005, Grahn, Sisler *et al.* 2005). O epitélio corneano pode apresentar-se solto e com diferentes graus de irregularidade. A possibilidade de existirem agregados de microrganismos em forma de cocos compatível com *Staphylococcus sp.* entre as camadas de colagénio é real. Contudo, é verossímil que seja apenas um invasor secundário (Cullen, Wadowska *et al.* 2005).

As amostras visualizadas diretamente (sem uso de corantes específicos) confirmam a coloração distinta da lesão reconhecida clinicamente. O sequestro possui uma zona central preta mais escura cercada por uma zona castanha mais clara e uma zona periférica cor âmbar clara. A transição das zonas varia gradualmente, as partículas que conferem o pigmento possuem tamanhos variáveis e a sua densidade é maior quanto mais central estiverem na lesão. As diferentes zonas podem representar um processo contínuo e progressivo da doença que ocorre numa direção centrípeta ou centrífuga (Featherstone, Franklin *et al.* 2004).

Muito se tem questionado sobre a origem do pigmento. Para Featherstone, Franklin *et al.* (2004), as partículas visualizadas ao microscópio eram compatíveis com depósitos de melanina (eumelanina e feomelanina). Em medicina humana o uso prolongado de epinefrina tópica provoca uma descoloração da córnea e conjuntiva, já que a sua oxidação para um pigmento adrenocromo instável é convertido num mais estável, a melanina (Kaiser, Pineda

et al. 1992). É possível que um processo semelhante ocorra no sequestro de córnea felino (Newkirk, Hendrix *et al.* 2011).

Um relato de caso feito por Gemensky e Wilkie (2001) afirma que os resultados histológicos eram compatíveis com um sequestro de córnea mineralizado, pois o uso da coloração Von Kossa era positivo e presumivelmente atribuído a deposição de cálcio. A justificativa para tal fato deveu-se à presença de FHV-1, inflamação e necrose estromal com a libertação de enzimas colagenolíticas que contribuíram para um ambiente propício a precipitação de fosfato de cálcio. Cullen, Wadowska *et al.* (2005) observaram por microscopia eletrônica de transmissão amostras de córneas afetadas, em que numa delas se apresentava com depósitos electrodensos de grande tamanho circulares ou irregulares, localizados dispersamente entre as fibrilhas de colagénio e compatíveis com mineralização.

No entanto, a presença de depósitos electrodensos de tamanho menor em alguns dos casos era consistente com depósitos metálicos nomeadamente ferro.

Anteriormente, Ejima, Hara *et al.* (1993) relataram também os resultados de análises químicas da lesão negra de um sequestro de córnea e por espectrometria de fluorescência de raio x, concluindo a presença de grandes concentrações de ferro. Componentes cromáticos (melanina e grupo heme) não tinham sido extraídos da córnea, por isso, provavelmente, não eram a causa da descoloração. Já Featherstone, Franklin *et al.* (2004), por outros estudos, demonstraram que não havia nenhum elemento inorgânico único presente em grandes quantidades e que o ferro não era um componente importante nos sequestros analisados.

Foi proposto que a absorção de porfirinas na película lacrimal a partir do estroma exposto dava a coloração típica do sequestro e que a sua proveniência poderia explicar o mecanismo de formação da doença. A ideia de que tem uma origem lacrimal deve-se ao fato de a coloração não ser só observada na córnea mas também em descargas oculares, lentes de contato, enxertos conjuntivais e enxertos de submucosa intestinal suína (SIS) usados no tratamento do sequestro (Featherstone e Sansom 2004, Newkirk, Hendrix *et al.* 2011). Newkirk, Hendrix *et al.* (2011) concluíram a partir dos estudos feitos por espectrometria de fluorescência e exame histológico que as glândulas lacrimais, córneas saudáveis e com sequestro dos gatos não tinham porfirinas e que por isso não aparentavam ser a causa de coloração do sequestro corneano felino.

Infelizmente a origem da coloração do sequestro permanece um enigma (Newkirk, Hendrix *et al.* 2011).

A manifestação clínica clássica do sequestro corneano felino caracteriza-se pela presença de uma lesão que varia de tamanho e que pode ser oval ou circular com uma coloração que pode diferenciar de cor âmbar transparente a preto opaco a nível central ou

periférico da córnea (fig. 1.3) (Featherstone e Sansom 2004, Cullen, Wadowska et al. 2005). Na maioria das vezes, o sequestro está localizado no estroma anterior mas a sua extensão para o estroma médio ou membrana de Descemet não é incomum (Moore 2005). Vários graus de vascularização com ou sem ulceração podem acompanhar o sequestro na sua periferia ou nas margens profundas mas não na lesão (fig. 1.4) (Cullen, Wadowska *et al.* 2005, Dubielzig, Ketring *et al.* 2010). Outros sinais comuns são epífora com ou sem uma coloração acastanhada e desconforto ocular que inclui fotofobia, blefarospasmo, enoftalmia e protusão da terceira pálpebra (Startup 1988, Featherstone e Sansom 2004, Moore 2005). Estes sinais de irritação tornam-se progressivamente evidenciados. Todavia, alguns animais podem não manifestar desconforto mesmo na presença de um grande sequestro (Startup 1988). Associado ao desconforto há animais com apatia e hiporexia (Dalla, Pisoni et al. 2007). Também é frequente o surgimento de conjuntivite, quemose e hiperémia conjuntival (Moore 2005).



Figura 1.3 Olho direito de um gato Persa com sequestro corneano. Fotografia gentilmente cedida por Dr.^a Cristina Seruca



Figura 1.4 Sequestro de córnea central num gato Persa com vascularização. Fotografia gentilmente cedida por Dr.^a Cristina Seruca

Para avaliar as causas subjacentes à irritação da córnea, durante o exame oftalmológico, deve-se aplicar o corante de fluoresceína que normalmente não cora o sequestro em si mas pode haver retenção positiva à sua volta, e fazer o teste de Schirmer, que avalia a porção aquosa da película lacrimal que pode ser menor na presença do sequestro (queratoconjuntivite seca) (Cote 2010).

1.2.1. Tratamento médico e cirúrgico

O tratamento tem como intuito eliminar a placa corneana, minimizar a cicatrização, restaurar e preservar a visão axial, prevenir a rutura da córnea e impedir o decurso da doença (Gemensky e Wilkie 2001).

Os parâmetros que se devem ter em conta aquando da seleção do tratamento aplicado são: grau de desconforto ocular e extensão e profundidade da lesão. Nos casos em que a lesão é pequena, superficial e não há sinais de desconforto ocular foi sugerido em estudos antigos um tratamento farmacológico (Featherstone e Sansom 2004, Dalla, Pisoni et al. 2007). No entanto, a literatura atual demonstra que a remoção cirúrgica do sequestro é o tratamento de eleição, uma vez que o tempo de recuperação é menor e o prognóstico visual e funcional é significativamente melhor (Gelatt, Gilger et al. 2013, Laguna, Leiva et al. 2015, Graham, White et al. 2017).

Um estudo feito por Dalla, Pisoni *et al.* (2007) teve como objetivo avaliar a eficácia do tratamento farmacológico avaliando o tempo de recuperação e a taxa de recorrência. O tratamento consistia na aplicação de antibiótico de largo espectro a cada 6 horas durante 10 dias, gotas artificiais administradas nos dois olhos diariamente, acetilcisteína em colírio no olho afetado a cada 8 horas, suplementos na dieta que continham vitaminas, minerais e proteínas e colocação de um colar isabelino. Em todos os gatos observados a lesão não foi removida mas antes substituída por um leucoma de dimensões variadas dependendo das dimensões da lesão original. O tempo de recuperação variou entre 1 a 12 meses.

Quando o sequestro se forma numa base de úlcera é improvável que ocorra cicatrização do epitélio e que o tratamento médico por si só não seja viável (Stiles 2003, Hartley 2010).

O tratamento cirúrgico do sequestro corneano felino tipicamente inclui uma excisão lamelar da lesão através de uma queratectomia superficial (Pena Gimenez e Farina 1998). A remoção do tecido necrótico por queratectomia acelera a cicatrização, diminui a cicatriz e o estímulo para queratite e iridociclite (Gelatt e Brooks 2011). Dependendo da preferência do cirurgião e da profundidade da queratectomia realizada, podem ser usados procedimentos complementares, nomeadamente autoenxerto conjuntival, transposição corneoconjuntival, transplante de córnea e ainda biomateriais como membrana amniótica (Blogg, Stanley et al. 1989, Pena Gimenez e Farina 1998, Andrew, Tou et al. 2001, Featherstone e Sansom 2004, Barachetti, Giudice et al. 2010, Laguna, Leiva et al. 2015).

Qualquer causa de irritação ocular deve ser ainda tratada quer medicamente ou cirurgicamente para prevenir a longo prazo a possibilidade de recorrência da doença (Andrew, Tou *et al.* 2001).

Queratectomia lamelar

Regra geral, apenas a área lesionada, dentro do epitélio e estroma anterior, é removida (Gelatt e Brooks 2011). O primeiro passo é incidir a uma profundidade adequada para a remoção da lesão com uma lâmina de bisturi nº64, um trépano ou um *Tru-cut* (fig. 1.5 a). Após feita a incisão inicial, o bordo da córnea é agarrado por uma pinça e ligeiramente elevado para que se faça uma disseção num plano horizontal (fig. 1.5 b). A disseção deve permanecer dentro do plano lamelar do estroma e não atingir camadas mais profundas (fig. 1.5 c e d) (Hollingsworth 2003). Muitas vezes a córnea é vascularizada e ocorre hemorragia limitada durante a incisão. Para evitar que a hemorragia obscureça a incisão, instila-se uma solução salina estéril a 0,9% direcionada para o local incidido. Geralmente a hemorragia cessa assim que tenha havido tempo necessário para a coagulação, não sendo justificado o uso de adrenalina tópica (Gelatt e Brooks 2011). Uma vez dissecada a lesão, o tecido corneano pode ser removido por uma tesoura fina (fig. 1.5 e). As queratectomias que removem 30% ou menos da espessura da córnea (fig. 1.6) são tratadas medicamente como uma úlcera, ou para reduzir a probabilidade de recorrência pode ser recomendado o uso de lentes de contacto ou uma tarsorrafia temporária durante a cicatrização. Aquelas que removem mais de metade devem ser suportadas com um dos procedimentos complementares mencionados anteriormente e descritos adiante (Hollingsworth 2003, Gelatt e Brooks 2011, Gelatt, Gilger et al. 2013). O tratamento médico pós-cirúrgico engloba um antibiótico tópico de amplo espectro, um cicloplégico tópico (ex.: atropina, ciclopentolato) e colar isabelino (Gelatt e Brooks 2011, Laguna, Leiva et al. 2015).

A regeneração da córnea após a queratectomia superficial no tratamento do sequestro de córnea felino é muitas vezes mais lenta do que o esperado noutras lesões, resultando numa maior cicatriz. Quando o teste de fluoresceína der negativo, ou seja, quando a re-epitelização da córnea for completa, o antibiótico e o cicloplégico podem ser descontinuados. A transparência final da córnea pode exigir várias semanas durante as quais o estroma corneano se reorganiza. Os corticosteroides tópicos como a prednisolona a 0,25-0,50% ou hidrocortisona a 2,5% podem ser administrados ou ainda a ciclosporina para minimizar a cicatrização da córnea (Gelatt e Brooks 2011, Laguna, Leiva et al. 2015).

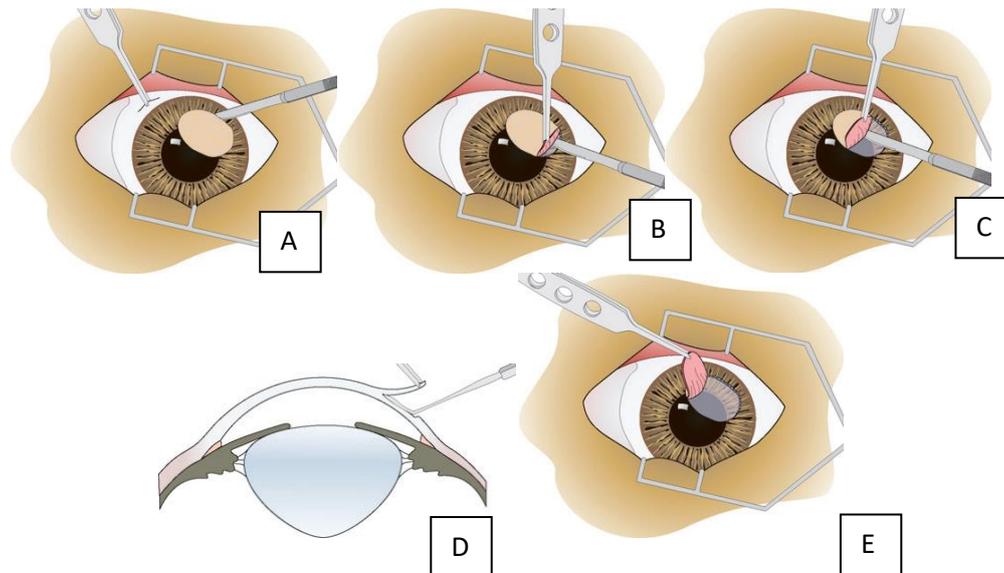


Figura 1.5 Queratectomia lamelar. Na queratectomia uma secção do epitélio e do estroma da córnea são excisadas. (A) A lesão é incidida com uma lâmina microcirúrgica/queratômetro a uma determinada profundidade consoante o tamanho da lesão; (B) O bordo da lesão é agarrado e levantado por uma pinça separando a lesão do estroma intacto que é dissecado por um queratômetro; (C) O queratômetro é mantido tangencial para evitar planos profundos da camada do estroma durante a dissecção; (D) Um separador ou dissetor de Martinez pode ser usado em vez do queratômetro para fazer a dissecção lamelar; (E) Após dissecção total do estroma, a lesão é cuidadosamente removida resultando num defeito de córnea – adaptado de (Gelatt e Brooks 2011)

As complicações pós-cirúrgicas são infrequentes. A infeção bacteriana é rara desde que sejam administrados antibióticos tópicos apropriados. A diminuição da produção de lágrima é possível atrasando a cicatrização da córnea e aumentando a possibilidade da sua vascularização e opacificação. As raças braquicefálicas devem ser reavaliadas com maior regularidade, uma vez que a lagofthalmia, a exposição da córnea central e a produção menor de lágrima suscetível nestas raças podem prolongar excessivamente a re-epitelização corneana (Gelatt e Brooks 2011). Quando a queratectomia é incompleta e um pigmento residual permanece na córnea, a probabilidade de recorrência e de um novo sequestro de córnea surgir é grande (Featherstone e Sansom 2004).



Figura 1.6 Gato sujeito apenas a queratectomia após remoção de sequestro. Imagem 1 semana após cirurgia. Fotografia gentilmente cedida por Dr.^a Cristina Seruca.

Lentes de contacto

As lentes de contacto podem ser usadas após a remoção do sequestro. A escolha do seu uso depende do temperamento do gato, do grau de desconforto ocular e da profundidade da úlcera (Featherstone e Sansom 2004, Bossuyt 2016). Foi descrito o seu uso em úlceras superficiais ou que afetassem um terço da camada estromal e provado a sua eficácia em fornecer conforto e proteção quer na fase inicial ou completa da cicatrização. O conforto foi determinado pela marcada redução de blefarospasmo e epífora. No entanto, esta terapia complementar pode ser ineficaz quando ocorre a sua remoção prematura e é contraindicada em animais com queratoconjuntivite seca (Schmidt, Blanchard *et al.* 1977, Bossuyt 2016).

Tarsorrafia temporária

A tarsorrafia temporária consiste no encerramento da fissura palpebral utilizando pontos de sutura em U nas margens das pálpebras por um período curto de tempo (fig. 1.7). A técnica é usada após cirurgia da conjuntiva ou córnea para reduzir o trauma provocado pelas pálpebras no local cirúrgico e para fornecer algum contacto e pressão sobre enxertos ou para manter as lentes de contacto no local (fig. 1.8) (Gelatt 2014).

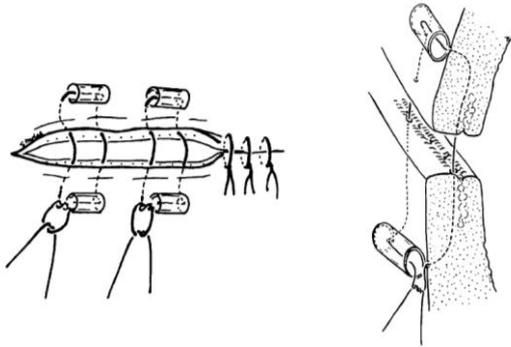


Figura 1.7 Tarsorrafia temporária utilizando pontos de sutura em U e tubos de silicone para evitar cortar a pele. – adaptado de (Gelatt 2014)



Figura 1.8 Autoenxerto conjuntival e tarsorrafia temporária parcial. – adaptado de (Gelatt, Gilger *et al.* 2013)

1.2.2. Tratamentos complementares

Autoenxerto conjuntival

Os autoenxertos conjuntivais são constituídos por mucosa conjuntival bulbar ou palpebral com epitélio e tecido conjuntivo (fibroblastos, vasos sanguíneos e linfáticos) e que vão fornecer fibroblastos e colagénio para reorganizar o estroma bem como leucócitos, anticorpos, soro e α -2macroglobulinas (como fator anticolagenase). Estes autoenxertos são transpostos e suturados na córnea frágil para fornecer suporte adicional e tecido sem que haja risco de rejeição. Existem vários tipos de autoenxerto conjuntival dependendo da origem da mucosa (bulbar, tarsopalpebral ou corneconjuntival) e do tipo de enxerto (avanço, em ponte, completo, em ilha ou pediculado) (Gelatt e Brooks 2011). De todos eles, o enxerto pediculado é o mais usado e versátil (fig. 1.9), uma vez que deixa uma cicatriz menor que os restantes, tem efeitos mínimos na visão, permite o exame ocular pós-cirúrgico e não impede a absorção de fármacos na córnea e câmara anterior (Brooks 2008). O enxerto pediculado alivia ainda a dor em gatos com baixa produção de lágrima (Blogg, Stanley *et al.* 1989). Apesar de Blogg, Stanley *et al.* (1989) terem usado o enxerto pediculado como indicação na estabilização da córnea e prevenção da recorrência do sequestro após queratectomia profunda, Featherstone e Sansom (2004) vieram afirmar que a taxa de recorrência do sequestro não era menor ao realizar um enxerto (17%) comparativamente aos que não tinham feito (25%).

A complicação mais comum de qualquer autoenxerto é a deiscência e retração prematura do enxerto na lesão e pode ocorrer devido a uma infeção da lesão, uma tensão

excessiva do enxerto ou a cápsula de *Tenon* ser incluída. Para além disso, se as suturas forem muito apertadas podem provocar isquémia do enxerto manifestado por uma coloração branca e que, posteriormente, é retraído ou mesmo rejeitado (Brooks 2008).

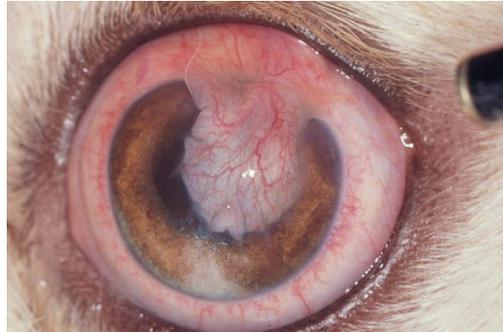


Figura 1.9 Autoenxerto pediculado da conjuntiva bulbar. – adaptado de (Gelatt e Brooks 2011)

Transposição corneconjuntival

A transposição corneconjuntival (TCC) é um procedimento que se caracteriza pelo deslocamento da córnea periférica para defeitos centrais da córnea, permanecendo transparente, e move a conjuntiva bulbar adjacente para a córnea periférica, ficando esta translúcida (Gelatt e Brooks 2011).

Após queratectomia, o leito da córnea pode ser ampliado 1 a 2 mm para remoção adequada de todos os tecidos. Posteriormente fazem-se duas incisões corneanas de espessura parcial, ligeiramente divergentes e que se estendem dorsalmente à lesão com um queratômato até percorrerem a zona limbal (fig. 1.10 a). O plano de disseção é alterado para a subconjuntiva e incide-se na conjuntiva bulbar com uma lâmina de bisturi ou uma tesoura de tenotomia. O bordo da transposição é elevado por pequenas pinças de fixação e faz-se uma disseção do epitélio corneano e metade da espessura do estroma até ao limbo (fig. 1.10 b), usando geralmente a base do defeito corneano como referência. A disseção é continuada no espaço subconjuntival separando a conjuntiva bulbar da cápsula de *Tenon* (fig. 1.10 c). Quando as ligações subconjuntivais da mucosa conjuntival forem separadas, todo o enxerto pode ser posicionado e aparado, se necessário, para encher a ferida da córnea. A córnea transposta deve ser cerca de 1 mm maior do que o defeito da córnea para compensar a retração do tecido corneano e suturada cuidadosamente no local da ferida (fig. 1.10 d) (Gelatt e Brooks 2011).

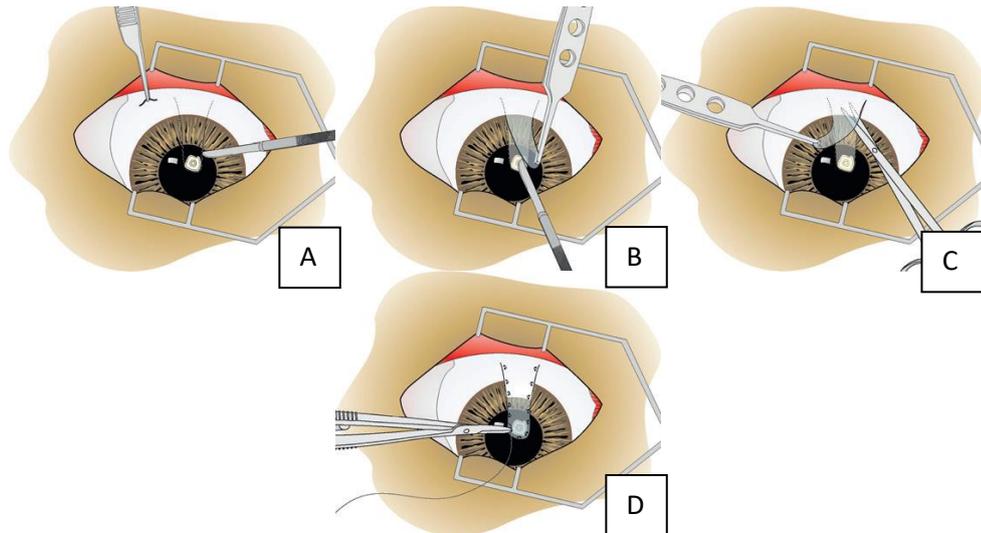


Figura 1.10 Transposição corneioconjuntival. (A) preparação do leito da córnea; (B) dissecção do epitélio e estroma anterior da córnea; (C) dissecção da conjuntiva bulbar; (D) aplicação do pedículo corneioconjuntival na área lesionada – adaptado de (Gelatt e Brooks 2011)

Este procedimento tem como vantagens o uso de córnea autóloga, estando facilmente disponível sem necessidade de material dador, manutenção de uma ligação vascular na conjuntiva que melhora a viabilidade do tecido transposto promovendo uma cicatrização rápida e completa, fornecer suporte físico e um bom resultado estético com a visão axial transparente (Wilkie e Whittaker 1997, Andrew, Tou et al. 2001, Graham, White et al. 2017).

A TCC foi utilizada com sucesso no tratamento do sequestro corneano felino num estudo em que foi documentado pela primeira vez o seu valor como opção de tratamento primário e cujo sequestro afetava até metade da camada estroma (Andrew, Tou *et al.* 2001). Um estudo recente utilizou esta técnica em sequestros de córnea que afetavam todas as camadas e, em alguns casos, resultando mesmo na sua perfuração, demonstrando que a técnica foi bem sucedida em lesões mais profundas (fig. 1.11 e fig. 1.12) (Graham, White *et al.* 2017). Apesar de Andrew, Tou *et al.* (2001) não terem verificado recorrência da doença em nenhum dos casos tratados com esta técnica cirúrgica, Graham, White *et al.* (2017) obtiveram uma pequena taxa de recorrência (8,3%) ainda assim menor, quando comparado com outras técnicas descritas. O maior número de casos e a profundidade do envolvimento de córnea são fatores consideráveis que justificam as diferentes taxas de recorrências relatadas nestes dois estudos (Graham, White *et al.* 2017).

As lesões maiores que 25 a 30% do diâmetro da córnea são tratadas preferencialmente com transplantes homólogos ou heterólogos ao invés da transposição corneioconjuntival devido à insuficiência de tecido corneano autólogo (Wilkie e Whittaker 1997).

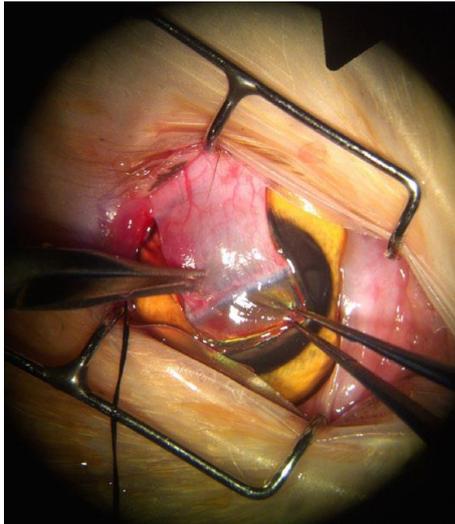


Figura 1.11 Mobilização do flap corneconjuntival para preencher o defeito corneano realizado após a remoção do sequestro – adaptado de (Graham, White *et al.* 2017)



Figura 1.12 Transposição corneconjuntival cicatrizada com vascularização da porção conjuntiva e clareza ótica da porção corneana. – adaptado de (Graham, White *et al.* 2017)

Transplante de córnea

As indicações para o transplante de córnea quer em oftalmologia humana quer veterinária podem dividir-se em quatro grupos: visual, terapêutico, tectónico e estético (Lacerda, Pena Gimenez *et al.* 2017).

O transplante de córnea inclui queratoplastias de espessura parcial (lamelar anterior ou posterior) ou total (penetrante) e são descritas de acordo com a origem do tecido dador em autólogo/autógeno quando é colhido do próprio recetor, homólogo/homoenxerto/alógeno quando o dador é um animal da mesma espécie ou heterólogo/heteroenxerto/xenogénico quando o dador é de uma espécie diferente do recetor (Wilkie e Whittaker 1997, Gelatt e Brooks 2011).

Os animais dadores devem estar livres de doenças sistémicas bem como de doenças infecciosas que, potencialmente, podem ser transmitidas ao hospedeiro a partir do transplante. Os cães dadores deveriam ser testados para doenças infecciosas comuns como, por exemplo, a Leishmaniose. Os gatos dadores deveriam idealmente ser testados para os vírus da imunodeficiência felina, leucemia felina e herpesvírus, já que animais clinicamente normais podem possuir as doenças (Nasisse, Glover *et al.* 1998, Pena Gimenez e Farina 1998, Stiles e Pogranichniy 2008, Gelatt e Brooks 2011).

O transplante pode ser utilizado a fresco ou congelado. Apesar de o tecido poder ser criopreservado durante pelo menos 10 anos, este torna-se apenas uma fonte de colagénio fornecendo suporte tectónico. Por outro lado, a antigenicidade do tecido é reduzida pela

indução da apoptose dos queratócitos. Embora não haja células viáveis nesses enxertos, as células endoteliais, os queratócitos e as células epiteliais do tecido hospedeiro podem migrar e estabelecer-se no transplante. Assim sendo, o uso de córnea criopreservada pode ser recomendada nos casos com defeitos lamelares em que é necessário suporte tectônico; no entanto, em queratoplastias penetrantes só deve ser utilizada como primeira abordagem em emergências para estabilizar o olho pois pode resultar em opacificação moderada a grave (Gelatt e Brooks 2011, Costa, Leiva et al. 2016).

Em ambas as técnicas (queratoplastia lamelar ou penetrante) recomenda-se uma combinação tripla de antibióticos tópicos (neomicina, bacitracina e polimixina B) ou cloranfenicol, reduzindo a possibilidade de infecção da córnea transplantada. A pupila deve ser dilatada com 1% de atropina pré, intra e pós-cirúrgicamente. A frequência da sua aplicação depende da manutenção de uma midríase moderada limitando os movimentos da íris para reduzir a probabilidade de sinequias posteriores e formação de cataratas secundárias. São administrados corticoesteróides e anti-inflamatórios não esteroides tópicos e sistêmicos antes da cirurgia (Gelatt e Brooks 2011).

A queratoplastia lamelar (fig.1.13) é a excisão do epitélio e estroma da córnea com substituição por um tecido de enxerto de igual espessura (Gelatt 2014). O material dador é dividido dependendo da espessura relativa do transplante desejado, o estroma é incidido e dividido em duas partes. A porção posterior é descartada e a porção anterior constituída por epitélio e estroma é transferida para o defeito da córnea com a superfície epitelial orientada externamente. O transplante lamelar deve ser 0,5 mm maior que o defeito da córnea para compensar a retração posterior e suturado à córnea com pontos de nylon simples contínuos ou interrompidos (Gelatt e Brooks 2011).

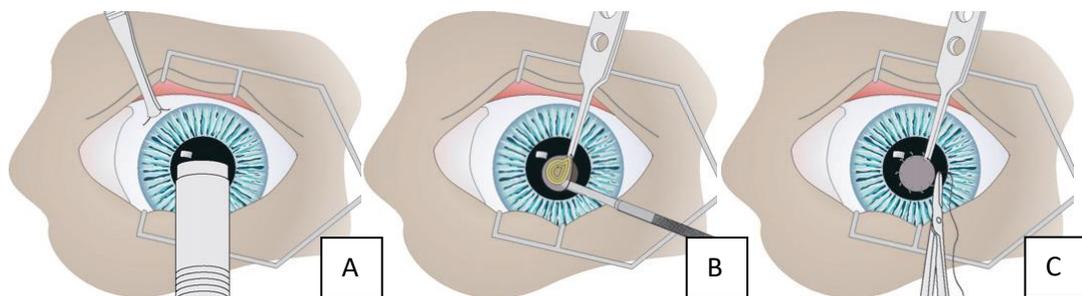


Figura 1.13 Queratoplastia lamelar. (A) a lesão central é incidida com um trépano; (B) o bordo da lesão é levantado por uma pinça e a lesão é cuidadosamente separada e removida do estroma com uma lâmina microcirúrgica/queratótom; (C) o transplante é colocado na base do defeito e suturado com fio de sutura de nylon 8/0 a 10/0. – adaptado de (Gellat e Brooks, 2011)

Na queratoplastia penetrante (fig. 1.14) em que toda a espessura da córnea é removida ocorre saída de humor aquoso da câmara anterior, que deve ser restabelecido

com um agente viscoelástico para manter a câmara durante a aposição do transplante e proteger o endotélio evitando o seu contacto com o material cirúrgico ou estruturas intraoculares. O tecido dador é cuidadosamente posicionado no destinatário e deve ser, mais uma vez, ligeiramente maior por causa da retração do tecido. Após o transplante ser estabilizado com quatro suturas em cada quadrante, são colocadas suturas simples interrompidas para proteger o transplante, fornecendo tensão uniforme sobre os seus limites e impedindo deformidades óticas no pós-cirúrgico. Antes da colocação da sutura final, o material viscoelástico é removido para prevenir a hipertensão ocular no pós-cirúrgico (Wilson e Kaufman 1990, Gelatt e Brooks 2011, Gelatt 2014). A queratoplastia penetrante em medicina veterinária é subtilizada e pode dar melhores resultados em doenças endoteliais do que no sequestro de córnea. A disponibilidade de córneas dadoras, os requisitos do meio de preservação e a baixa manutenção da viabilidade das células endoteliais com métodos de criopreservação tornam esta técnica difícil de ser aplicada (Hansen e Guandalini 1999).

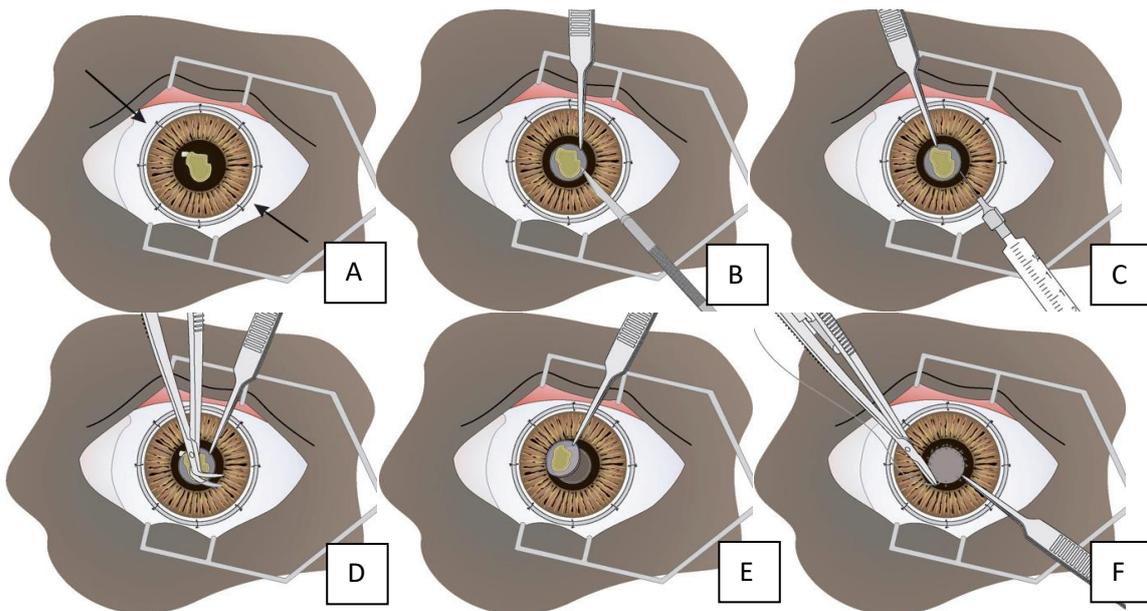


Figura 1.14 Queratoplastia penetrante. (A) o anel *Flieringa* é fixado ao limbo com 8 a 10 suturas simples interrompidas para manter a forma do segmento anterior; (B) após incisão com o trépano faz-se incisão até à câmara anterior com a lâmina microcirúrgica; (C) o agente viscoelástico é injetado para manter a câmara anterior; (D) após incisão de espessura total completada pelas tesouras de queratoplastia a porção corneana com alterações é removida; (E) o tecido dador é cuidadosamente posicionado com o endotélio em direção à câmara anterior; (F) estabilização do tecido dador com pontos simples interrompidos. – adaptado de (Gellat e Brooks, 2011)

O tratamento pós-cirúrgico baseia-se em antibióticos tópicos e sistémicos, ciclopégico tópico, ciclosporina tópica e anti-inflamatório não esteroide tópico ou sistémico. Os corticosteroides só devem ser administrados 7-14 dias após cirurgia já que usados de

forma prematura podem atrasar o processo de cicatrização, facilitar a infecção, a colagenólise, deiscência da ferida ou aumento da pressão intraocular e, conseqüentemente, levar à rejeição do transplante. Para além disso são contraindicados nos gatos infetados por herpesvírus felino. (Armaly 1963, Nasisse 1990, Barba, Samy et al. 2000, Price e Price 2006, Townsend, Rankin et al. 2008, Gelatt e Brooks 2011). Ao contrário do que é estabelecido para os humanos e cães, não há necessidade de fármacos imunossupressores sistêmicos nos casos tratados com sequestro corneano felino (Laguna, Leiva *et al.* 2015). Recomenda-se ainda o uso de colar isabelino por duas semanas e restrição de exercício físico. A monitorização da pressão intraocular é importante e deve ser feita na periferia da córnea evitando o tecido transplantado (Wilkie e Whittaker 1997).

A possível rejeição do transplante é um problema nas queratoplastias, geralmente demonstrado com vascularização pós-cirúrgica, edema, inflamação e opacificação do tecido corneano transplantado (Gelatt e Brooks 2011).

Pena Gimenez e Farina (1998), após terem feito uma queratoplastia lamelar (com córneas congeladas) como tratamento do sequestro corneano, concluíram nos seus casos que quer o tecido dador fosse homólogo quer heterólogo não havia diferenças notáveis a nível do grau de edema pós-cirúrgico, grau de vascularização e transparência. Para além disso, em nenhum dos casos relatados houve uma resposta vascular da córnea que se estendesse para o transplante, sugerindo que o reconhecimento imunológico do tecido estromal, mesmo que fosse de uma espécie diferente, era baixo no gato não havendo rejeição dos tecidos. Um estudo anterior afirma mesmo que os transplantes lamelares evitam o estímulo para a rejeição do endotélio porque o processo imunológico é direcionado principalmente para os antígenos dessa camada (Bahn, Meyer *et al.* 1982).

Um estudo recente determinou o resultado clínico do transplante de córnea no tratamento de sequestro corneano felino em 13 gatos. Foi realizada queratoplastia lamelar e penetrante (esta última apenas em um caso). Foram usados transplantes homólogos frescos, homólogos congelados e heterólogos congelados. Apesar de não haver diferenças nas taxas de rejeição entre enxertos homólogos frescos e homólogos congelados, este dado não é conclusivo devido ao número reduzido de casos. Apenas existiu uma recorrência durante o período de acompanhamento dos animais e algumas complicações pós-cirúrgicas nomeadamente a formação difusa de pigmento epitelial e malácia do enxerto. No entanto, um bom resultado visual foi alcançado em todos os olhos em que a maioria teve uma opacidade corneana suave, concluindo assim que a queratoplastia foi um tratamento cirúrgico efetivo para a doença em que o tecido dador não só forneceu suporte tectónico como também um bom resultado visual e estético (Laguna, Leiva *et al.* 2015).

Biomateriais

Os biomateriais são alternativas experimentais ou comercialmente disponíveis cujos objetivos são fornecer clareza visual, suporte e adesão à migração epitelial, permeabilidade aos solutos e estabilidade às proteases da córnea durante a sua cicatrização (Featherstone, Sansom *et al.* 2001, Gelatt e Brooks 2011). Já foi descrito o seu uso em sequestros de córnea felino, nomeadamente submucosa intestinal suína (SIS), membrana amniótica equina, pericárdio bovino e bexiga porcina (Featherstone, Sansom *et al.* 2001, Barachetti, Giudice *et al.* 2010, Dulaurent, Azoulay *et al.* 2014, Balland, Poinard *et al.* 2016).

A SIS consiste numa porção trilaminar do intestino delgado que inclui o estrato compacto da túnica mucosa, a túnica muscular da mucosa e a túnica submucosa (Badylak 1993). É biodegradável, acelular, xenogénica e não imunogénica e por isso a sua rejeição não tem sido uma complicação, provavelmente porque as moléculas de colagénio estão estruturalmente conservadas entre espécies (Featherstone, Sansom *et al.* 2001). Consiste então principalmente por colagénio (tipos I, III e VI), glicosaminoglicanos (ácido hialurónico, sulfato de condroitina A e B, heparina e sulfato de heparina) e outras glicoproteínas (fibronectina) bem como fatores de crescimento (Gelatt e Brooks 2011). Existem três etapas importantes na integração da SIS e na cicatrização da córnea, nomeadamente neovascularização, proliferação do tecido epitelial e estromal e remodelação da matriz extracelular para produzir transparência e preservar a integridade da córnea. A vascularização pode já estar presente ou ser induzida pela cirurgia e ampliada durante a integração da SIS devido à estimulação por fatores de crescimento presentes quer na SIS quer na córnea. A SIS fornece uma matriz de proteína biocompatível que inicialmente é invadida por fibroblastos mas posteriormente são substituídos por células do estroma promovendo a cicatrização da córnea e a sua transparência (Vanore, Chahory *et al.* 2007). É ainda porosa e, por isso, permite a absorção de fármacos oftalmológicos tópicos, no entanto pode não fornecer suporte suficiente em defeitos maiores de córnea se outras medidas adicionais não forem tomadas como, por exemplo, um flap de terceira pálpebra (Featherstone, Sansom *et al.* 2001, Gouille 2012).

Este biomaterial tem como vantagens ser pouco dispendioso, facilmente disponível, tecnicamente objetivo e estéril eliminando assim o risco de transmissão de doenças infecciosas (Featherstone, Sansom *et al.* 2001, Bussieres, Krohne *et al.* 2004)

Featherstone, Sansom *et al.* (2001) utilizaram SIS no sequestro de córnea felino. Apesar da presença de uma coloração acastanhada após o tratamento em alguns casos, sugerindo que o biomaterial absorveu o mesmo pigmento responsável pela doença,

afirmaram que todos os casos obtiveram um bom resultado estético e visual a longo prazo com um eixo visual bastante claro e uma cicatriz mínima.

Goulle (2012) fez um estudo retrospectivo em que avaliou a eficácia da SIS na cirurgia reconstrutiva da córnea em cães e gatos (a maioria possuía sequestro de córnea) e adicionalmente realizou flap de terceira pálpebra. O autor defendeu que o flap de terceira pálpebra iria ajudar a proteger o biomaterial, mantendo-o hidratado embora evitasse a visualização do seu progresso. Ao fim de três meses de acompanhamento médico, 4,7% dos casos felinos apresentaram uma pigmentação estromal ligeira e diagnosticaram como início de formação de sequestro. Apesar disto, concluíram que a técnica permite a preservação da visão, restaurando a transparência da córnea na maioria dos casos e que, por isso, a SIS é um biomaterial eficiente para uso na cirurgia de reconstrução de córnea.

O uso de membrana amniótica equina já foi avaliado num estudo piloto no tratamento de sequestro de córnea felino. Embora tenham verificado a epitelização rápida da membrana amniótica e após invasão fibrovascular as córneas apresentarem boa transparência sem recorrência do sequestro durante os períodos de acompanhamento, concluíram que a seleção dos gatos era importante e que a membrana amniótica não deveria ser utilizada naqueles cujo sequestro era profundo e não havia vascularização, uma vez que, em dois dos sete casos, ocorreram efeitos adversos, nomeadamente necrose da membrana amniótica e perfuração de córnea (Barachetti, Giudice *et al.* 2010).

Dulaurent, Azoulay *et al.* (2014) utilizaram pericárdio de bovino (Tutopatch®) no tratamento de sequestro de córnea em três gatos. Os resultados demonstraram que as fases de cicatrização da córnea com este biomaterial eram muito semelhantes com as descritas utilizando SIS. Apesar de terem afirmado que a queratectomia associada ao pericárdio bovino forneceu um tratamento efetivo no sequestro resultando em olhos visuais sem recorrência, o número de casos e o período de acompanhamento não permitiram conclusões definitivas acerca do assunto.

Vários estudos já foram feitos utilizando matriz de bexiga urinária (MBU) em gatos com sequestro de córnea (Zigler 2003, Balland, Poinard *et al.* 2016, Chow e Westermeyer 2016). A avaliação do processo de cicatrização deste biomaterial é muito semelhante com os descritos anteriormente com SIS e pericárdio de bovino (Balland, Poinard *et al.* 2016). Balland, Poinard *et al.* (2016) obtiveram uma integração completa desta matriz acelular em 100% dos casos com sequestro de córnea felino e sem recorrências durante o período de acompanhamento. Chow e Westermeyer (2016) avaliaram o uso de MBU relativamente a possíveis complicações e transparência do tecido na córnea em gatos, concluindo que este biomaterial poderia ser usado de forma única para a reconstrução de defeitos de córnea praticamente de qualquer tamanho e profundidade e que resultava em excelente

transparência corneana e taxa de complicações semelhantes a outras técnicas com biomateriais descritas anteriormente.

2. Objetivo

O objetivo deste estudo retrospectivo foi avaliar a eficácia, prognóstico e complicações de queratectomia lamelar e transposição corneconjuntival para o tratamento cirúrgico de sequestro corneano em gatos comparando com a literatura referente ao tema.

3. Material e Métodos

Dados clínicos

Os registos médicos de gatos com sequestro de córnea que foram tratados com queratectomia lamelar seguida de transposição corneconjuntival entre 2013 e 2017 no Hospital Veterinário Central da linha de Cascais – VetOeiras, foram fornecidos atenciosamente pela Dr.^a Cristina Seruca. Um dos gatos foi excluído do presente estudo pois não cumpria os parâmetros necessários que avaliavam as técnicas cirúrgicas sugeridas.

Os dados obtidos em cada caso incluem: raça, idade, género, sintomas clínicos oculares e informação sobre o sequestro (olho afetado, localização, tamanho e duração). A presença de doenças, potencialmente relacionadas com a formação de sequestro, também foram relatadas (como por exemplo entrópion, suspeita de herpesvírus felino-1).

Relativamente à TCC como tratamento da doença, foi observado o tempo de cicatrização, a taxa de recorrência, evidência de cicatriz e sua classificação (nenhuma, ligeira, moderada e acentuada), complicações pós cirúrgicas e tempo de acompanhamento.

O tempo de cicatrização foi definido como o número de dias desde a cirurgia até à epitelização completa da córnea (teste de fluoresceína negativo).

Protocolo anestésico e preparação pré-cirúrgica

O protocolo anestésico foi escolhido dependendo do animal tendo em conta a anamnese, os dados clínicos, o exame físico geral e exames complementares incluindo, em todos os casos, hemograma e bioquímica sérica. Todos os gatos foram pré-medicados com um sedativo (medetomidina) e um opióide (buprenorfina ou metadona) a nível intramuscular (IM) e um anti-inflamatório não esteróide (robenacoxib ou meloxicam) a nível subcutâneo (SC). A anestesia geral foi induzida com propofol e diazepam intravenoso (IV), apenas propofol ou alfaxolona IV e mantida com isoflurano ou sevoflurano inalatório. Após a indução, foi administrada uma dose de 22 mg/kg/IV de cefazolina a todos os animais.

O olho e os tecidos perioculares foram preparados assepticamente para a cirurgia com iodopovidona diluída em solução salina estéril (1/50). Antes de se iniciar o ato cirúrgico e de forma a centralizar o globo ocular, foi administrada 0,1-0,2 mg/kg de atracurium IV (bloqueante neuro-muscular), após a qual se manteve respiração assistida com ventilador automático. Durante todo o procedimento cirúrgico manteve-se fluidoterapia IV (lactato de

ringer na dose de 3-5ml/kg/hora). Os parâmetros vitais (frequência cardíaca e respiratória, pulsioximetria, capnografia, e pressão arterial sistólica) foram avaliados durante todo o procedimento anestésico.

Procedimento cirúrgico

As cirurgias foram realizadas com o auxílio de um microscópio ótico cirúrgico (Zeiss Opmi CS/S4 Microscope®) e com o animal posicionado em decúbito dorsal. Primeiramente realizou-se uma queratectomia lamelar média ou profunda (dependendo da profundidade do sequestro) e em forma de quadrado ou retangular (dependendo do formato do sequestro, circular ou oval, respetivamente) com um queratôto (Ophtalmic crescent knife®, Alcon, USA), de forma a remover a totalidade do sequestro (fig. 3.1). Após a excisão do sequestro, realizou-se a transposição corneocconjuntival para dar suporte tectónico ao defeito corneano resultante da queratectomia. A transposição corneocconjuntival foi suturada com poliglactina 910 (Vicryl®) de calibre 9/0 ou ácido poliglicólico (PGA®) de calibre 9/0, com 4 pontos cardinais (um em cada extremo distal do retalho e um a cada lado do limite córneo-conjuntival do retalho) seguidos de sutura simples contínua feita em 4 secções (ver fig. 3.2). As técnicas cirúrgicas de *Celsus-Hotz* modificada e/ou cantoplastia lateral foram realizadas sempre que existiam entrópion e macroblefaro respetivamente.

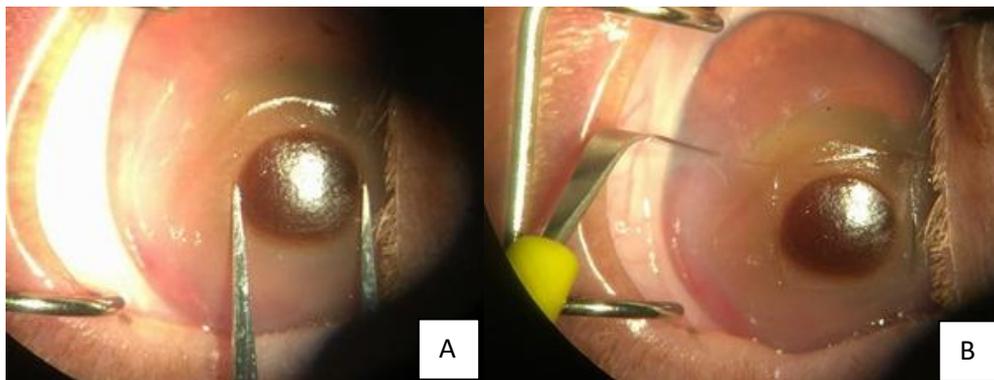


Figura 3.1 Procedimentos cirúrgicos; (A) medição do diâmetro do sequestro com um compasso *castroviejo*; (B) delineamento em forma de quadrado com o queratôto para posterior queratectomia; Fotografias gentilmente cedidas por Dr.^a Cristina Seruca

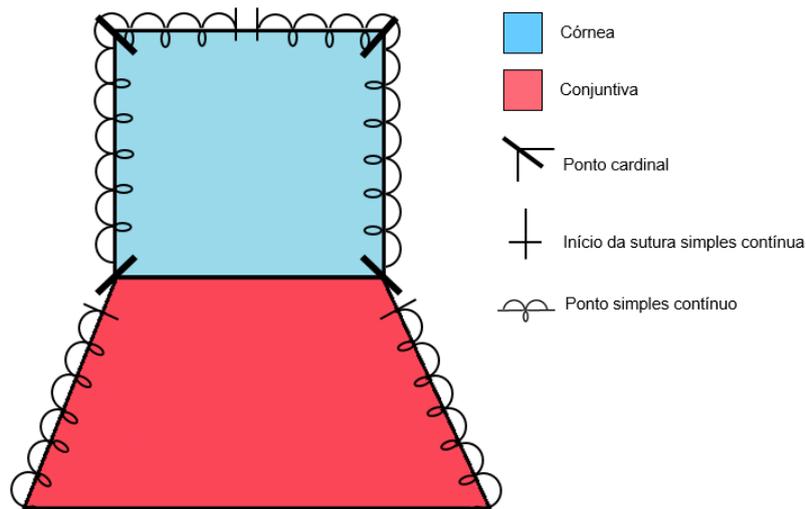


Figura 3.2 Sutura da transposição corneocconjuntival com 4 pontos cardinais seguidos de sutura simples contínua feita em 4 secções

Tratamento pós-cirúrgico

Todos os animais utilizaram colar isabelino após a cirurgia para evitar o auto traumatismo. O tratamento médico recomendado baseou-se no uso de antibióticos de largo espectro tópicos (oxitetraciclina, cloranfenicol, ácido fusídico ou antibiótico triplo [neomicina, polimixina e gramicidina]) e, em caso de inflamação corneana moderada a marcada, orais (doxiciclina) e anti-inflamatórios não esteroides tópicos (flurbiprofeno ou diclofenac) e/ou orais (robenacoxib). Nos casos com sinais de dor ocular (blefarospasmo, lacrimejo e fotofobia) foi recomendado um cicloplégico tópico (ciclopentolato). Nos casos diagnosticados clinicamente com queratite por herpes vírus felino tipo 1 foi aplicado antivírico tópico (ganciclovir) ou oral (famciclovir). As consultas de revisão pós-cirúrgicas realizaram-se idealmente ao fim de 1 semana, 3 semanas e 5 semanas, dependendo posteriormente da evolução clínica e disponibilidade dos donos. Após a epitelização completa da córnea foi recomendado, nos casos com neovascularização e edema de córnea perilesional moderada a marcado, a aplicação de corticosteroide tópico (acetato de prednisolona).

4. Resultados

Dados clínicos

O estudo incluiu 11 gatos dos quais 4 eram gatos persas (4/11; 36,4%), 1 gato cruzado de persa e siamês (1/11; 9,1%), 1 gato cruzado Bosques da Noruega (1/11; 9,1%) e 5 gatos Europeus comuns (5/11; 45,5%). Destes, 5 eram gatos machos (4 inteiros e 1 esterilizado) e 6 eram fêmeas (2 inteiras e 4 esterilizadas). A idade média dos animais em que foi diagnosticada a doença foi de $7,2 \pm 4,4$ anos variando entre 8 meses e 15 anos (tabela 2).

Todos os gatos (11/11; 100%) apresentaram uma área focal da córnea com descoloração variável entre âmbar a preto, rodeada por uma margem ulcerativa. Outros sinais clínicos incluíram enoftalmia (1/11; 9,1%); epífora (3/11; 27,3%); hiperémia conjuntival (6/11; 54,5%); blefarospasmo moderado (3/11; 27,3%) a marcado (1/11; 9,1%); edema de córnea; (5/11; 45,5%); fibrose (1/1; 9,1%) de córnea perilesional; neovascularização (7/11; 63,6%) que variou quanto à localização em perilímbica (2/11; 18,2%), corneana periférica (2/11; 18,2%) e perilesional (5/11; 45,5%), e à profundidade em estromal anterior (3/11; 27,3%), média (4/11; 36,4%) ou profunda (1/11; 9,1%); uveíte anterior reflexa (1/11; 9,1%).

Um dos casos apresentava microperfuração corneana associada ao sequestro (1/11; 9,1%).

O sequestro de córnea afetou um olho de cada animal em 10 casos (10/11; 90,9%), nomeadamente 7 olhos esquerdos (OS) (7/10; 70%) e 3 olhos direitos (OD) (3/10; 30%). Um dos casos apresentava sequestro bilateral sendo que, num dos olhos o tratamento elegido foi a execução de queratectomia lamelar e TCC e noutra foi queratoplastia lamelar homóloga, não sendo este último incluído no presente estudo.

A localização do sequestro variou entre zona axial (6/11; 54,5%) ou para-axial (5/11; 45,5%), cujo diâmetro variou entre 2 e 5 mm e a duração média do sequestro segundo a anamnese foi aproximadamente 4 semanas. A tabela 3 revela a informação sobre as características do sequestro de córnea em cada caso.

O diagnóstico etiológico do sequestro incluiu entrópion (5/11; 45,5%), macroblefaro (2/11; 16,7%), queratite ulcerativa (3/11; 27,3%) e herpesvírus felino-1 (5/11; 45,5%)

Durante o processo de cicatrização detetou-se neovascularização periférica ou da porção corneana do flap (8/9; 88,9%), edema de córnea (7/9; 77,8%) e hiperémia conjuntival (5/9; 55,6%), que reduziram significativamente (6/9; 66,7%) ou desapareceram por completo

(3/9; 33,3%) durante o tempo de cicatrização e acompanhamento. O tempo de cicatrização foi em média 15 dias, variando num período mínimo de 7 e máximo de 29 dias.

A evidência de cicatriz foi avaliada segundo a opacidade da transposição corneconjuntival em nenhuma (2/9; 22,2%), ligeira (4/9; 44,4%), ligeira a moderada (1/9; 11,1%) e moderada (2/9; 22,2%). Nenhum gato foi classificado com evidência de cicatriz acentuada. A classificação ocorreu de acordo com a última consulta de acompanhamento dos gatos.

Não se detetaram recorrências de sequestro até final do período incluído no estudo, já que nenhum animal foi diagnosticado com sequestro corneano durante os períodos de acompanhamento.

No caso 3 detetou-se uma ligeira descoloração âmbar na zona corneana da transposição ao fim de 4 dias. Ao realizar o teste de fluoresceína foi positivo na fronteira central da porção corneana da transposição. Colocou-se uma lente de contacto para melhorar o conforto ocular e manteve-se a ofloxacina tópica (uma gota no olho afetado [OD] 3 vezes por dia) durante 13 dias consecutivos. Ao fim de 17 dias após a cirurgia, a descoloração âmbar localizava-se apenas numa das margens da zona corneana da transposição. Apesar do edema na zona corneana da transposição e a neovascularização em toda a espessura do flap, o teste de fluoresceína foi negativo.

No caso 5, apesar do diagnóstico etiológico de infeção por herpes vírus felino, o tutor recusou inicialmente a administração de antivírico tópico ou oral. Verificou-se deiscência da porção corneana do flap corneconjuntival, neovascularização perilesional estromal anterior marcada e blefarospasmo ao fim de 14 dias, como resultado do processo inflamatório associado causada pela infeção viral. Neste caso cortou-se a porção corneana do flap conjuntival pela base (no limbo), reforçou-se a antibioterapia e receitou-se famciclovir (Famvir 125mg ®) 40mg/kg por via oral, a cada 8 horas durante 11 dias consecutivos. Após 2 dias de tratamento tinha-se confirmado a estabilidade do flap conjuntival e correta cicatrização corneana. No entanto, o teste de fluoresceína revelou uma úlcera com 2x3 mm de diâmetro adjacente ao flap conjuntival a nível ventral. Ao fim de 25 dias após a cirurgia verificou-se a correta cicatrização da porção conjuntival do flap e teste de fluoresceína negativo confirmando a epitelização completa da córnea. Cinquenta e três dias após a cirurgia o caso 5 teve alta oftalmológica, verificando a integração perfeita do flap conjuntival na córnea e ligeira névoa e neovascularização da zona corneana correspondente à queratectomia. Foi receitado durante 1 mês nepafenac em colírio (1 gota no olho afetado [OS] 1-2 vezes por dia).

O período de acompanhamento dos casos variou entre 15 e 1229 dias. Na tabela 4 encontram-se os resultados pós-cirúrgicos relativamente à TCC.

As figuras 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4 representam os resultados de alguns casos clínicos que realizaram queratectomia seguida de TCC e encontram-se no final deste capítulo.

Procedimento cirúrgico

Durante o período anestésico, todos os gatos se mantiveram estáveis, com os parâmetros fisiológicos normais. Em todos os casos, o sequestro foi submetido a ressecção completa por queratectomia que envolvia pelo menos dois terços da espessura total da córnea. Na maioria dos casos a transposição corneconjuntival foi suturada com 9/0 Vicryl® (6/11; 54,5%), e em 5 com 9/0 PGA® (5/11; 45,5%).

Após a correção cirúrgica do sequestro foram realizadas técnicas de correção palpebral em 5 casos (5/11; 45,5%) para a resolução de entrópion e de macroblefaro. Dois dos casos incluídos no estudo já tinham sido submetidos a tratamento cirúrgico prévio (queratectomia) mas o sequestro recidivou posteriormente. No caso 9, o olho afetado já tinha sido alvo de uma queratectomia superficial 1 mês antes do tratamento com TCC. Este mesmo caso já tinha sido submetido a queratoplastia lamelar homóloga do olho contralateral como tratamento cirúrgico de um sequestro axial profundo. No caso 11 o olho afetado tinha sido sujeito a uma queratectomia superficial 2 meses antes do tratamento com TCC.

Tratamento pós-cirúrgico

Após as cirurgias, o tratamento médico foi imediatamente instituído. Foram administrados a todos os olhos antibióticos tópicos: ácido fusídico (2/11; 18,2%) 1 gota 2 vezes por dia no olho afetado, ofloxacina (6/11; 54,5%) 1 gota 4-6 vezes por dia, oxitetraciclina (3/11; 27,3%) 1 gota 3 vezes por dia, cloranfenicol (3/11; 27,3%) 1 gota 3-4 vezes por dia e antibiótico triplo [neomicina, polimixina e gramicidina] (1/11; 9,1%) 1 gota 4 vezes por dia, até à cicatrização completa da transposição. Foi administrado tratamento com antibiótico sistémico em 6 animais: doxiciclina 5mg/kg (6/11; 54,5%). Em cinco casos (5/11; 45,5%) foi administrado anti-inflamatório não esteroide tópico nomeadamente flurbiprofeno (3/11; 27,3%) 1 gota no olho afetado 3 vezes por dia e diclofenac (2/11; 18,2%) 1 gota no olho afetado 2 vezes por dia até à resolução dos sinais de inflamação da córnea. Em 8 casos (8/11; 72,7%) foi receitado anti-inflamatório sistémico, robenacoxib 1-2,4mg/kg por via sistémica durante uma média de 4 dias consecutivos. Foi administrado em 5 olhos (5/11; 45,5%) cloridrato de ciclopentolato, um cicloplégico e midriático, 1 gota no olho afetado 2 vezes por dia durante uma média de 6 dias. Em 3 casos foi recomendado o uso de um antivírico: famciclovir 40 mg/kg por via oral (2/11; 18,2%) durante uma média de 13

dias e ganciclovir (1/11; 9,1%) por via tópica 4-6 gotas por dia nos dois olhos durante 13 dias. Após a epitelização completa foi aplicado topicamente a 5 gatos (5/9; 55,6%) acetato de prednisolona 1-3 gotas por dia no olho afetado até diminuição da opacidade da córnea.

Tabela 2 Caracterização dos animais. E. comum: Europeu comum; M: Macho; Me: Macho esterilizado; F: Fêmea; Fe: Fêmea esterilizada; A: Anos

Nº caso	Raça	Idade (A)	Género
1	Persa	0,7	M
2	x Bosques da Noruega	10	M
3	E. comum	13	Fe
4	E. comum	8	Fe
5	E. comum	8	Fe
6	E.comum	10	M
7	E. comum	15	F
8	Persa x Siamês	4	Me
9	Persa	2	F
10	Persa	4	M
11	Persa	4	Fe

Tabela 3 Caracterização do sequestro. OS: olho esquerdo; OD: olho direito

Nº caso	Olho afetado	Localização	Diâmetro (mm)	Duração (mês)
1	OS	Para-axial	5	-
2	OD	Para-axial infralateral	4	0,25
3	OD	Para-axial ventral	5	1,5
4	OS	Axial	4	0,75
5	OS	Axial	4	-
6	OS	Axial	5	-
7	OS	Para-axial dorsolateral	4	-
8	OD	Axial	4	-
9	OS*	Axial	3	1
10	OS	Axial	5	-
11	OS	Para-axial dorsal	2	-

* Olho afetado sujeito a TCC no entanto o olho contralateral já teve a doença

Tabela 4 Resultados pós-cirúrgicos

Nº Caso	Tempo de cicatrização (dias)	Evidência de cicatriz	Tempo de acompanhamento (dias)	Complicações
1	9	Nenhuma	698	-
2	7	Nenhuma	1229	-
3	17	Moderada	17	Presença de coloração âmbar
4	15	Ligeira	34	-
5	25	Ligeira	442	Deiscência do flap
6	-	-	-	-
7	19	Ligeira a moderada	22	-
8	8	Ligeira	20	-
9	-	-	-	-
10	7	Ligeira	15	-
11	29	Moderada	61	-

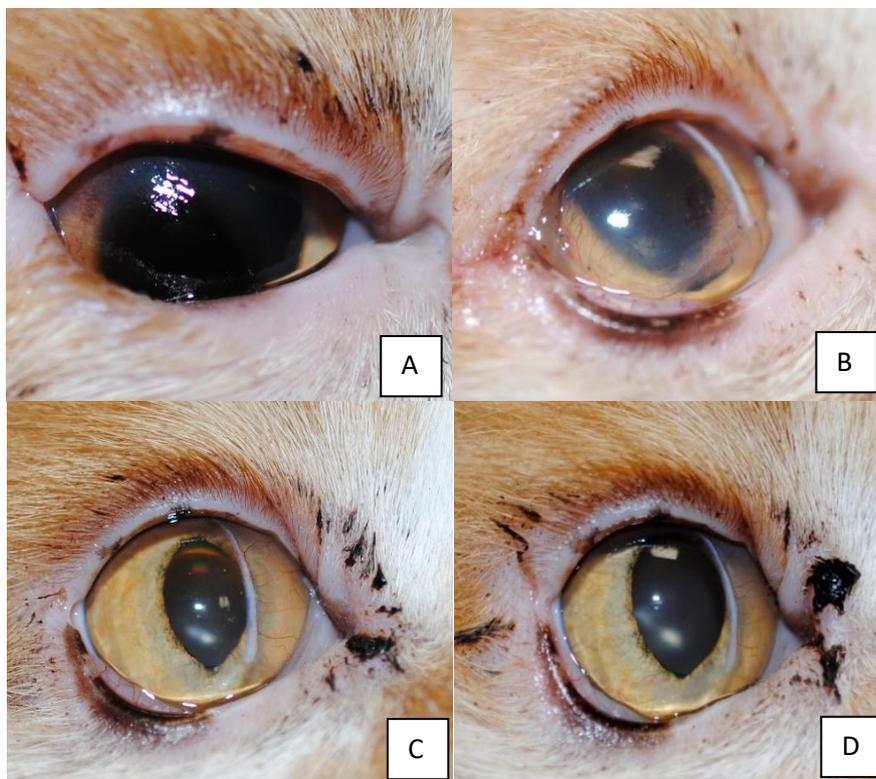


Figura 4.1 Resultado de caso: (A) Sequestro de córnea para-axial infralateral e entrópion da pálpebra inferior; (B) Aparência da córnea 15 dias após tratamento cirúrgico com TCC; (C) Aparência da córnea 3 meses após cirurgia (D) Aparência da córnea (total transparência da porção corneana) 3 anos após cirurgia. Fotos gentilmente cedidas por Dr.^a Cristina Seruca



Figura 4.2 Resultado de caso: (A) Encerramento das pálpebras representando desconforto ocular; (B) entrópion da pálpebra inferior; (C) Protusão da 3ª pálpebra, macroblefaro e sequestro de córnea; (D) Aparência da córnea dois meses após tratamento com TCC seguida de queratectomia. Fotos gentilmente cedidas por Dr.^a Cristina Seruca.

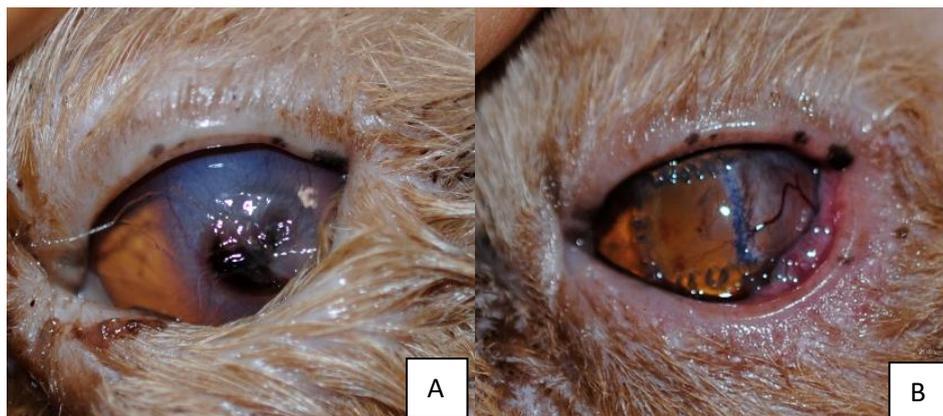


Figura 4.3 Resultado de caso: (A) Sequestro de córnea, edema e neovascularização perilesional e entrópion da pálpebra inferior; (B) Aparência da córnea 15 dias após TCC. Fotos gentilmente cedidas por Dr.^a Cristina Seruca.

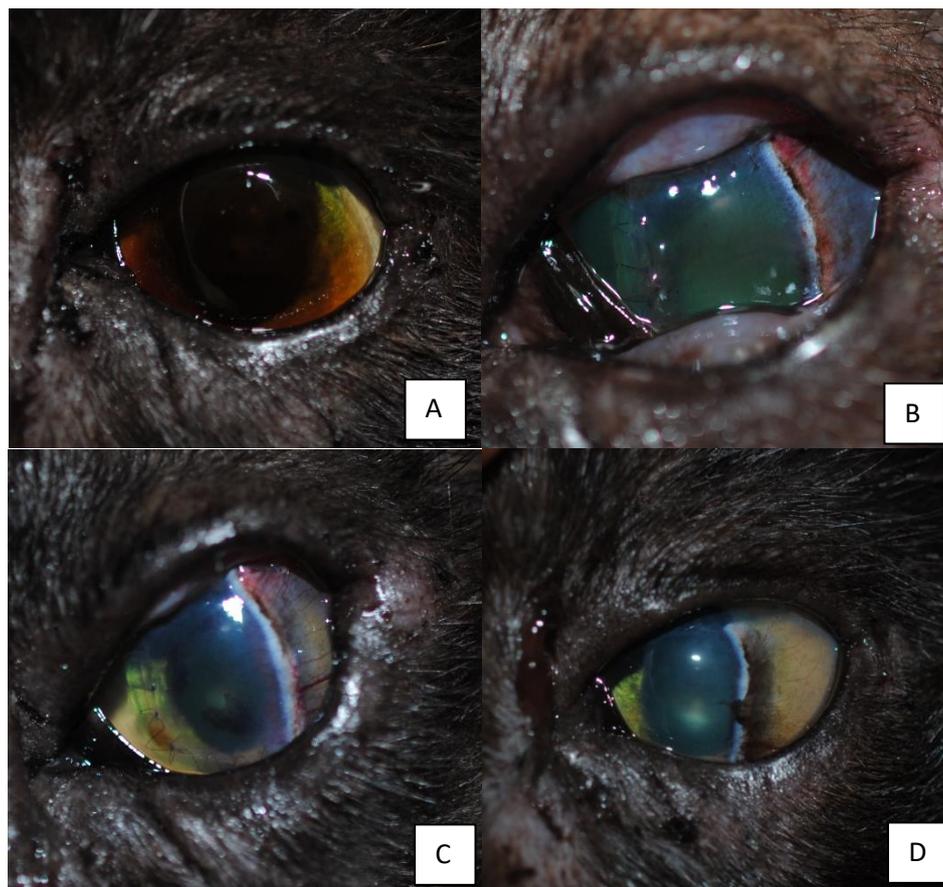


Figura 4.4 Resultado de caso: (A) Sequestro de córnea; (B) Aparência da córnea 2 dias após cirurgia com TCC; (C) Aparência da córnea 15 dias após TCC; (D) Aparência da córnea 4 meses e meio após cirurgia com TCC. Fotos gentilmente cedidas por Dr.^a Cristina Seruca.

5. Discussão

O sequestro de córnea ocorre principalmente em raças puras sendo o gato persa mais afetado (Featherstone e Sansom 2004). Neste estudo, a raça pura predominante foi o gato persa, semelhante a outros estudos. No entanto, o número de gatos europeus comuns foi maior ao número de gatos persa. O número reduzido de casos e a predominância da população de gatos europeus comuns pode justificar tal fato.

Outros estudos afirmam não haver predisposição sexual e atingir qualquer idade (excluindo neonatos) (Startup 1988, Andrew, Tou *et al.* 2001). No estudo de Graham, White *et al.* (2017) a idade média apresentada pelos gatos foi 6,8 anos, variando entre 8 meses e 18 anos. No nosso estudo verificou-se uma variação semelhante, já que o animal mais jovem tinha 8 meses e o mais velho 15 anos e a média foi 7,2 anos.

A maioria dos sinais clínicos inclui desconforto ocular, epífora, úlcera de córnea e vascularização, o que também se verificou no estudo (Featherstone e Sansom 2004). Para Featherstone e Sansom (2004), o comportamento inconsistente da vascularização é uma característica do sequestro de córnea e não é comum uma vez que na maioria das espécies uma resposta típica à irritação crônica da córnea é a vascularização progressiva. Nem todos os gatos apresentaram neovascularização no nosso estudo e, para além disso, dos animais cuja cronicidade do sequestro foi avaliada, não havia relação entre a progressividade da neovascularização com maior duração da lesão, indo ao encontro do autor referido anteriormente e concordando com o comportamento inconsistente dos vasos sanguíneos na córnea. Apesar de geralmente as estruturas intraoculares não serem afetadas, no caso 2 foi observado uveíte anterior reflexa associada ao sequestro, já que a uveíte pode manifestar-se secundariamente a úlceras de córnea, embora não sejam a causa mais frequente (Dalla, Pisoni *et al.* 2007, Shukla e Pinard 2012). Raramente ocorre perfuração da córnea, porém, o sequestro pode progredir e estender-se à membrana de Descemet (Andrew, Tou *et al.* 2001, Featherstone e Sansom 2004). Verificou-se no caso 6 uma microperfuração da córnea devido ao envolvimento do sequestro em toda a espessura da camada do estroma.

O sequestro apresenta-se frequentemente unilateral embora também já tenha sido relatado bilateral (Andrew, Tou *et al.* 2001). A maioria dos casos apresentou um sequestro unilateral. Apenas um caso teve envolvimento dos dois olhos embora em períodos diferentes e, tal como afirmado por Dubielzig, Ketring *et al.* (2010) cuja probabilidade dos dois olhos estarem envolvidos pela doença ocorrer mais em gatos persa, também isto é concordante com o nosso estudo uma vez que se sucedeu num gato persa.

O tamanho dos sequestros variou entre 2 mm e 5 mm de diâmetro, apesar de Gelatt (2014) afirmar que estes podem atingir mais de metade da superfície da córnea.

Fatores que provocam irritação da córnea devem ser tratados de forma a prevenir queratite secundária e formação de sequestro (Andrew, Tou *et al.* 2001). Por isso, todos os gatos diagnosticados concomitantemente com entrópion e macroblefaro foram submetidos a técnicas cirúrgicas complementares, de forma a corrigir a conformação palpebral e evitar a recorrência do sequestro. Gatos com diagnóstico clínico de herpes vírus foram tratados medicamente.

A infecção por herpes vírus tipo 1 é ubiqüitária na população de gatos domésticos em todo o mundo (Andrew 2001). O teste definitivo mais usado que diagnostica a sua presença é o PCR (Stiles 2014). Apesar da alta especificidade e sensibilidade, um teste positivo demonstra que o gato foi infetado nalgum momento da sua vida mas não prova que ocorre uma infecção viral ativa durante a colheita de amostras e conseqüentemente não prova que o vírus causa os sinais clínicos apresentados (Lutz, Leutenegger *et al.* 1999, Stiles 2014). Desta forma, não foram feitos testes definitivos para detetar FHV-1 neste estudo. Porém, a história clínica progressiva de episódios recorrentes de conjuntivite ou úlceras de córnea, acompanhadas por espirros, a presença destes sinais, associados a um fator de stress relatado pelos proprietários e ainda a administração empírica de fármacos antivíricos e resposta favorável permitiu fazer um diagnóstico presuntivo.

As revisões pós-cirúrgicas foram necessárias para avaliar a evolução da cicatrização e transparência da córnea, detetar e atuar no imediato caso surgissem complicações cirúrgicas bem como reajustar a medicação recomendada. Em dois casos não houve revisões e por falta de comparência dos proprietários não foi possível avaliar a evolução da cicatrização.

O tempo de cicatrização médio foi de 15 dias (7-29). O estudo feito por Laguna, Leiva *et al.* (2015), obteve um tempo de cicatrização médio de 19,2 dias (6-50). O tempo de cicatrização foi definido da mesma forma que no nosso estudo, podemos verificar que a cicatrização foi mais demorada, no entanto utilizaram transplantes de córnea. A rejeição é uma das principais complicações do sequestro corneano felino tratado com transplante, algo que não se verifica quando a doença é tratada com TCC (Laguna, Leiva *et al.* 2015). De forma a evitar esta complicação, o tratamento tópico pós-cirúrgico nos transplantes engloba fármacos imunossupressores como os corticosteroides. Embora os corticosteroides sejam úteis na redução da cicatriz da córnea (ao inibir a formação de colagénio e a atividade fibroblástica), podem ser prejudiciais na cicatrização das lesões de córnea ao retardar a regeneração e reparação das células epiteliais e endoteliais, por isso só quando o teste de fluoresceína foi negativo, confirmando a epitelização total da córnea, é que foi administrado

acetato de prednisolona nos casos incluídos no presente estudo (Maggs, Miller *et al.* 2013). No estudo de Andrew, Tou *et al.* (2001), o tempo de cicatrização médio foi de 34 dias (25-86), maior do que no nosso estudo, uma vez que o tempo de cicatrização foi definido pelo número de dias desde a cirurgia até à remoção ou dissolução de suturas e descontinuação da terapia médica (no nosso estudo foi definido quando o teste de fluoresceína era negativo indicando epitelização completa da córnea). O estudo feito por Graham, White *et al.* (2017) não avaliou o tempo de cicatrização.

Apesar de o tempo de cicatrização ser definido quando ocorreu a epitelização completa da córnea, sabe-se que a camada estroma demora mais tempo para ser regenerada, já que a reposição do estroma requer síntese e remodelação de colagénio e proteoglicanos. O arranjo das novas fibrilhas de colagénio e lamelas pode estar inicialmente desorganizado de tal forma que resulta em opacidade ou cicatriz da córnea. Para além disso, a vascularização que é uma resposta não específica de lesão da córnea ou inflamação pode alterar a arquitetura corneana resultando também em opacificação e visão reduzida. Ao longo do tempo a celularidade da córnea diminui e as células e fibrilhas reorientam-se de maneira semelhante à estrutura normal (Gelatt, Gilger *et al.* 2013, Gelatt 2014). Isto pode explicar os vários graus de classificação da opacidade da córnea nos diferentes casos uma vez que o tempo de acompanhamento foi diferente em todos eles. Verificou-se então que nos casos em que o tempo de acompanhamento foi menor a opacidade da córnea era maior. Para avaliar este parâmetro de forma mais precisa seria necessário um acompanhamento mais prolongado no tempo para confirmar a cicatrização do estroma e averiguar a total transparência da córnea na porção corneana do flap corneconjuntival.

Os estudos anteriores que utilizaram a TCC como tratamento de sequestro corneano não relataram complicações pós-cirúrgicas. No nosso estudo houve um caso de deiscência da porção corneana do flap corneconjuntival. A causa provável para tal acontecimento foi a progressão de uma infeção causada por herpesvírus à qual o proprietário recusou de início o seu tratamento. O processo inflamatório progressivamente marcado provocou deiscência da porção corneana do flap e só se verificou a sua estabilidade após um corte pela base (limbo) do flap e administração de um antivírico (famciclovir).

A presença de uma coloração âmbar após cirurgia ocorreu num caso, mas o tratamento contínuo levou ao seu desaparecimento.

O ciclopentolato é um fármaco anticolinérgico que induz paralisia do esfíncter pupilar e do músculo ciliar fornecendo midríase e cicloplegia. O efeito cicloplégico é usado no controlo da dor ocular provocado por espasmos do músculo ciliar que são induzidos pela inflamação intraocular ou da córnea. A escolha deste agente baseou-se nos efeitos desejados (midríase e cicloplegia potente), tempo até à máxima dilatação (no gato ao fim de 30 minutos) e

duração de ação (66h) e ausência de efeitos adversos como redução da produção de lágrima e salivação excessiva (comunicação pessoal), que ocorrem com aplicação de atropina, outro midriático e ciclopérgico potente. A redução substancial na produção de lágrima é um efeito secundário da atropina que deve ser considerado, uma vez que, apesar de não ter sido verificada queratoconjuntivite seca em nenhum dos gatos, a diminuição da produção de lágrima leva a uma dessecação da córnea expondo-a facilmente a agressões e alterando a capacidade de cicatrização da córnea (Maggs, Miller et al. 2013, Gelatt 2014, Costa, Leiva et al. 2016). Um estudo elaborado por Costa, Leiva *et al.* (2016) avaliou o efeito tópico do cloridrato de ciclopentolato na produção de lágrima em cães Beagle e concluiu que este fármaco não causa efeitos indesejados na produção de lágrima, já que não houve diferenças significativas na produção de lágrima ao longo do tempo entre os olhos tratados e não tratados. Estudos semelhantes relativamente ao olho do gato deveriam ser feitos pois seria interessante perceber se há diferenças significativas entre espécies.

Não houve recorrências neste estudo pois nenhum gato se apresentou no hospital com sequestro, ou seja, com manifestação clínica de uma descoloração da córnea entre âmbar a preto depois do tratamento feito com TCC durante o período de seguimento que variou de 15 a 1229 dias. Como nem todos os gatos foram avaliados a longo prazo, afirmar que a taxa de recorrência neste estudo é nula torna-se bastante limitada. Nenhuma recorrência foi relatada no estudo feito por Andrew, Tou *et al.* (2001) em 17 olhos submetidos a queratectomia seguida de TCC. Os sequestros de córnea nesse estudo só afetavam um terço ou metade da camada do estroma. No nosso estudo os sequestros eram todos médios ou profundos (pelo menos metade da camada do estroma era afetada), incluindo um caso que afetou toda a espessura do estroma provocando uma microperfuração. O estudo feito por Graham, White *et al.* (2017) demonstrou, tal como no nosso, o sucesso deste tratamento em sequestros que afetavam toda a espessura da córnea, mas, ao contrário da taxa de recorrência apresentada no estudo de Andrew, Tou *et al.* (2001), Graham, White *et al.* (2017) obtiveram uma taxa de recorrência de 8,3%. Em concordância com o que estes autores afirmaram, a diferença das taxas pode ser justificada pela diferença do número de casos e pela envolvimento da espessura da córnea.

Muitos dos animais que foram tratados no VetOeiras foram referenciados por outras clínicas/hospitais de tal modo que o tempo de acompanhamento foi bastante variável, já que, após se verificar a cicatrização e estabilidade do olho, os gatos eram acompanhados pelas clínicas/hospitais que os seguiam anteriormente.

O tratamento médico para a resolução do sequestro de córnea por si só não produz resultados satisfatórios. O sequestro pode eventualmente destacar-se, mas por outro lado pode ter potencial para progredir e envolver as camadas mais profundas da córnea se

nenhum tratamento for implementado. A terapia cirúrgica é a terapia atualmente recomendada para reduzir o desconforto ocular, acelerar a cicatrização e evitar complicações como perfuração de córnea.

A transposição corneconjuntival comparada com autoenxertos conjuntivais oferece melhor transparência, no entanto, comparada com transplantes, forma sempre uma ligeira opacidade na zona conjuntival do flap que pode diminuir com a administração cuidadosa de corticoesteróides após epitelização completa da córnea. Os biomateriais restauram a transparência da córnea preservando a visão na maioria dos casos, mas por vezes a integridade do biomaterial pode não ser total, a presença de pigmentação pode ocorrer e em defeitos da córnea maiores ou profundos podem não fornecer suporte tectónico suficiente. Para além disso, alguns estudos descrevem a realização de flap de 3ª pálpebra para proteger o biomaterial podendo ser difícil aplicar fármacos tópicos que atuem com eficácia e avaliar a evolução da cicatrização da córnea nos primeiros dias.

A queratectomia lamelar seguida de transposição corneconjuntival é um tratamento cirúrgico efetivo para sequestro de córnea de profundidade média, profunda e perfurante. Esta técnica permite obter um excelente resultado funcional e visual. O tempo de cicatrização é relativamente curto o que torna possível o uso de corticosteroides cedo para que rapidamente se obtenha uma maior transparência da córnea e a presença de cicatriz seja desprezível.

6. Conclusão

Relativamente ao nosso estudo, os dados clínicos observados vão ao encontro da bibliografia estudada.

Apesar do comportamento variável do sequestro, a atuação imediata após o seu diagnóstico é importante a fim de evitar a sua evolução provocando sinais de dor ocular e, em casos mais graves, perfuração da córnea.

A transposição corneconjuntival não necessita de material dador nem de cuidados de armazenamento. Em sequestros de grandes dimensões esta técnica é mais difícil de ser aplicada contrariamente às queratoplastias. Quando os sequestros são de dimensões menores, mas que atingem camadas mais profundas, a queratectomia lamelar seguida de TCC parece ser uma técnica efetiva que aumenta o conforto ocular do gato, promovendo rápida e completa cicatrização, diminuindo a probabilidade de recorrência e promovendo a transparência da córnea axial, permitindo preservar a agudeza da visão central.

A transposição fornece suporte físico e aporte sanguíneo à córnea fragilizada. Concluiu-se neste estudo que o prognóstico da recuperação foi favorável após tratamento cirúrgico (queratectomia lamelar e TCC), pois foi viável e eficaz com bons resultados estéticos e visuais em todos os animais sem ocorrer recorrências. Podemos afirmar que a técnica foi obtida com sucesso e permitiu melhorar a qualidade de vida dos gatos preservando a sua visão.

7. Bibliografia

Andrew, S. E. (2001). "Ocular manifestations of feline herpesvirus." J Feline Med Surg **3**(1): 9-16.

Andrew, S. E., S. Tou and D. E. Brooks (2001). "Corneoconjunctival transposition for the treatment of feline corneal sequestra: a retrospective study of 17 cases (1990-1998)." Vet Ophthalmol **4**(2): 107-111.

Armaly, M. F. (1963). "Effect of Corticosteroids on Intraocular Pressure and Fluid Dynamics. I. The Effect of Dexamethasone in the Normal Eye." Arch Ophthalmol **70**: 482-491.

Badylak, S. F. (1993). Small Intestinal Submucosa (SIS): a biomaterial conducive to smart tissue remodeling. Tissue engineering: current perspectives. E. Bell, Birkhäuser: 179-189.

Bahn, C. F., R. F. Meyer, D. K. MacCallum, J. H. Lillie, E. J. Lovett, A. Sugar and C. L. Martonyi (1982). "Penetrating keratoplasty in the cat. A clinically applicable model." Ophthalmology **89**(6): 687-699.

Balland, O., A. S. Poinard, F. Famose, F. Gouille, P. F. Isard, I. Mathieson and T. Dulaurent (2016). "Use of a porcine urinary bladder acellular matrix for corneal reconstruction in dogs and cats." Vet Ophthalmol **19**(6): 454-463.

Barchetti, L., C. Giudice and C. M. Mortellaro (2010). "Amniotic membrane transplantation for the treatment of feline corneal sequestrum: pilot study." Vet Ophthalmol **13**(5): 326-330.

Barba, K. R., A. Samy, C. Lai, J. I. Perlman and C. S. Bouchard (2000). "Effect of topical anti-inflammatory drugs on corneal and limbal wound healing." J Cataract Refract Surg **26**(6): 893-897.

Blocker, T. and A. Van Der Woerdt (2001). "A comparison of corneal sensitivity between brachycephalic and Domestic Short-haired cats." Vet Ophthalmol **4**(2): 127-130.

Blogg, J., R. Stanley and A. Dutton (1989). "Use of conjunctival pedicle grafts in the management of feline keratitis nigrum." Journal of Small Animal Practice **30**(12): 678-684.

Bossuyt, S. (2016). "The use of therapeutic soft contact bandage lenses in the dog and the cat: a series of 41 cases." Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift **85**(6): 343-348.

Bouhanna, L., L. B. Liscoet and I. Raymond-Letron (2008). "Corneal stromal sequestration in a dog." Vet Ophthalmol **11**(4): 211-214.

Brooks, D. E. (2008). "Complications of ophthalmic surgery in the horse." Vet Clin North Am Equine Pract **24**(3): 697-734, x.

Bussieres, M., S. G. Krohne, J. Stiles and W. M. Townsend (2004). "The use of porcine small intestinal submucosa for the repair of full-thickness corneal defects in dogs, cats and horses." Vet Ophthalmol **7**(5): 352-359.

Chan-Ling, T. (1989). "Sensitivity and neural organization of the cat cornea." Invest Ophthalmol Vis Sci **30**(6): 1075-1082.

- Chow, D. W. and H. D. Westermeyer (2016). "Retrospective evaluation of corneal reconstruction using ACell Vet() alone in dogs and cats: 82 cases." Vet Ophthalmol **19**(5): 357-366.
- Costa, D., M. Leiva, N. Coyo, F. Laguna, J. Ríos and M. T. Peña Gimenez (2016). "Effect of topical 1% cyclopentolate hydrochloride on tear production, pupil size, and intraocular pressure in healthy Beagles." Veterinary ophthalmology **19**(6): 449-453.
- Costa, D., M. Leiva, C. Naranjo, J. Rios and M. T. Pena (2016). "Cryopreservation (-20 degrees C) of feline corneoscleral tissue: histologic, microbiologic, and ultrastructural study." Vet Ophthalmol **19 Suppl 1**: 97-104.
- Cote, E. (2010). Clinical Veterinary Advisor-E-Book: Dogs and Cats, Elsevier Health Sciences.
- Cullen, C. L., D. W. Wadowska, A. Singh and Y. Melekhovets (2005). "Ultrastructural findings in feline corneal sequestra." Vet Ophthalmol **8**(5): 295-303.
- Dalla, F., L. Pisoni and L. Masetti (2007). "Feline corneal sequestration: a review of medical treatment in 37 cases." Vet Res Commun **31 Suppl 1**: 285-288.
- Dubielzig, R. R., K. L. Ketring, G. J. McLellan and D. M. Albert (2010). Veterinary Ocular Pathology E-Book: A Comparative Review, Elsevier Health Sciences.
- Dulaurent, T., T. Azoulay, F. Gouille, A. Dulaurent, M. Mentek, R. L. Peiffer and P. F. Isard (2014). "Use of bovine pericardium (Tutopatch(R)) graft for surgical repair of deep melting corneal ulcers in dogs and corneal sequestra in cats." Vet Ophthalmol **17**(2): 91-99.
- Ejima, H., N. Hara and H. Kajigaya (1993). "Detection of iron in a blackish lesion in a case of feline corneal sequestration." J Vet Med Sci **55**(6): 1051-1052.
- Featherstone, H. J., V. J. Franklin and J. Sansom (2004). "Feline corneal sequestrum: laboratory analysis of ocular samples from 12 cats." Vet Ophthalmol **7**(4): 229-238.
- Featherstone, H. J. and J. Sansom (2004). "Feline corneal sequestra: a review of 64 cases (80 eyes) from 1993 to 2000." Vet Ophthalmol **7**(4): 213-227.
- Featherstone, H. J., J. Sansom and C. L. Heinrich (2001). "The use of porcine small intestinal submucosa in ten cases of feline corneal disease." Vet Ophthalmol **4**(2): 147-153.
- Gelatt, K. N. (2014). Canine cornea: Diseases and surgery. Essentials of veterinary ophthalmology, John Wiley & Sons: 216-248.
- Gelatt, K. N. (2014). Canine eyelids: Diseases and surgery. Essentials of veterinary ophthalmology, John Wiley & Sons: 163-185.
- Gelatt, K. N. (2014). Feline ophthalmology. Essentials of veterinary ophthalmology, John Wiley & Sons: 379-417.
- Gelatt, K. N. (2014). Ocular Pharmacology and Therapeutics. Essentials of veterinary ophthalmology, John Wiley & Sons: 66-100.
- Gelatt, K. N. and D. Brooks (2011). Surgery of the cornea and sclera. Veterinary ophthalmic surgery. K. N. Gelatt and J. P. Gelatt, Elsevier Health Sciences: 191-236.

Gelatt, K. N. and D. E. Brooks (2011). Surgical procedures for the conjunctiva and the nictitating membrane. Veterinary Ophthalmic Surgery. K. N. Gelatt and J. P. Gelatt, Elsevier Health Sciences: 157-175.

Gelatt, K. N., B. C. Gilger and T. J. Kern (2013). Veterinary ophthalmology, John Wiley & Sons.

Gemensky, A. J. and D. A. Wilkie (2001). "Mineralized corneal sequestrum in a cat." J Am Vet Med Assoc **219**(11): 1568-1572, 1550.

Gould, D. (2011). "Feline herpesvirus-1: ocular manifestations, diagnosis and treatment options." J Feline Med Surg **13**(5): 333-346.

Goulle, F. (2012). "Use of porcine small intestinal submucosa for corneal reconstruction in dogs and cats: 106 cases." J Small Anim Pract **53**(1): 34-43.

Graham, K. L., J. D. White and F. M. Billson (2017). "Feline corneal sequestra: outcome of corneconjunctival transposition in 97 cats (109 eyes)." J Feline Med Surg **19**(6): 710-716.

Grahn, B. H., S. Sisler and E. Storey (2005). "Qualitative tear film and conjunctival goblet cell assessment of cats with corneal sequestra." Vet Ophthalmol **8**(3): 167-170.

Hansen, P. A. and A. Guandalini (1999). "A retrospective study of 30 cases of frozen lamellar corneal graft in dogs and cats." Vet Ophthalmol **2**(4): 233-241.

Hartley, C. (2010). "Aetiology of corneal ulcers assume FHV-1 unless proven otherwise." J Feline Med Surg **12**(1): 24-35.

Hartley, C. (2010). "Treatment of corneal ulcers: when is surgery indicated?" J Feline Med Surg **12**(5): 398-405.

Herring, I. P. (2003). "Corneal surgery: instrumentation, patient considerations, and surgical principles." Clin Tech Small Anim Pract **18**(3): 152-160.

Hollingsworth, S. R. (2003). "Corneal surgical techniques." Clin Tech Small Anim Pract **18**(3): 161-167.

Kafarnik, C., J. Fritsche and S. Reese (2007). "In vivo confocal microscopy in the normal corneas of cats, dogs and birds." Vet Ophthalmol **10**(4): 222-230.

Kafarnik, C., J. Fritsche and S. Reese (2008). "Corneal innervation in mesocephalic and brachycephalic dogs and cats: assessment using in vivo confocal microscopy." Vet Ophthalmol **11**(6): 363-367.

Kaiser, P. K., R. Pineda, D. M. Albert and J. W. Shore (1992). "'Black cornea' after long-term epinephrine use." Arch Ophthalmol **110**(9): 1273-1275.

La Croix, N. C., A. van der Woerd and D. K. Olivero (2001). "Nonhealing corneal ulcers in cats: 29 cases (1991-1999)." J Am Vet Med Assoc **218**(5): 733-735.

Lacerda, R. P., M. T. Pena Gimenez, F. Laguna, D. Costa, J. Rios and M. Leiva (2017). "Corneal grafting for the treatment of full-thickness corneal defects in dogs: a review of 50 cases." Vet Ophthalmol **20**(3): 222-231.

- Laguna, F., M. Leiva, D. Costa, R. Lacerda and T. Pena Gimenez (2015). "Corneal grafting for the treatment of feline corneal sequestrum: a retrospective study of 18 eyes (13 cats)." Vet Ophthalmol **18**(4): 291-296.
- Lutz, H., C. Leutenegger and R. Hofmann-Lehmann (1999). "The role of polymerase chain reaction and its newer developments in feline medicine." J Feline Med Surg **1**(2): 89-100.
- Maggs D. J., P. Miller and R. Ofri (2013). Cornea and Sclera. Slatter's of fundamentals of veterinary ophthalmology. Saunders.
- Maggs, D. J., P. Miller and R. Ofri (2013). Ocular Pharmacology and Therapeutics. Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology, Elsevier Health Sciences: 27-59.
- McLellan, G. L. and F. J. Archer (2000). "Corneal stromal sequestration and keratoconjunctivitis sicca in a horse." Vet Ophthalmol **3**(2-3): 207-212.
- Moore, P. A. (2005). "Feline corneal disease." Clin Tech Small Anim Pract **20**(2): 83-93.
- Muller, L. J., C. F. Marfurt, F. Kruse and T. M. Tervo (2003). "Corneal nerves: structure, contents and function." Exp Eye Res **76**(5): 521-542.
- Nasissse, M. P. (1990). "Feline herpesvirus ocular disease." Vet Clin North Am Small Anim Pract **20**(3): 667-680.
- Nasissse, M. P., T. L. Glover, C. P. Moore and B. J. Weigler (1998). "Detection of feline herpesvirus 1 DNA in corneas of cats with eosinophilic keratitis or corneal sequestration." Am J Vet Res **59**(7): 856-858.
- Nasissse, M. P., J. S. Guy, M. G. Davidson, W. A. Sussman and N. M. Fairley (1989). "Experimental ocular herpesvirus infection in the cat. Sites of virus replication, clinical features and effects of corticosteroid administration." Invest Ophthalmol Vis Sci **30**(8): 1758-1768.
- Newkirk, K. M., D. V. Hendrix and R. L. Keller (2011). "Porphyrins are not present in feline ocular tissues or corneal sequestra." Vet Ophthalmol **14 Suppl 1**: 2-4.
- Ohashi, Y., M. Dogru and K. Tsubota (2006). "Laboratory findings in tear fluid analysis." Clin Chim Acta **369**(1): 17-28.
- Pena Gimenez, M. T. and I. M. Farina (1998). "Lamellar keratoplasty for the treatment of feline corneal sequestrum." Vet Ophthalmol **1**(2-3): 163-161.
- Price, M. O. and F. W. Price, Jr. (2006). "Efficacy of topical cyclosporine 0.05% for prevention of cornea transplant rejection episodes." Ophthalmology **113**(10): 1785-1790.
- Schmidt, G. M., G. L. Blanchard and W. F. Keller (1977). "The use of hydrophilic contact lenses in corneal diseases of the dog and cat: a preliminary report." J Small Anim Pract **18**(12): 773-777.
- Sebbag, L., P. H. Kass and D. J. Maggs (2015). "Reference values, intertest correlations, and test-retest repeatability of selected tear film tests in healthy cats." J Am Vet Med Assoc **246**(4): 426-435.
- Shukla, A. K. and C. L. Pinard (2012). "Feline uveitis." Compend Contin Educ Vet **34**(9): E1.

Startup, F. G. (1988). "Corneal necrosis and sequestration in the cat: a review and record of 100 cases." Journal of Small Animal Practice **29**: 476-486.

Stiles, J. (2003). "Feline herpesvirus." Clin Tech Small Anim Pract **18**(3): 178-185.

Stiles, J. (2014). "Ocular manifestations of feline viral diseases." Vet J **201**(2): 166-173.

Stiles, J. and R. Pogradichny (2008). "Detection of virulent feline herpesvirus-1 in the corneas of clinically normal cats." J Feline Med Surg **10**(2): 154-159.

Townsend, W. M., A. J. Rankin, J. Stiles and S. G. Krohne (2008). "Heterologous penetrating keratoplasty for treatment of a corneal sequestrum in a cat." Vet Ophthalmol **11**(4): 273-278.

Vanore, M., S. Chahory, G. Payen and B. Clerc (2007). "Surgical repair of deep melting ulcers with porcine small intestinal submucosa (SIS) graft in dogs and cats." Vet Ophthalmol **10**(2): 93-99.

Volopich, S., V. Benetka, I. Schwendenwein, K. Mostl, I. Sommerfeld-Stur and B. Nell (2005). "Cytologic findings, and feline herpesvirus DNA and Chlamydomydia felis antigen detection rates in normal cats and cats with conjunctival and corneal lesions." Vet Ophthalmol **8**(1): 25-32.

Wilkie, D. A. and C. Whittaker (1997). "Surgery of the cornea." Vet Clin North Am Small Anim Pract **27**(5): 1067-1107.

Wilson, S. E. and H. E. Kaufman (1990). "Graft failure after penetrating keratoplasty." Surv Ophthalmol **34**(5): 325-356.

Zigler, M. (2003). Use of Acell Vet xenograft in feline corneal sequestrum. Proceedings of the 34th Annual Meeting of the American College of Veterinary Ophthalmologists.