

**COMPARAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS DE TRATAMENTO DE
CERATOCONJUNTIVITE SECA EXPERIMENTALMENTE INDUZIDA EM
COELHOS**

DANIELLE ANTONELLI MOTTA

Presidente Prudente – SP

2011

**COMPARAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS DE TRATAMENTO DE
CERATOCONJUNTIVITE SECA EXPERIMENTALMENTE INDUZIDA EM
COELHOS**

DANIELLE ANTONELLI MOTTA

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, como parte dos requisitos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. – Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Silvia Maria Caldeira Franco Andrade

636.392 2
M921c

Motta, Danielle Antonelli

Comparação de dois protocolos de tratamento de ceratoconjuntivite seca experimentalmente induzida em coelhos / Danielle Antonelli Motta – Presidente Prudente, 2011.

65 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Oeste Paulista – Unoeste: Presidente Prudente – SP, 2011.

Bibliografia.

Orientadora: Silvia Maria Caldeira Franco Andrade

1. Tecido conjuntivo – Doenças. 2. Acetilcisteína. 3. Ceratoconjuntivite seca. 4. Coelhos. 5. Óleo de semente de linho. 6. Pilocarpina. I. Título.

DANIELLE ANTONELLI MOTTA

**COMPARAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS DE TRATAMENTO DE
CERATOCONJUNTIVITE SECA EXPERIMENTALMENTE INDUZIDA EM
COELHOS**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Presidente Prudente, 13 de dezembro de 2011.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Silvia Maria Caldeira Franco Andrade
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Profa. Dra. Aline Adriana Bolzan
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da –
Universidade de São Paulo - USP
São Paulo - SP

Prof^a. Dr^a. Alessandra Melchert
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente – SP

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Walmir e Cristina e à minha irmã Caroline, pelo amor, apoio, dedicação e confiança.

Aos meus avós, Euclides e Jacira, pelos ensinamentos durante toda a minha vida.

Ao meu noivo Marcos, por todo amor, carinho e apoio.

“E agora, que a glória seja dada a Deus, o qual, por meio do seu poder, que age em nós, pode fazer muito mais do que nós pedimos ou até pensamos.”

Efésios 3:20

AGRADECIMENTOS

Agradecer é reconhecer o apoio das pessoas, é compartilhar satisfação, gratidão e, sobretudo, valorizar aquilo que não se consegue individualmente. A tarefa de produzir conhecimento depende de muitos apoios, contribuições, ajudas. Por isso, nunca é demais expressar gratidão às pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, com esta tarefa.

Agradeço inicialmente à minha família, por todo amor, apoio, dedicação e pelas muitas contribuições diretas e indiretas não somente durante este trabalho, mas também durante todo o curso e que realmente não têm preço.

Ao meu noivo Marcos, pelo seu amor, sua amizade e seu carinho, que soube compreender as minhas ausências em muitos momentos. Minha eterna gratidão, pois em nenhum momento mediu esforços para me ajudar e me apoiar na realização deste trabalho.

Agradeço, em especial, a Prof^ª. Dr^ª. Silvia Franco Andrade, orientadora deste trabalho, que não mediu esforços em todos os momentos solicitados. Minha gratidão por sua grande disposição, sempre oferecendo o melhor de si. E agradeço também ao Prof. Dr. Osimar de Carvalho Sanches, Prof^ª Dra. Letícia Yamasaki e Prof. Dr. Rogério Giuffrida, pela contribuição indispensável na realização deste trabalho.

Aos acadêmicos do curso de medicina veterinária de Presidente Prudente do ano de 2010, pelo auxílio, responsabilidade e companheirismo na realização do projeto.

Aos residentes do Hospital Veterinário da UNOESTE Daniele Alves Silva, Mariele Catherine Alves Silva e Karina Maria Bosso, pela disposição na realização do projeto.

A Universidade do Oeste Paulista de Presidente Prudente pelo apoio financeiro e ao Laboratório Ophtalmus-SP por disponibilizar os materiais necessários para a execução do experimento.

A todos os animais, que enfermos ou não, me mostraram o caminho do conhecimento, da confiança e da amizade, e me ensinaram a confortar e amenizar seus sofrimentos.

Por fim, agradeço a Deus, meu refúgio e fortaleza, que me concedeu o amor pelos animais, que me abençoou durante toda a vida, que me possibilitou realizar este grande sonho, que me fortaleceu e foi comigo. A Ele, a minha eterna gratidão por tudo o que me fez até agora, por tudo o que creio que ainda vai fazer e pela alegria que me concede com a conclusão deste trabalho. Graças sejam dadas a Deus porque Ele é fiel.

“Confia no Deus eterno de todo o seu coração e não se apóie na sua própria inteligência. Lembre-se de Deus em tudo o que fizer, e Ele lhe mostrará o caminho.”

(Provérbios 3:5-6)

RESUMO

COMPARAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS DE TRATAMENTO DE CERATOCONJUNTIVITE SECA EXPERIMENTALMENTE INDUZIDA EM COELHOS

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de dois protocolos de tratamento da ceratoconjuntivite seca (CCS) experimentalmente induzida em coelhos, uma formulação oftálmica tópica composta por álcool povinílico 1,4%, adicionado com acetilcisteína 10% e pilocarpina 1% (AAP), e outro protocolo com o uso do óleo de semente de linhaça (OL) tópico em forma de colírio. Foram utilizados 15 coelhos brancos, machos da raça Nova Zelândia. Esses animais foram divididos em 3 grupos com 5 animais cada: Grupo C (controle), animais saudáveis; Grupo AAP (fórmula oftálmica por via tópica) e Grupo L (óleo de linhaça por via tópica). Os coelhos foram avaliados semanalmente pelo Teste Lacrimal de Schirmer (TLS), Teste de Rosa Bengala (TRB) e Teste de Fluoresceína (TF). Mensalmente foram realizados testes de citologia esfoliativa (CE) e ao final do experimento foi realizada eutanásia dos animais para obtenção do exame histopatológico dos olhos. Houve melhora clínica significativa nos parâmetros analisados (TLS, TRB e TF) em ambos os grupos (AAP e L). Porém, o grupo AAP, apresentou um melhor efeito em relação à produção de lágrima a partir do momento 2 (M2), quando comparado ao grupo L. Ambos os grupos apresentaram valores superiores ao grupo C, e permaneceram superiores até o M12. Já o grupo L, apresentou um melhor efeito em relação à presença de úlceras de córnea, onde permaneceu negativo em todos os momentos, enquanto que o grupo AAP apresentou-se positivo desde o M3 até o M9. Em relação à presença de células desvitalizadas, o grupo L apresentou um melhor desempenho, tendo 100% de seus animais negativos a partir do M7, enquanto que o grupo AAP apresentou animais negativos para células desvitalizadas a partir do M10. Na citologia esfoliativa não foi observado diferenças importantes entre os grupos. No histopatológico da córnea e conjuntiva, houve presença de edema e degeneração em ambos os grupos, porém necrose foi observado apenas na conjuntiva no grupo L. Houve um aumento significativo das células calciformes, principalmente no grupo AAP. Diante dos resultados analisados, tanto a fórmula oftálmica quanto o óleo de linhaça são eficientes no tratamento da CCS, porém, a fórmula oftálmica é mais eficaz para o incremento da lágrima, enquanto que o óleo de linhaça mostrou-se mais efetivo na resolução das úlceras de córnea e células desvitalizadas.

Palavras-chave: Ceratoconjuntivite seca, álcool povinílico 1,4%, acetilcisteína 10%, pilocarpina 1%, óleo de semente de linhaça, coelhos.

ABSTRACT

COMPARISON OF TWO PROTOCOLS OF TREATMENT OF KERATOCONJUNCTIVITIS SICCA EXPERIMENTALLY INDUCED IN RABBITS

The objective of this study was to evaluate the effectiveness of two protocols of treatment of keratoconjunctivitis sicca (CCS) experimentally induced in rabbits, a topical ophthalmic formulation consisting of 1.4% alcohol povinílico, added with acetylcysteine 10% and 1% pilocarpine (AAP) and another protocol with the use of flaxseed oil (OL) topic in the form of eye drops. A total of 15 white rabbits, male New Zeland. These animals were divided into three groups with five animals each: Group C (control), healthy animals; Group AAP (formula for topical ophthalmic) and Group L (flaxseed oil topically). The rabbits were evaluated weekly by the Schirmer test Lacrimal (TLS), Rose Bengal test (TRB) and Fluorescein test (TF). Monthly tests were performed cytology (EC) and the end of the experiment was carried out euthanasia of animals for histopathological examination of the eyes. There was significant clinical improvement in the parameters analyzed (TLS, TRB and TF) in both groups (AAP, L). However, the AAP group, showed a better effect on the production of tears from the moment 2 (M2), when compared to L. Both groups had values higher than in Group C, and remained superior to the M12. The group L, showed a better effect for the presence of corneal ulcers, which remained negative at all times, while the AAP group was positive from the M3 to M9. Regarding the presence of devitalized cells, the group L showed a better performance, and 100% of their animals from the negative to the M7, while the AAP group animals showed negative for devitalized cells from the M10. In cytology was not observed significant differences between groups. In histopathology of the cornea and conjunctiva, there was edema and degeneration in both groups, but necrosis was observed only in the conjunctiva in the group L. There was a significant increase in goblet cells, especially in the AAP group. Considering the results analyzed, both the formula ophthalmic and flaxseed oil are effective in the treatment of CCS, however, the ophthalmic formulation is more effective to increase the tear, while linseed oil was more effective in resolving ulcers corneal cells and devitalized.

Keywords: Keratoconjunctivitis sicca, alcohol povinílico 1.4%, 10% acetylcysteine, pilocarpine 1% oil, flaxseed, rabbits.

LISTA DE FIGURAS DA REVISÃO DE LITERATURA

FIGURA 1	- Estrutura anatômica da córnea de cão.....	18
FIGURA 2	- Camadas do Filme Lacrimal Pré-Corneal.....	20
FIGURA 3	- Localização anatômica dos tecidos secretores.....	21
FIGURA 4	- Olho esquerdo de um cão com CCS crônica.....	25
FIGURA 5	- Fitas de Schirmer.....	26
FIGURA 6	- Teste Lacrimal de Schirmer.....	27
FIGURA 7	- Teste de Fluoresceína.....	28
FIGURA 8	- Teste de rosa Bengala.....	29
FIGURA 9	- Citologia Esfoliativa.....	30
FIGURA 10	- Biossíntese de ácidos graxos poliinsaturado.....	36
FIGURA 11	- Biossíntese de ácidos graxos poliinsaturado.....	37

LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO

- FIGURA 1 - Médias e desvios padrões dos valores obtidos^a do teste lacrimal de schirmer (TLS) em mm/min dos coelhos experimentalmente induzidos para CCS e submetidos a diferentes tipos de tratamentos: placebo (grupo C); fórmula tópica oftálmica composta por 3,5 ml de álcool povinílico 1,4% + 3,5 ml de acetilcisteína 10% + 1 ml pilocarpina 1% (grupo AAP) e óleo de linhaça tópico (grupo L) antes (M0) e nas 12 semanas do estudo (M1 a M12). 57
- FIGURA 2 - Medianas dos valores obtidos* do teste de fluoresceína (TF) em coelhos experimentalmente induzidos para CCS e submetidos a diferentes tipos de tratamentos: placebo (grupo C); fórmula tópica oftálmica composta por 3,5 ml de álcool povinílico 1,4% + 3,5 ml de acetilcisteína 10% + 1 ml pilocarpina 1% (grupo AAP) e óleo de linhaça tópico (grupo L) antes (M0) e nas 12 semanas do estudo (M1 a M12). 58
- FIGURA 3 - Medianas dos valores obtidos* do teste de rosa Bengala (TRB) em coelhos experimentalmente induzidos para CCS e submetidos a diferentes tipos de tratamentos: placebo (grupo C); fórmula tópica oftálmica composta por 3,5 ml de álcool povinílico 1,4% + 3,5 ml de acetilcisteína 10% + 1 ml pilocarpina 1% (grupo AAP) e óleo de linhaça tópico (grupo L) antes (M0) e nas 12 semanas do estudo (M1 a M12). 59
- FIGURA 4 - Fotomicrografia de citologia esfoliativa de córnea de coelho. (A) coelho nº 3 do grupo AAP no M1 com presença de células parabasais. (B) coelho nº 3 do grupo AAP no M1 com presença de células superficiais. (C) coelho nº 3 do grupo AAP no momento M4 com presença de células caliciformes (seta) – May-Grunwald-Giemsa (MGG) (400x). 60

FIGURA 5 - (A) Fotomicrografia de corte de córnea (OE) de coelho nº 3 do grupo AAP evidenciando edema leve no epitélio corneal (EC) (setas finas) e edema moderado no estroma (E) (setas) – H.E (100x). (B) Fotomicrografia da inserção da córnea com a conjuntiva (Seta) do coelho nº2 do grupo AAP onde se observa as células caliciformes (seta). Presença de edema moderado em epitélio corneal (EC) (setas finas). Observa-se congestão de vasos sanguíneos em estroma (E) (*) – H.E (400x). 60

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	- Ácido Araquidônico
ADGL	- Ácido dihomo-gama-linolênico
AG	- Ácido Graxo
AGE	- Ácido Graxo Essencial
ALA	- Ácido alfa-linolênico
cc	- Centímetros Cúbicos
CCS	- Ceratoconjuntivite Seca
CE	- Citologia Esfoliativa
COX	- Cicloxigenase
FLP	- Filme Lacrimal Pré-Corneal
IL-1	- Interleucina-1
IL-2	- Interleucina-2
LT	- Leucotrieno
MGG	- May-Grunwald-Giemsa
MHC	- Complexo de Histocompatibilidade Principal
OSL	- Óleo de Semente de Linhaça
PG	- Prostaglandinas
SS	- Síndrome de Sjögren
TF	- Teste de Fluoresceína
TLS	- Teste Lacrimal de Schirmer
TRB	- Teste de Rosa Bengala
TX	- Tromboxano
ω	- Ômega

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Anatomia do bulbo ocular.....	16
2.2 Anatomia do bulbo ocular.....	16
2.2.1 Filme lacrimal pré-corneal.....	18
2.2.2 Glândulas lacrimais.....	20
2.3 Ceratoconjuntivite Seca.....	22
2.3.1 Etiologia.....	22
2.3.2 Sinais clínicos.....	24
2.3.3 Diagnóstico.....	25
2.3.4 Tratamento.....	30
2.3.4.1Formulação oftálmica.....	32
2.3.4.2 Óleo de semente de linhaça.....	34
REFERÊNCIAS.....	39
3 ARTIGO CIENTÍFICO	46
RESUMO.....	47
INTRODUÇÃO.....	47
MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
RESULTADOS.....	50
DISCUSSÃO.....	52
AGRADECIMENTOS.....	53
REFERÊNCIAS.....	53
ANEXO – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA REVISTA Veterinary Ophthalmology.....	61

1 INTRODUÇÃO

A ceratoconjuntivite seca (CCS) ou olho seco é um problema oftálmico bastante comum em humanos e animais domésticos, que geralmente resulta da deficiência do componente aquoso do filme lacrimal pré-corneano (FLP) ou devido à modificação da qualidade e/ou diminuição da estabilidade da lágrima (GOMES et al, 1994; BERDOULAY; ENGLISH; NALDELSTEIN, 2005). O FLP proporciona lubrificação física, proteínas, vitaminas, fatores de crescimento epitelial para a córnea, e como esta é avascular as glândulas lacrimais produzem os nutrientes necessários para manter a córnea transparente e saudável (BERDOULAY; ENGLISH; NALDELSTEIN, 2005).

A CCS possui várias etiologias como, por exemplo: predisposição racial, hipotireoidismo, doenças auto-imunes (sendo esta a mais comum), paralisia do nervo facial, medicamentos (atropina, sulfonamidas), excisão cirúrgica da glândula da terceira pálpebra, conjuntivite entre outras (WILKIE, 1996; MILLER, 2008).

O sinal marcante em pacientes acometidos traduz-se por secreção ocular mucóide a mucopurulenta, que se adere aos epitélios e que, normalmente, acompanha perda de brilho na córnea e hiperemia conjuntival. Casos agudos podem produzir ulcerações superficiais, profundas e até perfuração da córnea. Todavia são encontradas manifestações superficiais crônicas com deterioração progressiva da visão. A vascularização e a pigmentação são de ocorrência sistemática (WILKIE, 1996).

O diagnóstico baseia-se principalmente em três testes: o Teste lacrimal de Schirmer (TLS), o Teste de rosa Bengala (TRB) e o Teste de fluoresceína (TF) (BOUNOUS et al., 1998; IZCI et al., 2002).

A terapia tópica da CCS consiste no uso de lágrimas artificiais, antibioticoterapia, corticoterapia (se não houver úlceras), imunossupressores como a ciclosporina A, o tacrolimus e pimecrolimus, parassimpatomiméticos como a pilocarpina, mucolíticos como a acetilcisteína, isolados ou associados (IZCI et al., 2002; BERDOULAY; ENGLISH; NALDELSTEIN, 2005; MILLER, 2008; ANDRADE, BRAVO; FUKUI, 2010).

Diante disso, pode-se fazer o uso de formulações oftálmicas tópicas, associando-se um substituto aquoso da lágrima, o álcool povinílico que estabilizam a película lacrimal pré-corneal e impedem sua ruptura; a pilocarpina 1% pelo seu efeito lacrimoestimulante; e acetilcisteína como agente anticolagenolíticas devido à sua ação mucolítica, sendo que as colagenases são produzidas pelo epitélio corneal, fibrócitos do estroma, células inflamatórias nos casos de CCS, e úlcera de córnea (SEVERIN, 1995; ANDRADE, 2008; MILLER, 2008).

Outra forma de tratamento para a CCS, que vem se destacando em estudos recentes, é a utilização de ácidos graxos essenciais (AGE), como os ômega 3 (ω -3) e 6 (ω -6), com destaque para o óleo da semente de linhaça (RASHID et al., 2008; RONCONE; BARTLETT; EPERJESI, 2010). Segundo Pinheiro-Júnior et al. (2007), o óleo da semente de linhaça melhora os sintomas como sensação de ardor e ressecamento dos olhos e, conseqüentemente há uma melhora na lubrificação da superfície ocular.

Devido ao desuso desta formulação oftálmica, pela introdução de novos medicamentos, e aos poucos estudos em relação ao mecanismo de ação do óleo de linhaça, são necessários estudos para que possamos conhecer os benefícios de cada agente e tratar de uma forma mais precoce e correta os portadores de CCS.

Este estudo teve como principal objetivo comparar a eficácia de uma formulação tópica composta por substitutos da lágrima, substâncias lacrimoestimulantes e anticolagenolíticas em relação ao óleo de linhaça, por via tópica, através da avaliação das alterações clínicas, citológicas e histopatológicas, na tentativa de um melhor controle nas alterações clínicas provocadas pela inflamação na CCS induzida experimentalmente em coelhos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia do Bulbo Ocular

O olho, órgão da visão, consiste no bulbo do olho (bulbo ocular) e em vários anexos – estruturas acessórias como os músculos oculares que movem o bulbo do olho, as pálpebras que o protegem e o aparelho lacrimal, que mantém úmida suas partes expostas. As pálpebras emergem das margens ósseas da órbita e, como cortinas, são intermitentemente dirigidas sobre a parte exposta do olho (pisar) para distribuir a lágrima para proteção (DYCE; SACK; WENSING, 1997).

Os olhos dos mamíferos domésticos ficam mais protrusos da superfície da face que os dos primatas, incluindo o homem. Sua posição na cabeça está relacionada com o ambiente, os hábitos e o método de alimentação do animal. Em geral, as espécies predadoras (gato, cão) possuem olhos bem situados à frente, enquanto as que são caçadas (coelho) têm os olhos lateralizados (DYCE; SACK; WENSING, 1997).

Segundo Willians (2007), há vários anos, o coelho vem sendo utilizado tanto em pesquisas gerais como em pesquisas oftalmológicas, além de ser considerado hoje um animal de companhia.

O olho do coelho apresenta algumas peculiaridades anatômicas que diferem dos outros animais domésticos, porém apresentam estruturas semelhantes responsáveis pela proteção, nutrição, acomodação e percepção da luz (WILLIANS, 2007).

O epitélio conjuntival é a membrana mucosa, abundantemente vascularizada que reveste as faces internas das pálpebras, ambas as superfícies da terceira pálpebra e a esclera anterior. Atua como barreira física e imunológica protetora e é a membrana mais exposta do organismo, mantendo, portanto maior relação com o meio externo (SLATTER, 2001; BARBOSA, 2007). Todo este tecido é recoberto por muco, produzido por células caliciformes, que participam da formação do filme lacrimal (BARBOSA, 2007).

Segundo Defante Júnior (2006), as pálpebras possuem um complexo glandular formado pelas glândulas meibomianas (tarsais) responsáveis por secreção sebácea. As glândulas de Zeiss (glândulas sebáceas) e de Moll (glândulas

sudoríparas) encontram-se na base dos cílios, e juntamente produzem secreções que revestem a córnea e as glândulas acessórias.

A córnea é um disco transparente, circular e côncavo-convexo, responsável pela transmissão e refração da luz, que ocupa a porção rostral do bulbo do olho. Sua transparência e o seu alto poder de refração estão relacionados com características particulares, dentre as quais se destacam: a ausência de vasos sanguíneos e linfáticos, ausência de pigmentos, tamanho e disposição das fibras de colágenos, fibras nervosas amielínicas, epitélio não queratinizado e um estado relativo de desidratação, denominado estado de deturgescência, responsável pela manutenção do arranjo perfeito de suas camadas (SLATTER, 2001).

No coelho, a córnea possui forma elíptica, é proeminente e larga, seu contorno segue a mesma curvatura da esclera, com raio de curvatura de aproximadamente 7,3mm e de espessura razoavelmente uniforme (BARBOSA, 2007).

Histologicamente, a córnea é composta por quatro camadas distintas: o epitélio (pavimentoso estratificado); estroma; membrana de Descemet (membrana limitante posterior) e endotélio (epitélio pavimentoso simples) (Figura 1) (AMARAL, 2005).

As células basais do epitélio estão firmemente aderidas por hemidesmossomos à uma membrana basal, composta principalmente por fibrilas de colágeno tipo IV, VI e VII, além de laminina, fibronectina e hialuronato (AMARAL, 2005). O estroma representa cerca de 90% da espessura total da córnea e é formado por fibrilas de colágeno e fibras nervosas amielínicas. A membrana de Descemet é acelular e composta por fibrilas de colágenos dispostas de forma ordenada e caracteriza-se pela sua alta elasticidade e incapacidade de regeneração quando rompida (SAMPAIO, 2004). O endotélio é formado por uma única camada de células escamosas poligonais, com baixa capacidade de regeneração, e responsáveis em promover bombeamento contínuo de água para este tecido e assim colaborar com a promoção da transparência da córnea. Participa ativamente na secreção da membrana de Descemet (CAVALLET, 2007).

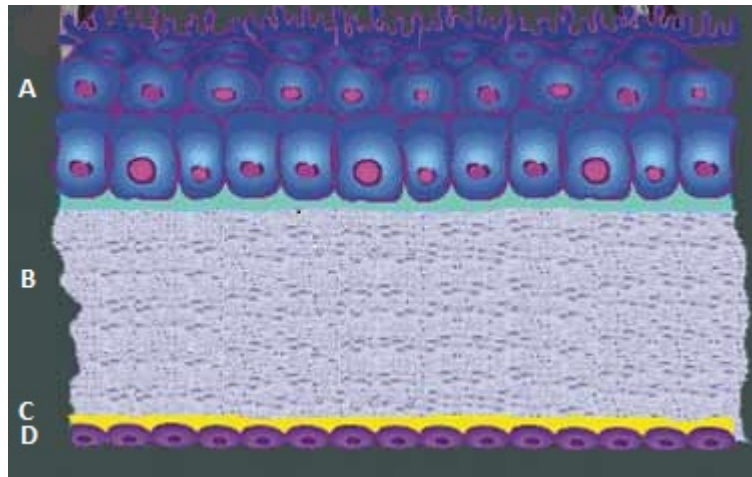


Figura 1 – Estrutura anatômica da córnea de cão. A. Epitélio. B. Estroma. C. Membrana de Descemet, D. Endotélio.

Fonte: Lani, 2005.

2.2 Aparelho Lacrimal

O aparelho lacrimal é dividido em sistema secretor e excretor e seu componente mais importante é a lágrima, também denominado de filme lacrimal pré-corneal (FLP) (CARNEIRO FILHO, 2004; HERRERA, 2008).

2.2.1 Filme lacrimal pré-corneal

A superfície ocular é recoberta e lubrificada por uma camada líquida conhecida como filme lacrimal (PINHEIRO-JÚNIOR et al., 2007), sendo esta, uma solução levemente alcalina com uma média de $\text{pH} = 7,5$ (KLEINNER, 2006), promovendo uma visão adequada, além de ajudar na manutenção e defesa da superfície que se encontra em contato com o meio externo (CAVALLET, 2007).

O FLP tem como principais funções: evitar danos às células epiteliais com a conseqüente formação de cicatrizes; lubrificação da superfície ocular; nutrição do epitélio corneal; realizar o transporte de oxigênio e a remoção de dióxido de carbono da córnea e conjuntiva (BARBOSA, 2007; PINHEIRO-JÚNIOR et al., 2007); proteger, limpar e defender o olho contra infecções; diluir e eliminar partículas estranhas; facilitar o acesso de glóbulos brancos à córnea e conjuntiva; tornar a superfície ocular clara, lisa e uniforme (função refrativa), eliminando pequenas irregularidades; promover defesa da superfície contra agentes agressores através de

substâncias antibacterianas inespecíficas (lisozima, β -lisina, lactoferrina) e específicas (BARBOSA, 2007; CAVALLET, 2007; LIMA, 2008).

O FLP é constituído de três camadas bioquimicamente distintas: uma camada superficial lipídica, uma intermediária aquosa e uma interna de mucina (Figura 2) (GOMES, 2000; BARBOSA, 2007; CAVALLET, 2007; LIMA, 2008; XIONG et al. 2008). Segundo Pinheiro-Júnior et al. (2007), o FLP é composto por 99,78% de porção aquosa, 0,2% de porção de mucina e 0,02% de porção lipídica.

A camada de mucina (interna) é formada pela secreção das células caliciformes situadas no epitélio conjuntival e das células epiteliais superficiais não-caliciformes da córnea e conjuntiva, e tem como função a manutenção da lubrificação epitelial da córnea e conjuntiva (GOMES, 2000; CAVALLET, 2007; LIMA, 2008). Lima (2008) relatou a camada de mucina apresentando como principal função tornar a superfície hidrofóbica da córnea em hidrofílica (aderente à água), facilitando a dispersão da porção aquosa do FLP sobre a superfície ocular, permitindo sua hidratação e evitando a contaminação bacteriana, além de encobrir irregularidades da superfície ocular, promovendo uma córnea lisa.

Esta camada é composta por mucina, imunoglobulinas, uréia, sais, glicose, leucócitos, enzimas e restos celulares. A mucina pode agir na superfície corneal protegendo-a de forma direta e indireta. Diretamente aderindo-se aos patógenos através de receptores específicos antes de atingir o epitélio corneano e indiretamente bloqueando a colonização microbiana. É capaz também de concentrar imunoglobulinas A na superfície mucóide, protegendo-a (DAVIDSON; KUONEN, 2004).

A camada aquosa (intermediária) é secretada pela glândula lacrimal (61% do total), pela glândula superficial da terceira pálpebra (35%) e pelas glândulas acessórias de Kraus e Wolfring (3%). Esta é a camada mais espessa do FLP, responsável pelo transporte de nutrientes solúveis em água, sais inorgânicos, glicose, uréia, proteínas, lactoferrina, imunoglobulinas (IgA na maioria dos cães e IgG em aproximadamente 50% deles), lisozima, fator de crescimento do epitélio ocular; vitamina A, glicoproteínas e biopolímeros (GOMES, 2000; CAVALLET, 2007; LIMA, 2008).

A camada lipídica é a camada mais externa, contendo ésteres, ácidos graxos e colesterol, a qual é produzida pelas glândulas de Meibômio (tarsais), e pelas glândulas de Zeis (glândulas sebáceas modificadas associadas com os cílios),

ambas localizadas na conjuntiva e pálpebra. Esta camada tem como função retardar a evaporação e estabilizar o filme lacrimal sobre a córnea (GOMES, 2000; BARBOSA, 2007; CAVALLET, 2007; LIMA, 2008).

Segundo Gomes (2000), a disfunção das glândulas de Meibômio pode desencadear uma instabilidade do filme lacrimal, além de alterações da superfície ocular. Lima (2008) observou que a remoção da camada lipídica proporciona evaporação do filme lacrimal e, conseqüentemente, obtém uma diminuição dos valores de tempo de ruptura do filme lacrimal, predispondo ao desenvolvimento do olho seco.

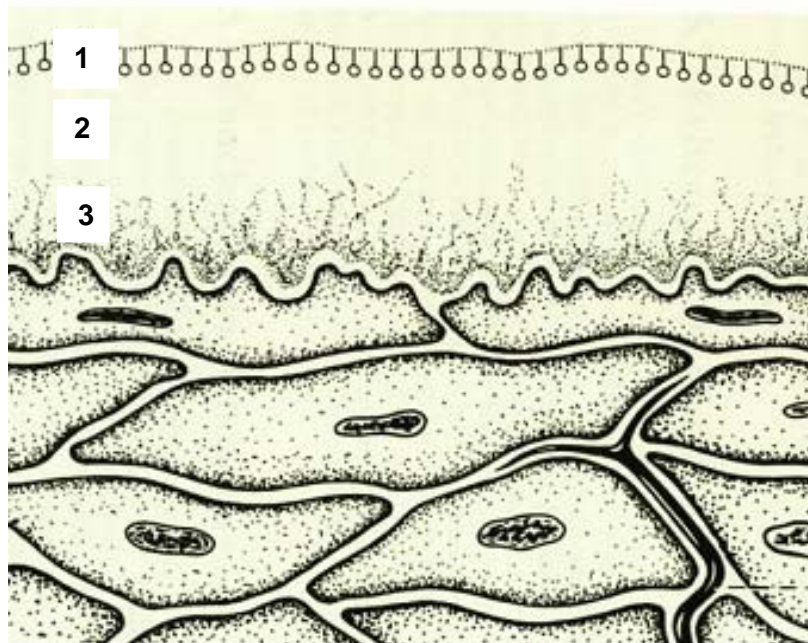


Figura 2 – Camadas do filme lacrimal pré-corneal: 1- Camada lipídica superficial; 2- Camada aquosa intermediária; 3- Camada interna mucóide.

Fonte: Stades et al., 1999.

2.2.2 Glândulas lacrimais

As glândulas lacrimais são responsáveis pela produção da maior parte do FLP. Histologicamente, as glândulas lacrimais são similares às glândulas serossalivares. O aparelho lacrimal é formado por uma parte secretora, que é constituída pelas glândulas lacrimais e glândulas acessórias, e outra excretora,

formada pelo sistema de drenagem lacrimal. A porção secretora do aparelho lacrimal inclui a glândula lacrimal, a glândula superficial da terceira pálpebra e as glândulas acessórias que não são visíveis macroscopicamente (Figura 3). A glândula lacrimal é a fonte primária de formação serosa lacrimal que umedece, lubrifica e protege a superfície dos olhos, sendo localizada na região da órbita entre o bulbo e o ligamento orbital e processo zigomático do osso frontal temporalmente. A glândula da terceira pálpebra e a glândula lacrimal acessória secretam a capa lipídica externa e mucopolissacarídea interna da película lacrimal pela glândula tarsal e células calciformes da conjuntiva, impedindo a evaporação da lágrima. Esta glândula esta localizada circundando a haste da cartilagem da terceira pálpebra (SLATTER, 2001).

O complexo glandular palpebral é composto pelas glândulas meibomianas (tarsais), as glândulas de Zeis, as glândulas de Moll e as glândulas lacrimais acessórias. As glândulas meibomianas são macroscopicamente visíveis através da delgada conjuntiva palpebral, perpendicularmente à margem da pálpebra. A secreção é um material sebáceo repleto de lipídios, que pode ser comprimido manualmente na margem da pálpebra. As glândulas de Zeis e de Moll são, respectivamente, glândulas sebáceas e sudoríparas, localizadas na base dos cílios, sendo responsáveis por uma secreção oleosa e viscosa que reveste à córnea. As glândulas lacrimais acessórias secretam lágrima no interior do saco conjuntival, contribuindo para a composição do filme pré-corneal (SLATTER, 2001).

Os coelhos possuem quatro glândulas lacrimais (glândula lacrimal, glândula lacrimal acessória com lobos retrobulbar, orbital e infraorbital; glândula superficial da terceira pálpebra e glândula profunda da terceira pálpebra (glândula de Harder) (HOLMBERG, 2008).

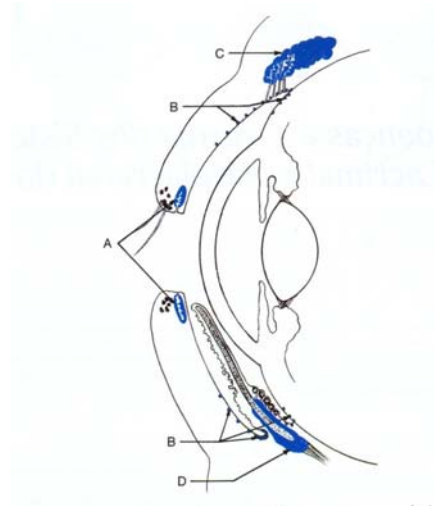


Figura 3 – Localização anatômica dos tecidos secretores responsáveis pela produção dos componentes da lágrima. A. Glândulas tarsais na placa tarsal. B. Células caliciformes conjuntivais. C. Glândula lacrimal orbitária. D. Glândula superficial da terceira pálpebra.

Fonte: Gelatt, 2003.

2.3 Ceratoconjuntivite Seca (CCS)

A ceratoconjuntivite seca ou síndrome do olho seco é considerada um problema oftálmico crônico da córnea, conjuntiva e glândulas lacrimais, que geralmente resulta da deficiência do componente aquoso do FLP ou devido à modificação da qualidade e/ou diminuição da estabilidade da lágrima (GOMES et al. 1994; BERDOULAY; ENGLISH; NALDELSTEIN, 2005), a qual resulta em um comprometimento no deslizamento das pálpebras, tornando deficiente ou nula a formação protetora da lágrima, levando a ressecamento, inflamação e infecções secundárias da conjuntiva e córnea, evoluindo para uma doença corneana progressiva, destruição tecidual e cegueira (GELATT, 2003; HERRERA, 2008).

2.3.1 Etiologia

Segundo Bounous et al. (1998), a CCS é uma enfermidade oftálmica comum em pequenos animais e humanos. Geralmente é bilateral (cerca de 60%) e ocorre com maior frequência em fêmeas (cerca de 65%) do que em cães machos. Animais de pequeno porte apresentam uma incidência de 1%, sendo as raças mais predispostas o Dachshund pêlo longo, Cavalier King Charles Spaniel, Shih Tzu,

Lhasa Apso, Cocker Spaniel, West Highland Terrier, Yorkshire Terrier, Schnauzer miniatura (CAVALLET, 2007; HERRERA, 2008).

O olho seco também pode estar presente em humanos portadores da síndrome de Sjögren (SS), doença inflamatória crônica e auto - imune que ataca e destrói as glândulas exócrinas (lacrimal, salivar, pâncreas, sudoríparas, mucosas do trato respiratório, gastrointestinal e urogenital) (GOMES et al., 1994; DANTAS FILHO, 1995). Pinheiro-Junior et al. (2007) relata que a incidência da SS é maior em mulheres brancas entre 50 a 60 anos com prevalência de 3-4% da população.

A etiologia exata da ceratoconjuntivite seca é desconhecida, mas acredita-se ser multifatorial (GAO et. al., 1998). E segundo Xiong et al. (2008), a enfermidade pode ser classificada em duas categorias distintas, de acordo com sua etiologia: deficiência do extrato aquoso (quantitativo) e deficiência lipídica (qualitativa).

As causas primárias de CCS são a ausência de atividade lacrimal, ausência da glândula ou atrofia glandular (CARNEIRO FILHO, 2004). Também pode ocorrer em razão da quebra do filme lacrimal devido à sua composição anormal. A deficiência da fração aquosa da lágrima aumenta a osmolaridade lacrimal da película, ocasionando a conjuntivite, a ceratoconjuntivite e a doença corneal progressiva (LIMA, 2008; XIONG et al., 2008).

Como causas secundárias, são descritas as doenças sistêmicas como a cinomose, a toxoplasmose (XIONG et al., 2008), infecções oculares, traumatismo do ducto nasolacrimal, das glândulas lacrimais, trauma cirúrgico do suprimento nervoso das glândulas lacrimais ou seus ductos, hipossecreção temporária em animais velhos submetidos à cirurgia, remoção cirúrgica da glândula lacrimal da terceira pálpebra, deficiências nutricionais como hipovitaminose A, intoxicações como astrágalo, beladona e botulismo, medicações como fenazopiridina, derivados de sulfas e atropina, medicações tóxicas, radiação, doenças auto-imunes e degenerativas como síndrome de disautonomia, neoplasias e origem idiopática (CARVALHO; SILVA, 1989; BIRCHARD; BOJRAB; TOMLISON, 1996; STADES, et al., 1999; STELLA, 1999; CARNEIRO FILHO, 2004; VAN DER WOERDT, 2006).

Um estudo descreveu a presença de ceratoconjuntivite seca em 2,8% dos cães com leishmaniose. Uma das causas deste distúrbio pode ser a infiltração inflamatória localizada em torno dos ductos das glândulas lacrimais, produzindo assim um acúmulo e retenção de secreção. A glândula de Meibômio foi a mais

afetada pela infiltração. Foram obtidas amostras dos olhos dos animais que tiveram os sinais clínicos compatíveis com CCS, onde foram observados a presença de infiltrações inflamatórias e parasitas no local (NARANJO et. al., 2005).

Animais com endocrinopatias como o hipotireoidismo e diabetes melitus são também predispostos a ceratoconjuntivite seca (VAN DER WOERDT, 2006). Os sinais clínicos do hipotireoidismo refletem os efeitos generalizados da redução das funções metabólicas celulares causados por deficiência do hormônio tireóide. As manifestações oculares do hipotireoidismo canino são raras e parecem se associar à hiperlipidemia (BIRCHARD; SHERDING, 1998).

A CCS pode ocorrer mesmo quando a produção da porção lacrimal aquosa encontra-se normal. Neste caso, a anormalidade se encontra na produção da camada lipídica, que proporciona a evaporação da camada aquosa, ou alterações na produção de mucina, que também pode levar à desestabilização do filme lacrimal (DAVIDSON; KUONEN, 2004; CAVALLET, 2007; LIMA, 2008).

Davidson e Kuonen (2004) ainda relataram que as moléculas lipídicas da camada externa do FLP quando alteradas podem ser tóxicas à córnea e que na presença de blefarites, a produção deste componente do FLP encontra-se prejudicada, o que desencadeia a deficiência lacrimal qualitativa e ceratopatia, podendo ainda desencadear a desestabilização do filme lacrimal.

Xiong et al. (2008), relatam os hormônios sexuais sendo um dos fatores etiológicos da CCS, onde relatam que o baixo percentual de andrógeno propicia o processo inflamatório nas glândulas lacrimais, já que os andrógenos tem participação na função da glândula lacrimal e glândula de Meibômio e acredita-se serem indutores de ocitocinas anti-inflamatórias nas glândulas lacrimais .

2.3.2 Sinais clínicos

Os sinais clínicos variam com a gravidade e a duração da CCS. Geralmente os animais afetados apresentam conjuntivite recidivante, dor, ceratite, ceratite ulcerativa e geralmente evoluem para cegueira (GONÇALVES, 1979; PIGATTO et al., 2007; HERRERA, 2008).

O sinal mais marcante é a presença de exsudato ocular espesso, aderente, mucóide ou purulento, recobrando a córnea e acumulando-se no fundo do saco conjuntival e tecidos perioculares. A presença de exsudato ocular purulento

indica inflamação supurativa por infecção bacteriana (TAFFAREL; CAVALCANTE; CUNHA, 2002; CARNEIRO FILHO, 2004).

Com o passar do tempo, o quadro torna-se crônico, a mucosa torna-se espessa, hiperêmica, com superfícies irregulares, secas, opacas e sem o brilho natural (GONÇALVES, 1979; PIGATTO et al., 2007; HERRERA, 2008).

Segundo Defante Júnior (2006), a conjuntiva quando inflamada pode encontrar-se hiperêmica, quemótica ou com placas queratinizadas. A córnea pode apresentar edema, ulceração ou vascularização superficial.

Diante dos sinais clínicos, a CCS pode ser classificada como aguda ou crônica, transitória ou permanente, uni ou bilateral. Na CCS aguda, é comum a ceratite ulcerativa, agravada por presença de *Pseudomonas spp* (VAN DER WOERDT, 2006). No estado crônico, a córnea se torna opaca, com fibrose e vascularização, podendo ocorrer cegueira (Figura 4). Raças com pigmentação do perilímbo e exoftálmicas são propensas à ceratite pigmentada. A irritação causada pela CCS exacerba a melanose corneal, resultando em perda permanente da visão. Os sinais agudos ou crônicos incluem blefaroespasmos, exposição da terceira pálpebra e fotofobia (TAFFAREL; CAVALCANTI; CUNHA, 2002; FRIDMAN et al., 2004).



Figura 4 – Olho esquerdo de um cão com CCS crônica. Observar opacidade da córnea, neovascularização, secreção mucóide e purulenta e blefarite.

Fonte: Rodrigues, 2011

2.3.3 Diagnóstico

A CCS pode ser diagnosticada através do histórico do paciente, dos sinais clínicos observados durante o exame físico e exame oftálmico e da aplicação de testes específicos (VAN DER WOERDT, 2006; KAERCHER; BRON, 2008).

O olho e a região periocular são examinados, inicialmente em ambiente iluminado, verificando-se a presença de alterações mais evidentes, como secreção, hiperemia, edema, alopecia, ferimentos e assimetrias. São também aplicadas provas para verificar a acuidade visual (CARNEIRO FILHO, 2004).

Kaswan e Salisbury (1990) relataram a dificuldade do diagnóstico da CCS, pois geralmente este diagnóstico é realizado de forma tardia ou mesmo confundido com conjuntivite alérgica ou bacteriana, o que leva ao uso crônico de uma ampla variedade de antibióticos tópicos. Assim, segundo Herrera (2008), ocorre uma melhora no início do tratamento, mas, com a interrupção da medicação, a enfermidade evolui com a opacidade corneal grave, resultando em cegueira.

Um dos testes mais utilizados para diagnóstico da CCS é o Teste Lacrimal de Schirmer (TLS), o qual permite avaliar a quantidade de lágrima no saco conjuntival. Este teste consiste na colocação de uma parte de uma fita de papel filtro comercialmente disponível (5 por 35mm) (Figura 5), no saco médio conjuntival da pálpebra inferior, permanecendo durante 5 minutos em humanos e 1 minuto em animais. Após isso, faz-se a leitura, conforme a quantia que o papel filtro apresentou-se umedecido (Figura 6) (BOUNOUS et al., 1998; IZCI et al., 2002; ANDRADE, 2008).

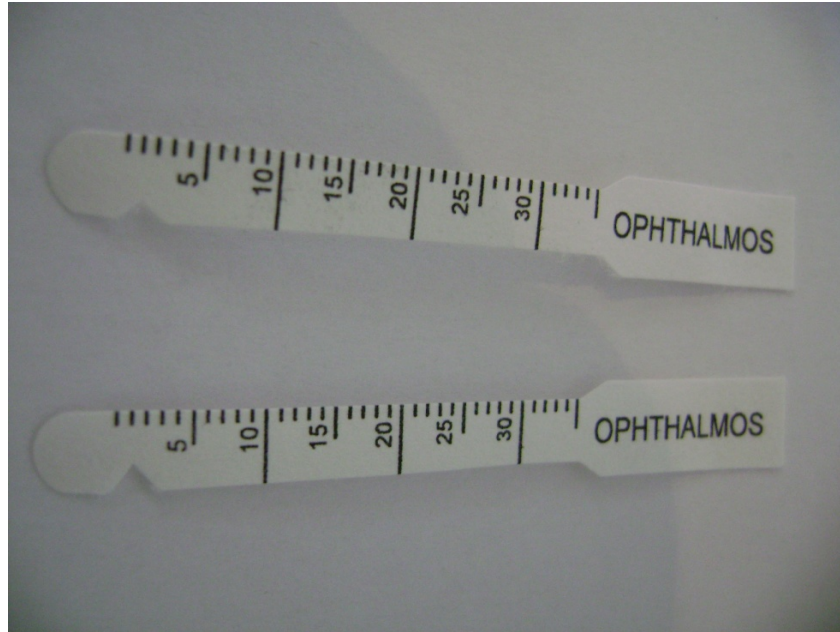


Figura 5 – Tiras para realização do teste lacrimal de Schirmer.
Fonte: Arquivo pessoal



Figura 6 – Realização do teste lacrimal de Schirmer em olho direito de coelho.
Fonte: Arquivo pessoal

Birchard; Bojrab e Tomlison (1996) relataram a necessidade de realizar este teste antes da manipulação excessiva das pálpebras ou anexos e da instilação de soluções (como anestésicos tópicos ou lágrimas artificiais), para que não ocorra falso negativo.

Os valores de referência para o TLS seriam: valores maiores que 25 mm, epífora; valores entre 10 e 25 mm, secreção normal; valores entre 5 e 10 mm,

suspeita de CCS; valores entre 5 e 1 mm, CCS grave e produção igual a 0 mm, CCS absoluta (MAGGS, 2008).

Os valores encontrados por Carvalho et al. (1992) usando o teste modificado de Schirmer com papel filtro Mellita, foram: 1,4 +/- 1,5 mm, CCS; 6,7 +/- 1,0 mm, hiposecreção; 18,0 +/- 3,4 mm, secreção normal e 29,0 +/- 6,7 mm, epífora.

Segundo Andrade, Gonçalves e Magalhães Júnior (2005), os valores médios de produção lacrimal com o uso de papel Mellita, em gatos, variaram entre 11 e 28 mm/minuto, com média geral de 19,54 mm e com o papel Whatman 40, tais valores oscilaram entre 5 e 19 mm/minuto, com média geral de 11,01 mm/minuto.

Além do TLS, pode-se realizar o teste de fluoresceína, instilando-se colírio ou tiras de fluoresceína 1% no olho, com o objetivo de determinar a integridade do epitélio conjuntivo-corneal. Usado somente para identificar presença de úlceras de córnea secundariamente à CCS (CARDOSO et al., 2006). Quando o teste é positivo, as áreas de irregularidade e de desepitelização da superfície corneconjuntival serão coradas (Figura 7) (VAUGHAN; ASBURY, 1990; ANDRADE, 2008).

Outro teste utilizado é o Teste de Rosa Bengala (TRB), que é um corante de cor rosa forte, onde após prévia instilação de colírio anestésico, faz-se a instilação de colírio ou tiras de rosa bengala, que cora áreas de descontinuidade do filme lacrimal, ou seja, células mortas, degeneradas, filamentos mucosos e também células saudáveis não protegidas pelo filme lacrimal (CARDOSO, et. al., 2006). Sua grande indicação é demonstrar as alterações epiteliais que ocorrem na CCS (Figura 8) (BRASIL et al., 2005).

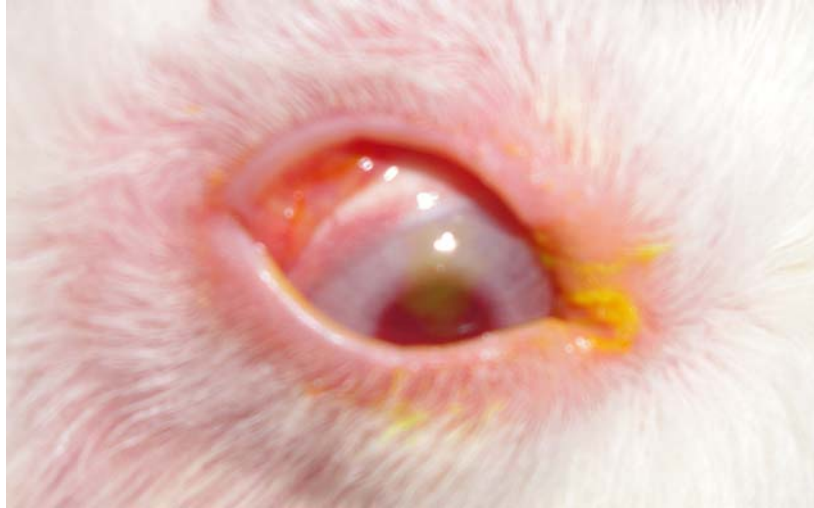


FIGURA 7 – Teste de fluoresceína realizado em olho direito de coelho, evidenciando úlcera.

Fonte: Arquivo pessoal

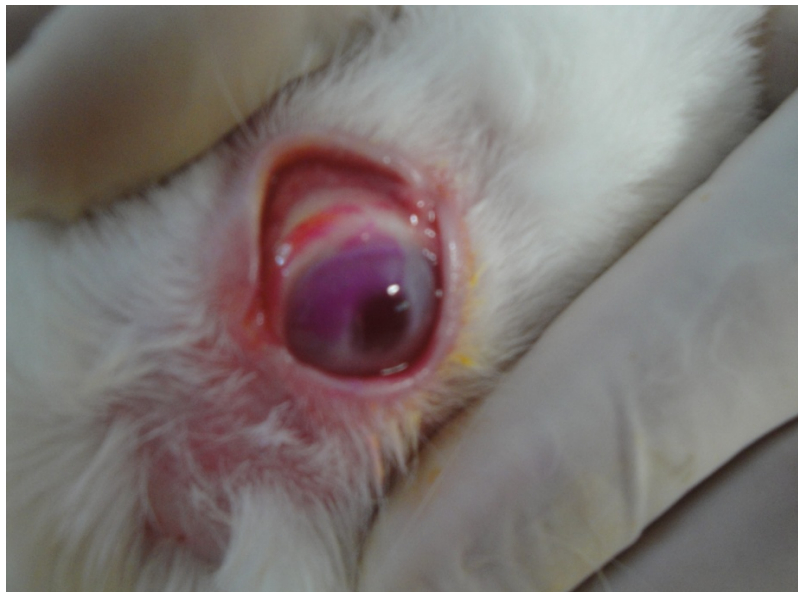


Figura 8 – Teste de rosa Bengala realizado em olho esquerdo de coelho evidenciando presença de células desvitalizadas.

Fonte: Arquivo pessoal

Outro teste de integridade do filme lacrimal é o seu tempo de quebra do filme lacrimal. A camada de mucina do filme lacrimal pré-ocular potencializa a manutenção de um filme lacrimal confluyente, enquanto uma deficiência de mucina acelera o tempo de dispersão do filme lacrimal. A visualização do filme lacrimal é melhorada com a instilação de uma gota de solução de fluoresceína e uma magnificação biomicroscópica em lâmpada de fenda. Nesse procedimento, retraem-se as pálpebras e registra-se o tempo do último piscar até a aparição de “ilhas”

destituídas de lágrimas na córnea. O tempo médio normalmente é de 25 segundos ou mais. Os tempos abaixo de 20 segundos são indicativos de uma deficiência na camada de mucina do filme lacrimal pré-ocular (BIRCHARD; BOJRAD; TOMLISON, 1996).

O exame de citologia esfoliativa (CE) também auxilia no diagnóstico da CCS. Deve-se obter amostras citológicas a partir da conjuntiva palpebral e córnea, coletando amostras com um swabe estéril umedecido em solução fisiológica da conjuntiva (nasal superior, nasal inferior, lateral superior, lateral inferior) e córnea (Figura 9A), após instilação prévia de colírio anestésico. A face medial da superfície conjuntival é naturalmente rica em células conjuntivais e deve ser evitada na coleta de amostras. Após isto, transferem-se suavemente as amostras colhidas para uma lâmina de vidro (Figura 9B). Encontram-se vários corantes especiais, embora o May-Grunwald-Giemsa (MGG) e o Gram sejam suficientes. Uma amostra normal contém ocasionalmente células caliciformes. É normal a presença de uns poucos neutrófilos e bactérias. As células epiteliais queratinizadas predominam tipicamente na CCS crônica, junto com um número aumentado de células caliciformes. A biópsia da glândula lacrimal ou da glândula lacrimal acessória pode também ajudar na determinação de um diagnóstico citológico (BIRCHARD; BOJRAD; TOMLISON, 1996; BARROS et al., 2001; MOORE et al., 2001).

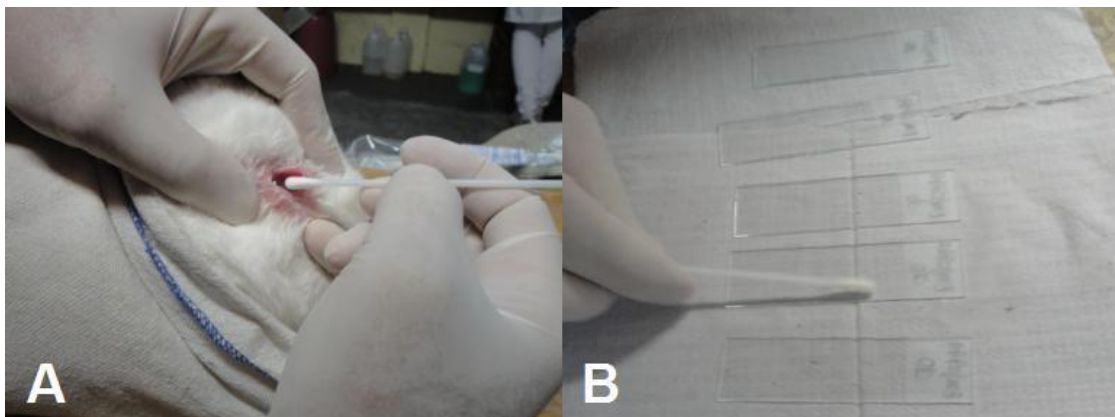


Figura 9 – Citologia Esfoliativa. A. Coleta do material. B. Transferência do material para as lâminas.

Fonte: Arquivo pessoal

Algumas doenças podem servir como parâmetro para um diagnóstico diferencial da CCS, tais como: opacidade corneal congênita, distúrbios metabólicos,

distrofia endotelial, uveíte, glaucoma, neoplasia e raramente episclerite (TAFFAREL; CAVALCANTE; CUNHA, 2002; CARNEIRO FILHO, 2004).

2.3.4 Tratamento

O tratamento para os portadores da CCS deve, antes de tudo, levar em consideração a etiologia e a severidade do quadro (PINHEIRO-JÚNIOR et al., 2007). O tratamento pode ser clínico ou cirúrgico, sendo que os objetivos do tratamento clínico incluem estabelecer a umidade dos tecidos oculares ressecados e tratar transtornos secundários como conjuntivite bacteriana, ceratite e ceratite ulcerativa. Deve-se tentar o tratamento clínico antes do tratamento cirúrgico (SEVERIN, 1995; MILLER, 2008).

A terapia tópica da CCS consiste basicamente em 6 pontos: 1. Substitutos lacrimais: uso de lágrimas artificiais ou mucinas sintéticas; 2. Estimulação da secreção lacrimal: uso de substâncias lacrimoestimulantes como a pilocarpina que é uma droga parassimpatomimética; 3. Tratamento da infecção secundária: uso de antibióticos tópicos como a gentamicina, tobramicina e cloranfenicol; 4. Diminuição do processo inflamatório: uso de antiinflamatórios tópicos, principalmente os corticosteróides, com exceção dos casos com úlceras de córnea; 5. Imunossupressores: principalmente nas CCS imunomediadas, com uso de ciclosporina, pimecrolimus ou tacrolimus tópico; 6. Inibição do excesso de muco e colagenase: acetilcisteína (MILLER, 2008).

Os agentes imunossupressores por via tópica são muito utilizados no tratamento da CCS imunomediada tanto em cães como em humanos, sendo a ciclosporina o primeiro imunossupressor a ser utilizado e, mais recentemente, o pimecrolimus e tacrolimus (IZCI et al., 2002; BERDOULAY; ENGLISH; NALDELSTEIN, 2005; NELL et al., 2005; ANDRADE, 2008; RONCONE; BARTLETT; EPERJESI 2010).

A ciclosporina pode auxiliar na reversão da destruição imunomediada da glândula lacrimal e aumentar o lacrimejamento em animais com paralisia do nervo facial, intoxicação por sulfonamidas e remoção da glândula nictitante (MOORE et al., 2001, BERDOULAY; BARTLETT; EPERJESI, 2005,). A ciclosporina suprime a ativação de linfócitos T pela redução da produção de interleucina-2 (IL-2) e seus receptores (MOORE et al., 2001; IZCI et al., 2002; BERDOULAY; BARTLETT;

EPERJESI, 2005). A ciclosporina é um potente imunomodulador que atua seletivamente no local quando administrado na superfície ocular, e não é metabolizado nos olhos dos coelhos e dos cães. Nenhuma toxicidade sistêmica ou ocular foi encontrada com o uso prolongado de ciclosporina a 0,4%, seis vezes ao dia, durante seis meses, em coelhos e, por um ano, em cães (ciclosporina 0,05% duas vezes ao dia é o suficiente para imunomodulação). Isto porque o estroma é composto de água e é uma barreira efetiva contra a penetração da ciclosporina, emulsão de água-óleo de peroba, promovendo uma alta concentração na superfície ocular e baixa no tecido intraocular. A emulsão de ciclosporina diminui a evaporação da lágrima e diminui a infecção ocular secundária (MOORE et al., 2001).

No estudo de Nell et al. (2005), avaliou-se o uso de pimecrolimus como uma alternativa de tratamento para CCS. É um novo derivado da ascomicina que interfere seletivamente na ativação das células T e mastócitos, e inibe a produção de citocinas inflamatórias (uma ação semelhante à da ciclosporina). O tratamento foi efetivo na maioria dos animais, mas alguns animais não toleraram a formulação oftálmica de pimecrolimus 1% em base óleo de milho. Mesmo assim, os autores acreditam na superioridade do pimecrolimus sobre a ciclosporina, porque seu potencial intrínseco é maior, assim como sua permeabilidade tecidual devido ao seu baixo peso molecular.

Outra substância estudada foi o tacrolimus (FK 506), um antibiótico macrolídeo isolado do *Streptomyces tsukubaensis* que tem uma ação imunomodulador similar à da ciclosporina (MILLER, 2008). Os resultados de Berdoulay, Bartlett e Eperjesi (2005) sugerem que o uso de tacrolimus 0,02% em suspensão aquosa é efetivo em cães com CCS, melhorando os sinais clínicos gerais. A produção de lágrima aumentou em até 96%, após a administração tópica de tacrolimus, onde foi demonstrado ser mais potente do que a ciclosporina na inibição de produtos inflamatórios. E muitos proprietários preferiram a suspensão aquosa do tacrolimus à pomada em base óleo da ciclosporina. Além disso, o uso associado de tacrolimus e ciclosporina em casos refratários parece ser uma alternativa excelente, já que parece haver um sinergismo entre os dois medicamentos na supressão de células T *in vitro*.

Kirk (1984), Severin (1995), Pickett (2001) e Andrade (2008) relataram o uso de associações de substâncias em formulações oftálmicas tópicas, entre elas, o álcool povinílico, a pilocarpina e a acetilcisteína.

2.3.4.1 Formulações oftálmicas

Devido ao alto custo das substâncias imunossupressoras, pode-se fazer uso de formulações tópicas, utilizando álcool povinílico (substituto aquoso da lágrima, que estabiliza a película lacrimal pré-corneal e impede a sua ruptura), associado à acetilcisteína 10% (agente anticolagenolítico, devido à sua ação mucolítica) e pilocarpina 1% (pelo seu efeito lacrimoestimulante), em sua composição (SEVERIN, 1995; PICKETT 2001; ANDRADE, 2008).

A proporção geralmente usada é 3,5 ml de álcool povinílico 1,4%, 3,5 ml de acetilcisteína 10% e 1 ml de pilocarpina 1% (SEVERIN, 1995; PICKETT 2001; ANDRADE, 2008). Esta formulação vem sendo usada há vários anos pela medicina veterinária e é uma alternativa para proprietários carentes que não tem condições de usar imunossupressores de custo mais elevado (ANDRADE, 2008).

Kirk (1984) relatou a seguinte proporção da formulação oftálmica, onde uma mistura inicial satisfatória de 2 centímetros cúbicos (cc) de pilocarpina a 2%, adicionado a 7 cc de acetilcisteína a 10% e 7 cc de lágrima artificial misturados, perfaziam 16 cc de colírio.

Pickett (2001) também relatou o uso da formulação oftálmica na proporção de 15 ml de substituto lacrimal, 2-4 ml de acetilcisteína 2%, 2 ml de cloranfenicol injetável 100 mg/ml e 2 ml de pilocarpina 2%. Ressalta-se ainda que como esses pacientes necessitam de tratamento crônico, o uso de antibióticos deve ser feito com cautela para evitar possíveis resistências bacterianas.

Além disso, pode-se fazer uso de antiinflamatórios esteroidais e não esteroidais (ANDRADE, 2008; MILLER, 2008; ANDRADE; BRAVO; FUKUI, 2010).

O álcool povinílico é uma resina hidrofílica sintética, levemente viscosa, possuindo boas propriedades aderentes à córnea, capaz de garantir uma película líquida sobre a córnea, que se mantém íntegra durante certo tempo, atendendo a umectação e a hidratação da superfície ocular, impedindo sua ruptura (ADAMS, 2003). Disponível em soluções a 1,4%, o álcool povinílico é o integrante primário em certo número de produtos de lágrima artificial (ADAMS, 2003).

A pilocarpina é um alcalóide existente nas folhas do *Pilocarpus jaborandi*. Trata-se de um colinérgico direto, predominantemente muscarínico, cujos efeitos são comparáveis aos da acetilcolina. Sobressaem-se os efeitos sobre as glândulas sudoríparas, salivares e gástricas (SILVA, 1994).

Segundo Adams (2003), as secreções das glândulas lacrimais podem ser aumentadas pelo estímulo parassimpático, utilizando-se agentes colinérgicos tópicos ou orais. A pilocarpina foi mais usada com este objetivo. Uma resposta positiva depende da presença de tecido lacrimal funcional. Após a comprovação da eficácia da ciclosporina, a pilocarpina é usada com uma menor frequência como terapia estimulante primária da CCS.

Segundo Salisbury e Bonagura (1997), o uso da pilocarpina é contra-indicado em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva, pancreatite e diarreia crônica. Pode ser usada também por via oral, principalmente na síndrome de Sjögren humana com disfunção também na glândula salivar.

Há relatos de que, além do seu efeito lacrimoestimulante, a pilocarpina possa provocar irritação ocular, caracterizada por hiperemia conjuntival e blefaroespasma (ANDRADE, 2008). Segundo Spinosa, Górnjak e Bernardi (2011), para evitar a irritação local, a solução oftálmica pode ser administrada por via oral, junto com a comida, na dose de uma a duas gotas a 1 a 2%, para cada 15kg de peso do animal.

A fórmula deve ter o pH ajustado para 7,4 e ser mantida sob refrigeração . Aplica-se 8 vezes ao dia no início, decrescendo a frequência progressivamente (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011).

Foi relatado o efeito tópico da pilocarpina colírio em várias concentrações (0,25, 1 ou 2%), na produção lacrimal de cães, concluindo que não houve alteração significativa na produção lacrimal. Porém, a frequência de instilação realizada neste estudo foi nos dias 4, 6 e 8, sendo considerada baixa e ser responsável pelos resultados obtidos (SMITH; BUYUKMIHCI; FARVER, 1994).

A acetilcisteína possui propriedade anticolagenolítica e mucolítica e tem sido bastante empregada na oftalmologia veterinária para o tratamento da CCS. A colagenase excessiva produzida pelo tecido epitelial e estromal, por células inflamatórias e bactérias da superfície ocular, é destrutiva ao colágeno estromal e pode contribuir para a ulceração progressiva da córnea e perfuração (ADAMS, 2003).

O muco desnaturado alberga microorganismos e debris superficiais e perde suas propriedades viscoelásticas, tornando-se persistente e inibindo a limpeza e a lubrificação ocular normais. Como os grupos sulfidril livres reduzem a

viscosidade das mucoproteínas, aumentando-se as concentrações de acetilcisteína, diminui-se a viscosidade do muco (ADAMS, 2003).

Segundo Spinosa, Górnjak e Bernardi (2011), as soluções contendo acetilcisteína podem ser estocadas à temperatura ambiente, sem diminuição da eficácia. A atividade anticolagenolítica da acetilcisteína não é afetada associando-se esta com a pilocarpina, a atropina, a gentamicina e as lágrimas artificiais. Todavia, as preparações associando cloranfenicol e acetilcisteína são menos estáveis e apresentam atividade anticolagenolítica reduzida.

A administração frequente de soluções de acetilcisteína pode ser irritante à superfície ocular. Uma solução de acetilcisteína a 5% parece ser bem tolerada nos olhos das espécies domésticas, com frequências que não excedem quatro vezes ao dia, por alguns dias (ADAMS, 2003).

2.3.4.2 Óleo de semente de linhaça

A linhaça é a semente do linho (*Linum usitatissimum*), pertencente à família Linacea, caracterizada por apresentar uma altura entre 30 e 130 cm, talos eretos e folhas estreitas com coloração alternando entre verde e verde escuro. As folhas podem apresentar-se azuis, vermelhas ou brancas, florescendo no verão. O fruto parece uma cápsula globosa, de cor amarronzada, da qual saem as sementes brilhantes e planas para o uso medicinal (CREDIDO, 2008).

É uma planta originária da Ásia, estando amplamente distribuída pelo mundo e cresce sobre terrenos cultivados, terra planados, sendo em muitos países cultivada com a finalidade industrial e medicinal (CREDIDO, 2008).

A semente de linhaça é considerada um nutracêutico, que é um alimento que proporciona benefícios médicos e de saúde, incluindo a prevenção ou tratamento de uma doença (HASSAN-ZADEH; SAHARI; BARZEGAR, 2009).

A semente de linhaça é composta em média por 57% de ácidos graxos (AG) ômega 3, 16% de ômega 6, 18% de ácido graxo monoinsaturado e somente 9% de ácidos graxos insaturados (OOHMA, 2001; HASSAN-ZADEH; SAHARI; BARZEGAR, 2009).

O óleo de semente de linhaça (OSL) é considerado atualmente uma das maiores fontes de ácidos graxos essenciais do tipo ômega-3 e ômega-6,

possuindo em média três vezes mais concentração de ômega-3 e ômega-6 do que outras fontes (HASSAN-ZADEH; SAHARI; BARZEGAR, 2009).

A linhaça apresenta uma alta concentração de proteínas e vitaminas, além de possuir excelente qualidade de gorduras. Além disso, a linhaça é a semente mais rica em ômega-3 (ácido alfa-linolênico- ALA) e é a maior fonte alimentar de lignanas, que ao se ligar a receptores celulares, funcionam como um falso hormônio, o fitoestrógeno, que atua na redução de tumores de mama por inibir a transformação de células iniciais em células neoplásicas (HASSAN-ZADEH; SAHARI; BARZEGAR, 2009).

Há um grande interesse no estudo sobre a linhaça e seus benefícios terapêuticos. A CCS já está sendo tratada com o OSL e, segundo Pinheiro-Júnior et al. (2007), há uma melhora da secreção meibomiana; melhora na qualidade da secreção lacrimal e diminuição da evaporação; otimização funcional das células caliciformes, com consequente melhora da secreção de mucina, o que muda a natureza hidrofóbica do epitélio da superfície ocular, tornando-a hidrofílica e permitindo melhor lubrificação e nutrição; melhora a adesão dos microvilos das células epiteliais.

Vários autores relataram os efeitos benéficos do OSL, principalmente os efeitos imunomodulador e antiinflamatório (PINHEIRO-JÚNIOR et al., 2007; MARTINS et al., 2008; HASSA-ZADEH; SAHARI; BARZEGAR, 2009). No efeito modulador, o óleo de semente de linhaça inibe a interleucina-1 (IL-1), que por sua vez inibe a produção e liberação do fator de necrose tumoral (TNF) por macrófagos suprimindo sua função acessória de ativar os linfócitos T através da redução da expressão da molécula do complexo de histocompatibilidade (MHC) classe II (RASHID et al., 2008).

No efeito anti-inflamatório, a enzima delta-6-dessaturase está envolvida no metabolismo tanto do ω -3 quanto do ω -6. O ω -6 pode sofrer ação de duas enzimas: a cicloxigenase (COX) que irá dar origem a mediadores químicos antiinflamatórios (Série 1 – prostaglandinas (PG) e leucotrienos (LT)) e da enzima delta-6-dessaturase, formando mediadores pró-inflamatórios (Série 2 – LT, PG e tromboxanos - TX). Já o ω -3 sofre ação da delta-6-dessaturase formando mediadores pouco efetivos na inflamação (Série 3 – PG e TX e Série 5 – LT) (Figura 10) (PINHEIRO-JÚNIOR et al., 2007; MARTINS et al., 2008; HASSAN-ZADEH; SAHARI; BARZEGAR, 2009).

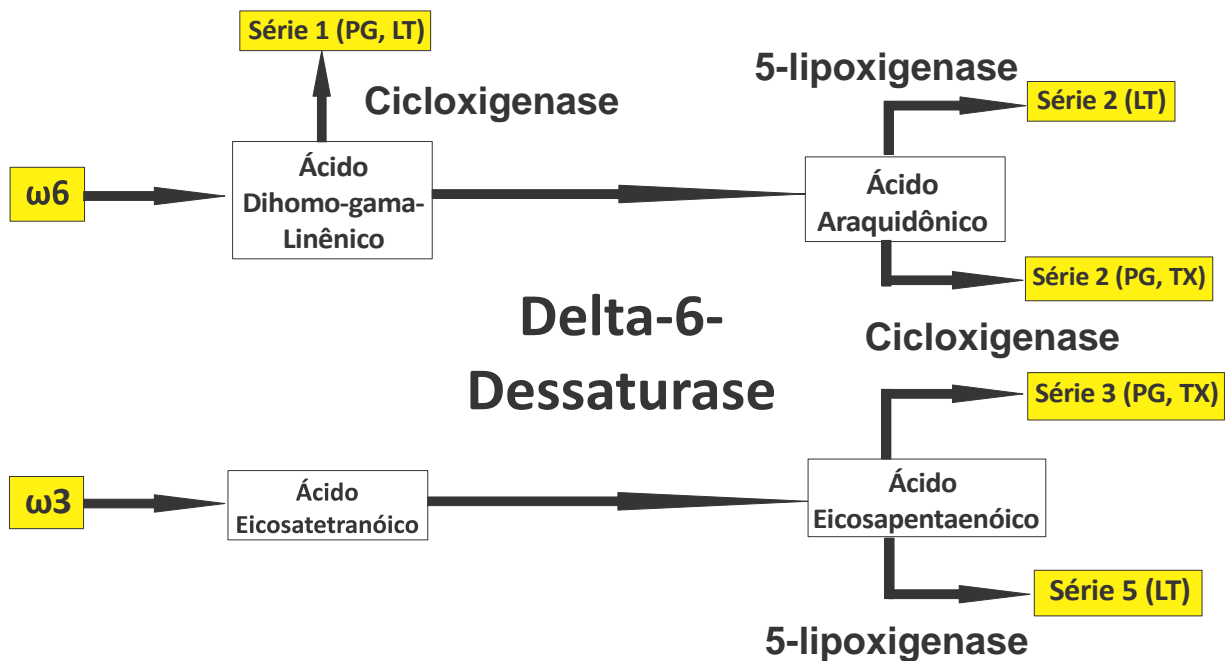


Figura 10 – Biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados.
Fonte: Arquivo pessoal.

A enzima delta-6-dessatura participa do metabolismo de ambos o ômega, tendo maior afinidade pelo ω -3, fator pelo qual causa um desvio metabólico fazendo com que a ácido dihomo-gama-linolênico (ADGL) deixe de formar ácido araquidônico (AA), que dará origem à PG da série 2 (pró-inflamatória) para formar PG da série 1 (fisiológica/antiinflamatória). Esse acúmulo de ômega 6 faz com que a enzima cicloxigenase atue formando mediadores da série 1, apenas. Outro fator envolvido neste desvio metabólico é que por a enzima ter mais afinidade pelo ω -3, esta molécula estará sendo convertida em prostagandina-3, tromboxano-3 e leucotrieno-5, moléculas pouco efetivas no processo inflamatório (Figura 11) (PINHEIRO-JÚNIOR et al., 2007; MARTINS et al., 2008; HASSAN-ZADEH; SAHARI; BARZEGAR, 2009).

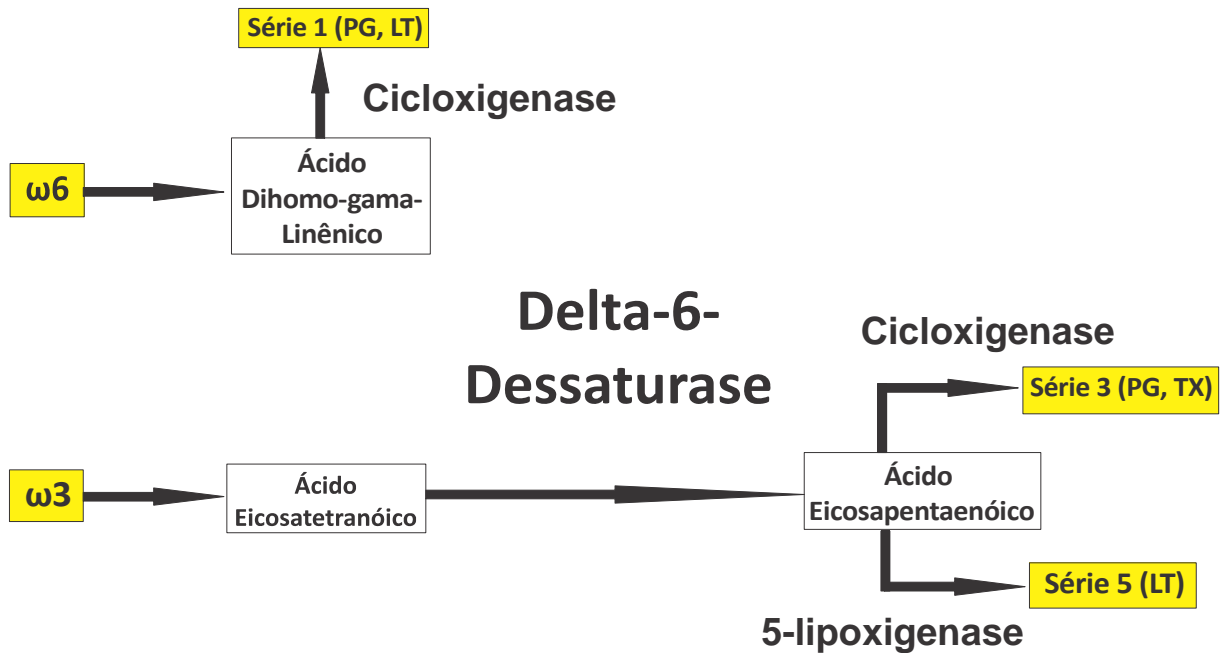


Figura 11 – Biossíntese de ácidos graxos poli-insaturados.
Fonte: Arquivo pessoal

A relação ideal entre ômega 3 e ômega 6 é de 1:4, respectivamente; o óleo de linhaça apresenta uma relação de 1:3, muito próxima do ideal (OOHMA, 2001; HASSAN-ZADEH; SAHARI; BARZEGAR, 2009). Por isso, quando os ômegas são ingeridos na proporção ideal (1:4), causam um desvio metabólico, tendo portanto, uma maior produção de mediadores anti-inflamatórios da série 1 e redução da produção dos mediadores da série 2, diminuindo assim o processo inflamatório (PINHEIRO-JÚNIOR et al., 2007; MARTINS et al., 2008; HASSA-ZADEH; SAHARI; BARZEGAR, 2009).

Pinheiro-Júnior et al. (2007) estudaram o uso de óleo de linhaça no tratamento de portadores de diversas formas de deficiência lacrimal, ligadas à síndrome de Sjögren, que afeta mais mulheres e idosos. Estes pacientes apresentam também ressecamento oral, por deficiência das glândulas produtoras de saliva e alterações reumatológicas. Neste estudo, concluiu-se que o uso de óleo de linhaça em cápsulas de 1 ou 2 g/dia, reduz a inflamação da superfície ocular avaliada pela citologia de impressão e melhora os sintomas de olho seco. O benefício do óleo de linhaça no tratamento de olho seco pode ser explicado pelo aumento local das prostaglandinas tipo 1 no filme lacrimal (BARABINO et al., 2003).

Em um trabalho em humanos sobre a ingestão de três formas de linhaça, observou-se que a ingestão de óleo de linhaça e linhaça moída aumenta

significativamente o nível do ácido alfa-linolênico no plasma, mas isso não acontece quando há ingestão da linhaça inteira. A linhaça inteira e óleo de linhaça podem induzir distúrbios gastrointestinais, o que não é significativo com a linhaça moída. Concluem que a linhaça moída é a forma que menos induz distúrbios gastrointestinais e a que mais aumenta o ácido alfa-linolênico no corpo (AUSTRIA et al., 2008).

REFERÊNCIAS

ADAMS, H. R. Áreas específicas da farmacologia. In: ADAMS, H. R. **Farmacologia terapêutica em veterinária**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p. 935-936.

AMARAL, A. V. C. **Estudo clínico e histológico das pálpebras, conjuntiva e córnea híidas submetidas a tratamento local com soluções anestésicas em coelhos**. 2005. 39f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

ANDRADE, S. F. Terapêutica oftálmica. In: ANDRADE, S.F. **Manual de terapêutica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 179-189.

ANDRADE, S. F.; BRAVO, B.; FUKUI, R. M. Uso de óleo de semente de linhaça por via tópica no tratamento de ceratoconjuntivite seca: relato de caso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA ANCLIVEPA, 31., 2010. **Anais...** Belém do Pará, 2010.

ANDRADE, S. F.; GONÇALVES, I. N.; MAGALHÃES JUNIOR, M. A. Avaliação do Teste de Schirmer com o uso de papel de filtro Mellita e Whatman 40 em gatos clinicamente sadios da região de Presidente Prudente (SP). **Clínica Veterinária**, n. 55, p. 34-36, 2005.

AUSTRIA, J. A. et al. Bioavailability of alpha-linolenic acid in subjects after ingestion of three different forms of flaxseed. **Journal American College Nutrition**, v.27, n. 2, p. 214-21, 2008.

BARABINO, S. et al. Systemic linoleic and y-linolenic acid therapy in dry eye syndrome with and inflammatory component. Lippincott Williams & Wilkins, Inc., Philadelphia. **Cornea** , v. 22, n. 2, p. 97–101, 2003.

BARBOSA, E. B. **Avaliação oftalmológica e laboratorial de coelhos híidos tratados com os colírios Dorzolamida a 2% e Latanoprost a 0,005%**. 2007. 60 f. Dissertação (Mestrado em Clínica e Cirurgia Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

BARROS J. N. et al. Citologia de impressão da superfície ocular: técnica de exame e de coloração. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 64, n. 2, p. 127-31, 2001.

BERDOULAY, A.; ENGLISH, R. V.; NALDELSTEIN, B. Effect of topical 0,02% tacrolimus aqueous suspension on tear productin in dog with keratoconjunctitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v.8, n. 4, p.225-232. 2005.

BIRCHARD, S. J.; BOJRAB, M. J. TOMLISON, J. L. **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Roca, 1996, cap 8, p. 83- 90.

BRASIL, M. V. O. et al. Análise do filme lacrimal e sua relação com a largura da fenda palpebral e a exoftalmia na oftalmopatia de Graves. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, São Paulo, v.68, n. 5, set./out., 2005.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual saunders, clínica de pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Roca, 1998. Seção 11, cap. 9.

BOUNOUS D. I. et al. Conjunctival impression cytology from dogs with keratoconjunctivitis sicca. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 438, p. 997-1000. 1998.

BOLZAN, A. A. et al. Conjuntival impression cytology in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, n. 6, p.401-405. 2005.

CARCIOFI, A. C.; BAZOLLI, R. S.; PRADA, F. Ácidos graxos poliinsaturados ω -6 e ω -3 na alimentação de cães e gatos. **Revista Educação Continuada CRM-SP**, São Paulo, v.5, n. 3, p. 268. 2002.

CARDOSO, I. H. et al. Avaliação do olho seco no pré e pós-operatório da blefaroplastia. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 69, n. 2, p. 227-232. 2006.

CARNEIRO FILHO, L. **Oftalmologia veterinária**. São Paulo: Roca, 2004.

CARVALHO, C. B. et al. Utilização de papel de filtro como alternativa para avaliação de teste de Schirmer em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 22, n. 3, p. 281-283. 1992.

CARVALHO, C. B.; SILVA, C. F. Aparelho lacrimal dos cães. **A Hora Veterinária**, São Paulo, v. 9, n. 52, p. 30-36, maio/jun., 1989.

CAVALLET, I. C. R. **Ácidos graxos comparados ao Gerioox no tratamento do olho seco por facectomia em cães**. 2007. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

CREDIDO, E. **Linhaça: propriedades nutricionais**. Disponível em <http://www.abran.org.br/inf_artigos/lista.htm. 2006>. Acesso em: 21 set. 2011.

DANTAS FILHO, L.; MENEZES, D. B. Síndrome de Sjögren: Apresentação de um caso. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 61, n. 5, p. 413-417, set./out. 1995.

DAVIDSON, H. J.; KUONEN, V. J. The tear film and ocular mucin (review). **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 2, p. 71-77. 2004.

DEFANTE JUNIOR, A. **A ceratoconjuntivite seca em cães**. 2006. 35 f. Monografia (Especialização em Cirurgia de Pequenos Animais) – Universidade Castelo Branco, Campo Grande.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. Os órgãos do sentido. In: _____. **Tratado de anatomia veterinária**. São Paulo: Manole, 1997. p. 225-235.

FRIDMAN, D. et al. Olho seco: conceitos, história natural e classificação. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 67, p. 181-5. 2004.

GAO, J. S. et al. The role of apoptosis in the pathogenesis of canine keratoconjunctivitis sicca: the effect of topical cyclosporin A therapy. **Cornea**, v. 6, n. 17, p. 654-663, nov. 1998.

GELATT, K. N. **Manual de oftalmologia veterinária**. São Paulo: Manole, 2003, p. 165-252.

GOMES, J. A. P. et al. Modelo experimental de olho seco em coelho. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 57, n. 4, p. 264-69, 1994.

GOMES, J. A. P. Atualização no tratamento das ceratoconjuntivites cicatriciais. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 63, n. 1, 2000.

GONÇALVES, C. P. **Oftalmologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 1979, p. 415–417.

HASSAN-ZADEH, A.; SAHARI, M. A.; BARZEGAR, M. Optimization of the extraction as a functional food from flaxseed. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 59, n.6, p. 526-534, 2009.

HERRERA, D. **Oftalmologia clínica em animais de companhia**. São Paulo: Medvet Livros, 2008. p. 117-122.

HOLMBERG, B. J. Ophthalmology of exotic pets. In: MAGGS D.J.; MILLER P.E.; OFRI, R. **Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology**. 4. ed. St Louis: Elsevier, 2008. p. 427-441.

IZCI C. et al. Histologic characteristics and local cellular immunity of the gland of the third eyelid after topical ophthalmic administration of 2% cyclosporine for treatment of dogs with keratoconjunctivitis sicca. **American Journal Veterinary Research**,; v. 63, p. 688-694. 2002.

KAERCHER, T.; BRON, A. J. Classification nos diagnosis dry eye. **Dev Ophthalmol**, v.41, p. 36-53, 2008.

KASWAN, R. L.; SALISBURY, M. A. A new perspective on canine keratoconjunctivitis sicca. Treatment with ophthalmic cyclosporine. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 3, n. 20, p. 583- 613, May, 1990.

KIRK, R. W. **Atualização terapêutica veterinária pequenos animais**. São Paulo: Manole, 1984.

KLEINNER, J. A. **Tratamento cirurgico da epífora crônica em animais de companhia**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná.

LANI, L. **Segmento anterior do olho-Córnea**. Disponível em: <<http://www.coll.med.br/leia.php?id=24>>. Acesso em: 13 out. 2011

LICHTHÄLER, A. G. **Efeito comparativo de dietas ricas em linhaça marrom e dourada no Câncer de mama**. 2009. 77f. Dissertação (Mestrado em Nutrição em Saúde Animal) – Faculdade de Saúde Pública – Universidade de São Paulo, São Paulo.

LIMA, A. M. V. **Produção lacrimal e densidade de células calciformes conjuntivais em cães da raça Shih-Tzu**. 2008. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás. Goiânia.

MAGGS, D. J. Basic diagnostic techniques. In: MAGGS D.J.; MILLER P.E.; OFRI, R. **Slatter's fundamentas of veterinary ophthalmology**. 4. ed. St Louis: Elsevier, 2008. p. 81-106.

MARTINS, M. B. et al. Propriedades dos ácidos graxos poliinsaturados – Ômega 3 obtidos de óleo de peixe e óleo de linhaça. **Revista Institucional das Ciências da Saúde**, v. 26, n. 2, p.153-156, 2008.

MILLER, P. E. Lacrimal system. In: MAGGS, D.J., MILLER, P.E., OFRI, R. **Slatter's fundamentas of veterinary ophthalmology**. 4. ed. St Louis: Elsevier, 2008. p. 157-174.

MOORE C. P. et al. Effect of cyclosporine on conjunctival mucin in a canine Keratoconjunctivitis Sicca Model. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 42, p. 653-659, 2001.

NARANJO, C. F. et al. Characterization of lacrimal gland lesions and possible pathogenic mechanisms of keratoconjunctivitis sicca in dogs with leishmaniosis. **Veterinary parasitology**, v. 1, n. 133, p. 37-47, Oct., 2005.

NELL, B. et al. The effect of topical pimecrolimus on keratoconjunctivitis sicca and chronic superficial keratitis in dogs: results from an exploratory study. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, p. 39-46. 2005.

OOMAH, B. D. Flaxseed as functional source. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.81, p. 889-894. 2001.

PIGATTO, J. A. T. et al. Ceratoconjuntivite seca em cães e gatos. **Acta Scientiae Veterinarie**, v. 35 (Supl. 2), p. s250-s251, 2007.

PICKETT, J. P. **Up date on veterinary ophthalmology**. Associate Professor, Ophthalmology Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine. Disponível em: < <http://www.dcvvm.org/01sep.htm>>. Acesso em: 02 nov. 2010.

PINHEIRO JÚNIOR, M. N. et al. Uso oral do óleo de linhaça (*Linum usitatissimum*) no tratamento do olho seco de pacientes portadores da síndrome de Sjögren. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 70, n. 4, p. 649-655. 2007.

RASHID, S. et al. Topical omega-3 and omega-6 fatty acids for treatment of dry eye. **Archives of Ophthalmology**, v. 126, p. 210-225, 2008.

RODRIGUES, L. **Ceratoconjuntivite seca em cães**. Disponível em <http://kennelveterinaria.com.br/dicas.php?news_not_pk=24>. Acesso em: 17 set. 2011.

RONCONE M.; BARTLETT H.; EPERJESI, F. Essential fatty acids for dry eye: A review. **Contact Lens & Anterior Eye**, v. 33, p. 49-54. 2010.

SALISBURY, M. A.; BONAGURA, J. D. Queratoconjuntivitis seca. **Terapêutica veterinária de pequenos animais**. 12. ed. Santiago Acahualtepec: Mcgraw-hill Interamericana, 1997. p. 1329-1337.

SAMPAIO, R. L. **Avaliação clínica, histopatológica e imunohistoquímica de córneas tratadas por ceretoplastia com membrana amniótica xenóloga a fresco e conservada em glicerina. Estudo experimental em coelhos**. 2004. 212 f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

SEVERIN, G. A. **Severin's Veterinary ophthalmology notes**. 3. ed. [S.l.:s.n.], 1995., 546p.

SILVA, P. Colinérgicos e anticolinérgicos. In: SILVA, P. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p. 262.

SLATTER, D. **Fundamentals of veterinary ophthalmology**. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2001. 340 p.

SMITH E. M.; BUYUKMIHCI N. C.; FARVER T. B. Effect of topical pilocarpine treatment on tear production in dogs. **Journal of Veterinary Medical Association**, v. 205, p. 1286-1289. 1994.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. Farmacologia oftalmológica. In: **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 713.

STADES, F. C. et al. Aparelho lacrimal. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. São Paulo: Manole, 1999. p. 54-58.

STELLA, J. M., **Os métodos de diagnósticos e tratamento mais utilizados nas oftalmopatias em cães e gatos no Hospital de São Bernardo**. 1999. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Campo Grande, 1999.

TAFFAREL, M. O.; CAVALCANTE, C. Z.; CUNHA, O. Ceratoconjuntivite seca. **Revista Nosso Clínico**, São Paulo, v 5, n. 28, p. 6-12, jul./ago., 2002.

VAN DER WOERDT, A. **Keratoconjunctivitis sicca (KCS) in dogs**. 2006. Disponível em: <<http://www.petplace.com/dogs/keratoconjunctivitis-sicca-kcs-in-dogs/page1.a.spx>>. Acesso em: 15 jun. 2011.

VAUGHAN, D.; ASBURY, T. **Oftalmologia geral**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1990, p. 15 – 33.

WILKIE, D. A. Management of keratoconjunctivitis sicca in dogs. In: GLAZE, M. B. **The compendium collection: ophthalmology in small animal practice**. 2. ed. New Jersey: Veterinary Learning Systems, 1996. p.234-238.

WILLIAMS, D. Rabbit and rodent ophthalmology. **ESCAP**. v. 17, n. 3, Dec., 2007.

XIONG, C. et al. A rabbit dry model induced by topical medication of a preservative benzalkonium chloride. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 49, n. 5, May. 2008.

ARTIGO CIENTÍFICO

Comparação de dois protocolos de tratamento de ceratoconjuntivite seca experimentalmente induzida em coelhos

D. A. Motta¹, L. Yamasaki², O. C. Sanches², R. Giuffrida³, C. S. G. Pereira³, E. R. Cândido³, J. E. Góes³, T. L. A. Rocha³, D. A. Silva³, M. C. A. Silva⁴, K. M. Bass⁴, S. F. Andrade^{5*}

¹Mestrado em Ciência Animal – Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE)

²Departamento de Anatomia Patológica – Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE)

³Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE)

⁴Hospital Veterinário – Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE)

⁵Departamento de Clínica Médica de Pequenos Animais – Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Rodovia Raposos Tavares, Km 572, CEP 19001-970, Presidente Prudente, SP, Brasil

*Autor para correspondência (*correspondig author*)

E-mail: silviafranco@unoeste.br

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar e comparar a eficácia de dois protocolos de tratamento de ceratoconjuntivite seca (CCS) experimentalmente induzida em coelhos, uma formulação oftálmica tópica composta por álcool povinílico 1,4% adicionado com acetilcisteína 10% e pilocarpina 1% (AAP) e outro protocolo com o uso do óleo de semente de linhaça (OL) tópico em forma de colírio durante 12 semanas. Foram utilizados quinze coelhos machos adultos da raça Nova Zelândia alocados aleatoriamente em 3 grupos: Grupo C (controle), Grupo AAP (formulação oftálmica) e Grupo L (OL por via tópica). Os animais foram avaliados semanalmente pelo teste lacrimal de Schirmer, teste de fluoresceína e teste de rosa bengala, uma vez por mês pelo exame de citologia esfoliativa ocular, e ao final do experimento foram eutanasiados para análise histopatológica da córnea e conjuntiva. Os resultados demonstraram que houve um aumento maior na produção lacrimal quando utilizada a formulação oftálmica e uma resolução mais precoce das úlceras de córnea e células desvitalizadas quando utilizado o óleo de semente de linhaça, além de aumento no número de células caliciformes em ambos os grupos de tratamento. Desta maneira, a associação desses dois protocolos pode ser no futuro uma alternativa no tratamento da CCS.

Palavras-chave: coelhos, álcool povinílico 1,4%, acetilcisteína 10%, pilocarpina 1%, óleo de semente de linhaça

INTRODUÇÃO

A ceratoconjuntivite seca (CCS) ou olho seco é uma das afecções oftálmicas mais comumente encontradas nos animais e nos seres humanos, caracterizando-se pela deficiência do componente aquoso do filme lacrimal pré-corneano (FLP) ou devido à modificação da qualidade ou diminuição da estabilidade da lágrima, o que leva a um comprometimento no deslizamento das pálpebras, afetando principalmente a córnea e a conjuntiva (Stevenson et al., 1994; Wilkie, 1996; Miller, 2008).

Os sinais clínicos são secreção mucóide a mucopurulenta, perda de brilho da córnea, hiperemia conjuntival, desconforto ocular, prurido, vascularização da córnea, ulcerações superficiais a profundas podendo evoluir para perda progressiva da visão (Gelatt, 2008; Carter e Colitz, 2002). O diagnóstico baseia-se principalmente nos sinais clínicos e nos resultados obtidos com os exames oftálmicos, tais como, teste lacrimal de Schirmer (TLS), teste de rosa

bengala (TRB), teste de fluoresceína (TF), tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL), teste de lisamina verde, além de citologia esfoliativa (CE) (Maggs, 2008; Miller, 2008).

Existem vários tipos de tratamento para a CCS, sendo mais utilizado na medicina veterinária o uso imunossupressores, tais como ciclosporina, tacrolimus e pimecrolimus (Moore et. al, 2001; Izci et. al, 2002; Berdoulay et al., 2005; Nell et al., 2005; Ofri et al., 2009). Devido ao alto custo desses medicamentos, como uma alternativa mais barata principalmente para proprietários carentes, pode-se fazer uso de associações de substâncias em formulações tópicas, como as que utilizam álcool povinílico (substituto aquoso da lágrima, que estabiliza a película lacrimal pré-corneal e impede a sua ruptura) associado à acetilcisteína 10% (agente anticolagenase, devido à sua ação mucolítica) e pilocarpina 1% (pelo seu efeito lacrimoestimulante). A proporção usada na formulação oftálmica (substituto lacrimal + acetilcisteína 10% + pilocarpina 1 a 2%) varia segundo alguns autores respectivamente de 3,5 mL/3,5 mL/1 mL (Andrade, 2008), 7 centímetros cúbicos (cc)/7 cc/2 cc (Kirk, 1984; Severin, 1995) e 15 mL/2-4 mL/2 mL acrescido de 2 mL de cloranfenicol injetável a 2% (Pickett, 2001). Além disso, podem-se utilizar também anti-inflamatórios esteroidais e não esteroidais e antibióticos (Stevenson et al., 1994; Carter e Colitz, 2002).

Outra forma de tratamento para a CCS, que vem se destacando em estudos recentes, é a utilização de ácidos graxos essenciais (AGE), ômega 3 (ω -3) e ômega 6 (ω -6), principalmente no tratamento de pacientes portadores de diversas formas de deficiência lacrimal, como na Síndrome de Sjögren humana, tanto em suplementação oral (Barabino et. al, 2003; Mavragani et al., 2006; Pinheiro Jr et al. 2007; Roncone et al., 2010; Wojtowicz et al., 2011), como em experimentos por via tópica em ratos (Rashid et al., 2008) e por via tópica e oral em coelhos (Neves, 2011). Os principais efeitos terapêuticos do ω -3 e ω -6 são imunomodulador e anti-inflamatório. A semente de linhaça é uma planta da família Linaceae, chamada de *Linum usitatissimum*, composta em média por 57% de ácidos graxos ômega 3, 16% de ômega 6, 18% de ácido graxo monoinsaturado e somente 9% de ácidos graxos insaturados, sendo sua relação ω -3 e ω -6 de 1:3 considerada muito próxima do ideal (Oohma, 2001; Hassan-Zadeh et al., 2008).

O objetivo deste trabalho foi comparar a eficácia de duas formulações tópicas, uma composta por substitutos da lágrima adicionada de substância lacrimoestimulante e anticolagenase, e outra composta com óleo de linhaça, no tratamento da CCS induzida experimentalmente em coelhos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi aprovado (protocolo nº 166) pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE).

Foram utilizados 15 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) brancos, machos, da raça Nova Zelândia, não castrados, adultos e com peso variando entre 2 a 3 kg. Estes animais foram mantidos em gaiolas metálicas individuais suspensas, com água e ração *ad libitum*.

Para a indução da CCS, nos coelhos, adotou-se um modelo baseado em estudos previamente publicados (Burgalassi et al., 1999; El-Shazly et al., 2008) utilizando-se sulfato de atropina colírio 1%, três vezes ao dia, até que se confirmasse o diagnóstico de CCS (TLS \leq 5mm/min e/ou TRB positivo) e durante todo o período de tratamento (12 semanas), para manutenção da CCS. Os momentos de avaliação foram divididos em M0 (antes da indução de CCS), M1 (1 semana após a indução da CCS e início do tratamento) e M2 até M12 (avaliações com intervalo de 1 semana após o início do tratamento). Dez coelhos foram induzidos para a CCS conforme o protocolo já descrito e 5 foram alocados no grupo controle, sem indução da CCS e tratados com placebo.

Uma semana após a indução da CCS, os animais foram tratados durante 12 semanas da seguinte maneira: Grupo C (n=5) controle (1 gota de placebo - solução de NaCl 0,9%) tópica, 2x ao dia, em ambos os olhos; Grupo AAP (n=5): formulação oftálmica com 3,5 ml de álcool povinílico 1,4% + 3,5 ml de acetilcisteína 10% + 1 ml pilocarpina 1% (Laboratório Ophthalmos), 1 gota, 2x ao dia, por via tópica, em ambos os olhos; Grupo L (n=5): colírio a base de óleo de semente de linhaça puro (Laboratório Ophthalmos), 1 gota, 2x ao dia, por via tópica, em ambos os olhos.

O TLS foi realizado para avaliar a quantidade de lágrima produzida, onde após limpeza ocular com algodão seco, introduziu-se 0,5 mm da ponta da fita de Schirmer no saco conjuntival por um período de 1 minuto e posteriormente retirado e realizado a leitura, e considerou-se positivo para CCS valores \leq 5mm/min. O teste de fluoresceína (TF) foi realizado para observar a presença ou não de úlceras de córnea, com a fita de fluoresceína 1%, encostando-a no saco conjuntival, e utilizado o escore 1: negativo para úlcera de córnea; 2: positivo para úlcera de córnea. O TRB foi realizado para a coloração de células desvitalizadas pela CCS, onde após instilação de colírio anestésico, foi utilizada 1 gota do colírio de Rosa Bengala 0,5%, considerando-se 1: ausência de células coradas desvitalizadas para CCS; 2: presença de células coradas desvitalizadas para CCS (Maggs, 2008).

A citologia esfoliativa (CE) ocular foi realizada uma vez por mês (M0; M1; M4; M8; M12). Os animais receberam colírio anestésico e então, foram colhidas amostras da conjuntiva

superior, inferior, lateral, medial e córnea de ambos os olhos. A CE foi realizada com o uso de swab umedecido em solução fisiológica e transferida para as lâminas microscópicas. Em seguida as lâminas foram fixadas em álcool metílico, e posteriormente coradas pela técnica de May-Grunwald-Giemsa (Raskin e Meyer, 2001).

Para análise histopatológica, ao final do experimento, no M12, foi realizado eutanásia dos coelhos utilizando-se tiopental sódico a 2,5% na dose de 200 mg/Kg por via intravenosa (Neves, 2011), para obtenção de biópsia dos olhos. O bulbo ocular após a enucleação transpalpebral foi colocado em solução de formalina tamponada a 10%, por 24 a 48 horas. Em seguida foram lavados em água corrente por trinta minutos e armazenados em álcool 70% e processados conforme a técnica de inclusão em parafina. Foram obtidos cortes de 5µm de espessura da córnea e conjuntiva, os quais foram corados pelas técnicas de hematoxilina e eosina (H.E.) e ácido periódico de Schiff (P.A.S.) (Samuelson, 2007).

Para as variáveis TLS e densidade de células caliciformes, foi utilizado o teste de análise de variância para amostras pareadas, com contrastes pelo método de Tukey. Nos testes acima citados, os pressupostos de normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias foram validados respectivamente pelo teste de Shapiro-Wilk e Levene. Foi adotado o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

O tempo de indução da CCS em coelhos foi em média de 7 a 10 dias. O grupo C manteve os parâmetros normais durante o período experimental em todos os testes realizados. A partir do M2, todos os grupos de tratamento apresentaram aumento estatisticamente significativo ($P < 0,05$) nos valores de TLS (Fig. 1) em comparação com o M1, principalmente o grupo AAP nos momentos finais do experimento (M8 e M10 a M12).

O grupo AAP apresentou animais positivos para o TF (Fig. 2) desde o M3 até o M9, com maior número de animais positivos entre o M4 e M8. A partir do M9, o grupo AAP apresentou uma resolução das úlceras e permaneceram negativos até o M12. O grupo L, permaneceu negativo durante todos os momentos.

Tanto o grupo AAP quanto o grupo L foram positivo para o TRB (Fig. 3), a partir do M1. No grupo AAP a ausência de células desvitalizadas se deu a partir do M10. Já o grupo L apresentou TRB negativo em 100% dos animais estudados, a partir do M7.

Em relação ao parâmetro celularidade observado na CE, o grupo AAP apresentou valores moderados a leve em todos os momentos, porém alguns coelhos apresentaram valores

acentuados, que foram observados no grupo AAP no M1, M4 e M8, e no grupo L apenas no M12. Em relação ao tipo de célula, tanto o grupo AAP quanto o grupo L apresentaram principalmente células superficiais com apenas alguns coelhos apresentando células parabasais, não diferenciando dos valores do grupo C (Figuras 4A e 4B). Também foi observada uma presença pequena de células caliciformes na CE (Fig. 4C).

No exame histopatológico em relação à córnea, os grupos L e AAP apresentaram edema moderado (Figura 5A). No parâmetro degeneração, somente o grupo L apresentou lesão leve. No parâmetro necrose, nenhum grupo apresentou lesão. As células inflamatórias mistas foram constatadas com uma presença moderada no grupo AAP. Na conjuntiva, os grupos AAP e L apresentaram edema leve, degeneração leve no grupo L e ausência de lesão no grupo AAP. Em relação às células inflamatórias, os grupos L e AAP apresentaram uma moderada presença de células mistas que foram observadas com predomínio na inserção da córnea com a conjuntiva bulbar. Houve um aumento significativo ($P < 0,05$) no número de células caliciformes na conjuntiva no grupo L ($11,9 \pm 2,3$) e AAP ($12,6 \pm 4,6$) em relação ao grupo C ($9,8 \pm 1,9$) e este aumento foi um pouco maior no grupo AAP (Figura 5B).

DISCUSSÃO

Com o advento na medicina veterinária do uso de imunossupressores como a ciclosporina e o tacrolimus, considerados o tratamento mais preconizado para a CCS, porém de custo elevado, o uso de formulações oftálmicas tópicas, como aquelas que utilizam álcool povinílico 1,4% associado à acetilcisteína 10% e pilocarpina 1%, entraram em desuso, apesar de ser uma opção de tratamento mais acessível para os proprietários carentes que possuem animais portadores de CCS (Moore et al., 2001; Pickett, 2001; Berdoulay et al., 2005; Andrade, 2008). Além disto, existe um crescente interesse no uso dos ômega 3 e 6 no tratamento da CCS, principalmente na Síndrome de Sjögren humana (Roncone et al., 2010; Pinheiro Jr et al., 2007; Wojtowicz et al., 2011), e em CCS experimentalmente induzida em ratos e coelhos (Rashid et al., 2008; Neves, 2011). O óleo de linhaça, por ser uma fonte de ω -6, bloqueando o metabolismo do ácido araquidônico, transformando os mediadores dos lipídeos em eicosanóides não inflamatórios via cicloxigenase 1 (COX1), as prostaglandinas da série 1 (PG1) e tromboxano A1 (TXA1), além disso, por ser também rico em ω -3 produz mediadores anti-inflamatórios do ácido alfa-linolênico (ALA), o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA) (Ohma, 2001; Barabino et al., 2003; Jiucheng e Bazan, 2010).

O grupo que utilizou o óleo de semente de linhaça tópico (grupo L) apresentou melhor desempenho na resolução das úlceras de córnea e na diminuição de presença de células desvitalizadas marcadas pelo TRB. O uso tópico de ômega 3 e 6 melhoram os sinais clínicos e inflamatórios induzidos pela CCS (Rashid et al., 2008; Neves, 2011).

Com relação à produção lacrimal, o grupo com formulação oftálmica (grupo AAP) apresentou melhor efeito com relação ao aumento da produção lacrimal que esta relacionada pela associação dos vários componentes integrantes desta formulação, como o álcool povinílico a 1,4% que é um agente umectante que estabiliza a película lacrimal e impede sua ruptura, incrementando a viscosidade (Miller, 2008), a acetilcisteína que possui propriedades mucolítica, anticolagenolítica e antioxidante (Yalçin et al., 2002; Aldavood et al., 2003; Hongyok et al., 2009) e a pilocarpina, droga parassimpatomimética, que possui efeito lacrimoestimulante, porém pode induzir irritação ocular, caracterizada por hiperemia conjuntival e blefaroespasma que não foi observado no presente experimento, talvez devido à sua diluição na formulação oftálmica (Andrade, 2008). Em um estudo em cães, foi relatado que a pilocarpina colírio em várias concentrações (0,25; 1,0 ou 2,0%) não alterou significativamente a produção lacrimal, porém, a frequência de instilação realizada neste estudo foi nos dias 4, 6 e 8, o que pode ser considerada baixa e ser responsável pelos resultados obtidos (Smith et al., 1994).

Na CE, não foram observadas diferenças importantes entre os grupos. Nos achados histopatológicos houve um aumento significativo no número de células caliciformes no grupo L e, principalmente, no grupo AAP em relação ao grupo controle. Este achado é interessante e colabora com a melhora na produção lacrimal e sintomas da CCS, visto que a diminuição da quantidade de células caliciformes pode induzir deficiência de mucina no filme pré-corneal e resultar em córneas secas com superfície irregular (Davidson e Kuonen, 2004)

Os resultados demonstraram que houve um aumento na produção lacrimal quando utilizada a formulação oftálmica e uma resolução mais precoce das úlceras de córnea e células desvitalizadas quando utilizado o óleo de semente de linhaça, além de aumento no número de células caliciformes em ambos os grupos de tratamento da CCS induzida em coelhos. Desta maneira, a associação desses dois protocolos pode ser no futuro uma alternativa interessante e barata no tratamento da CCS.

AGRADECIMENTOS

Ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UNOESTE e a FAPESP pelo apoio financeiro, e ao laboratório Ophthalmos pela doação dos materiais necessários para a execução do experimento.

REFERÊNCIAS

- ALDAVOOD, S.J.; BEHYAR, R.; SARCAHI, A.A. et al. Effect of acetylcysteine on experimental corneal wounds in dogs. *Ophthalmic Res.* v.35, p.319-323, 2003.
- ANDRADE, SF. Terapêutica Oftálmica. In: ANDRADE S.F. (Ed). *Manual de terapêutica veterinária*. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. p.179-189.
- BARABINO, S.; ROLANDO, M.; CAMICIONE, P. et al. Systemic linoleic and g-linolenic acid therapy in dry eye syndrome with an inflammatory component. *Cornea.* v. 22, p.97-101, 2003.
- BERDOULAY, Y.A.; ENGLISH, R.V.; NALDELSTEIN, B. Effect of topical 0,02% tacrolimus aqueous suspension on tear productin in dog with keratoconjunctitis sicca. *Vet. Ophthalmol.* v.8, p. 225-232, 2005.
- BURGALASSI, S.; PANICHI, L.; CHETONI P. Development of a simple dry eye model in the albino rabbit and evaluation of some tear substitutes. *Ophthalmic Res.*v.31, p.229-235, 1999.
- CARTER, R.; COLITZ, C.M.H. The causes, diagnosis, and treatment of canine keratoconjunctivitis sicca. *Vet Med.* v. 97, p.683–694, 2002.
- DAVIDSON, H.J.; KUONEN, V.J. The tear film and ocular mucin (Review). *Vet. Ophthalmol.*v.7, p.71–77, 2004.
- EL-SHAZLY AH, EL-GOHRARY AH, EL-SHAZLY LH et al. Comparison between two ciclooxigenase inhibitors in an experimental dry eye model in albino rabbits. *Acta Pharma.* v.58, p.163-173, 2008.
- GELATT, K.N. *Essentials of Veterinary Ophthalmology*, 2 edn. Iowa:Blackwell Publishing, 2008. 648p.
- HASSAN-ZADEH, A.; SAHARI, M.A.; BARZEGAR, M. Optimization of the -3 extraction as a functional food from flaxseed. *Int. J. Food Sci. Nutrit.* v. 59, p.526-534, 2008.
- HONGYOK, T.; CHAE, J.J.; SHIN, Y.J. et al. Effect of Chitosan-N-Acetylcysteine Conjugate in a Mouse Model of Botulinum Toxin B–Induced Dry Eye. *Arch. Ophthalmol.*v.127, p.525-532, 2009.

- IZCI, C.; CELIK, I.; ALKAN, F. et al. Histologic characteristics and local cellular immunity of the gland of the third eyelid after topical ophthalmic administration of 2% cyclosporine for treatment of dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Am. J. Vet Res* v.63:688-694, 2002.
- JIUCHENG, H.; BAZAN, H.E.P. Omega-3 fatty acids in dry eye and corneal nerve regeneration after refractive surgery. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*. v.82, p.319–325, 2010.
- KIRK, R.W. Atualização Terapêutica Veterinária de Pequenos Animais. São Paulo:Ed Manole, 1984. 1495p.
- MAGGS, D.J. Basic diagnostic techniques. In: MAGGS, D.J.; MILLER, P.E.; OFRI, R (Ed). *Slater's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 4 ed. St Louis:Elsevier, 2008. p. 81- 106.
- MAVRAGANI, C.P.; MOUTSOPOULOS, N.M.; MOUTSOPOULOS, H.M. The management of Sjögren's syndrome. *Nat. Clin. Pract. Rheumathol*.v.2, p.252-261, 2006.
- MILLER, P.E. Lacrimal system. In: MAGGS, D.J.; MILLER, P.E.; OFRI, R (Ed). *Slater's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 4 ed. St Louis:Elsevier, 2008. p. 157-174.
- MOORE, C.P.; MCHUGH, J.B.; THORNE, J.G. et al. Effect of Cyclosporine on Conjunctival Mucin in a Canine Keratoconjunctivitis Sicca Model. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. v.42, p.653-659, 2001.
- NELL, B.; WALDE, I.; BILLICH, A. et al. The effect of topical pimecrolimus on keratoconjunctivitis sicca and chronic superficial keratitis in dogs: results from an exploratory study. *Vet. Ophthalmol*. v.8, p.39-46, 2005.
- NEVES, M.L. Uso do óleo de semente de linhaça no tratamento de ceratoconjuntivite seca experimentalmente induzida em coelhos. 2011, 107f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP.
- OFRI, R.; LAMBROU, G.N.; ALLGOEWER, I. et al. Clinical evaluation of pimecrolimus eye drops for treatment of canine keratoconjunctivitis sicca: a comparison with cyclosporine A. *Vet. J*. v.179, p.70-76, 2009.
- OOMAH, B.D. Flaxseed as functional source. *J. Sci. Food Agricult*.v.81, p. 889-894, 2001.
- PICKETT, J.P. Up date on veterinary ophthalmology. Ophthalmology Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine, 2001. Disponível em:<<http://www.dcavm.org/01sep.htm>>. Acesso em: 02 nov. 2010.
- PINHEIRO JR, M.N.; SANTOS, P.M.; SANTOS, R.C.R. et al. Uso oral do óleo de linhaça (*Linum usitatissimum*) no tratamento do olho seco de pacientes portadores da síndrome de Sjögren. *Arq Bras Oftalmol* v.70, p.649-655, 2007.

- RASHID, S.; JIN, Y; ECOIFFER, T. et al. Topical omega-3 and omega-6 fatty acids for treatment of dry eye. *Arch Ophthalmol.* v.126, p.210-225, 2008.
- RASKIN RE, MEYER DJ Atlas of canine and feline cytology. WB Saunders:Philadelphia, 2001.
- RONCONE, M.; BARTLETT, H.; EPERJESI, F. Essential fatty acids for dry eye: A review. *Contact Lens & Anterior Eye.* v.33, p.49-54, 2010.
- SAMUELSON, D.A. Textbook of Veterinary Histology. Saunders Elsevier:St. Louis, 2007, 546p.
- SEVERIN, G.A. *Severin's Veterinary Ophthalmology Notes.* 3rd ed. Severin Press: Fort Collins, 1995. 345p.
- SMITH, E.M.; BUYUKMIHCI, N.C.; FARVER, T.B. Effect of topical pilocarpine treatment on tear production in dogs. *J. Vet. Med. Assoc.* v. 205, p.1286-1289, 1994.
- STEVENSON, W.; CHAUHAN, S.K.; DANA, R. Dry eye disease: an immune-mediated ocular surface disorder. *Arch. Ophthalmol.* v.2012, p. 130:90-100, 1994.
- WILKIE, D.A. Management of Keratoconjutivitis sicca in dogs. In: GLAZE, M.B. (Ed). *The compendium collection:ophthalmology in small animal practice.* 2.ed. New Jersey: Veterinary Learning Systems, 1996. p.234-238.
- WOJTOWICZ, J.C.; BUTOVICH, I.; UCHIYAMA, E. et al. Pilot, prospective, randomized, double-masked, placebo-controlled clinical trial of an omega-3 supplement for dry eye. *Cornea.* v.30, p.308-314, 2011.
- YALÇIN, E.; ALTIN, F.; CINHUSEYINOGLUE, F. et al. N-acetylcysteine in chronic blepharitis. *Cornea.* v.21, p.164-168, 2002.

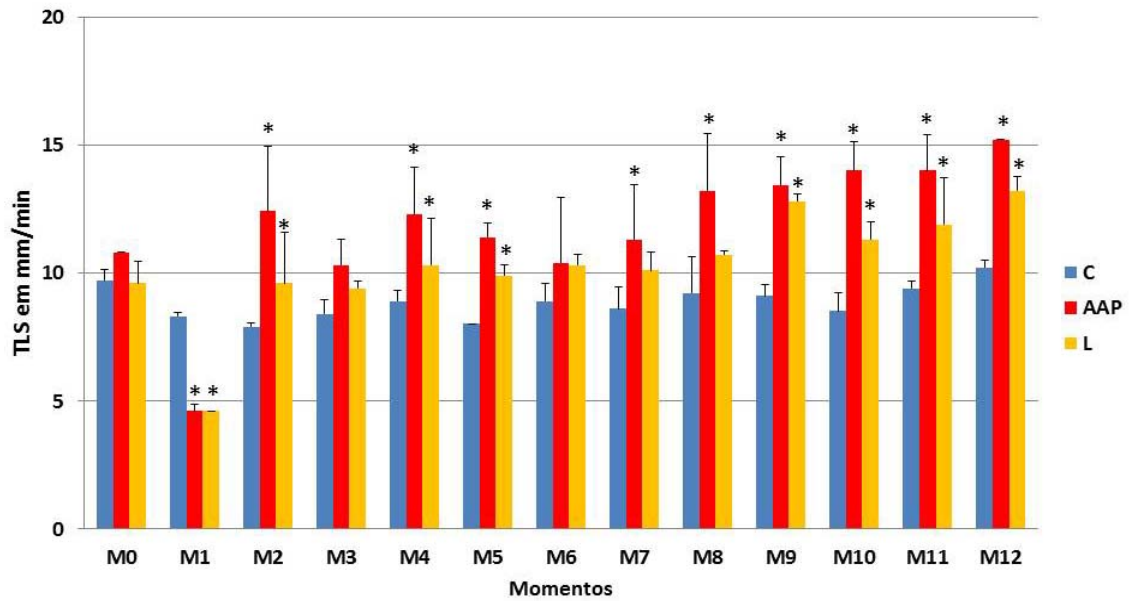


Figura 1. Médias e desvios padrões dos valores obtidos^a do teste lacrimal de schirmer (TLS) em mm/min dos coelhos experimentalmente induzidos para CCS e submetidos a diferentes tipos de tratamentos: placebo (grupo C); fórmula tópica oftálmica composta por 3,5 ml de álcool povinílico 1,4% + 3,5 ml de acetilcisteína 10% + 1 ml pilocarpina 1% (grupo AAP) e óleo de linhaça tópico (grupo L) antes (M0) e nas 12 semanas do estudo (M1 a M12).

^avalores ≤ 5 mm/min=positivo para CCS

* $P < 0.05$ (Teste de Tukey)

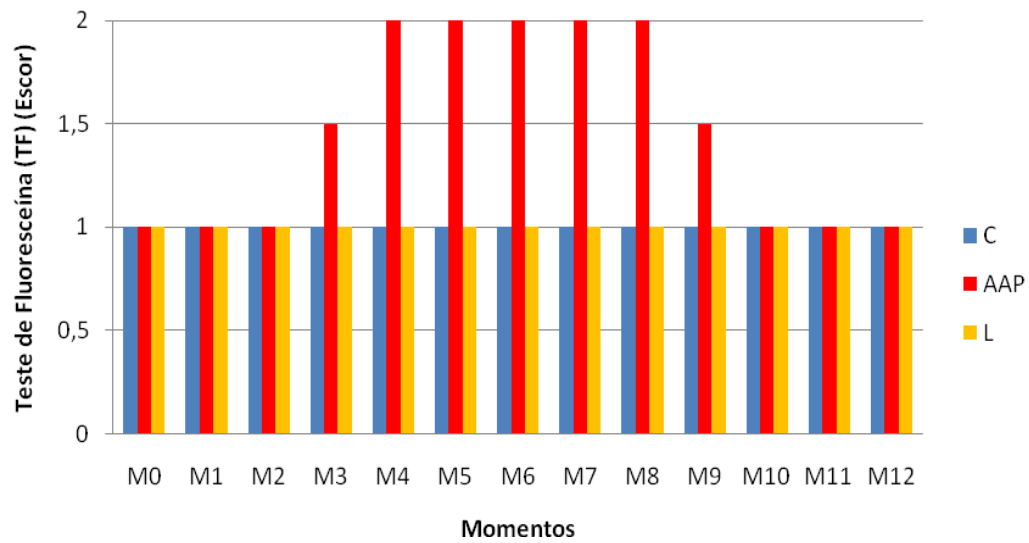


Figura 2. Medianas dos valores obtidos* do teste de fluoresceína (TF) em coelhos experimentalmente induzidos para CCS e submetidos a diferentes tipos de tratamentos: placebo (grupo C); fórmula tópica oftálmica composta por 3,5 ml de álcool povinílico 1,4% + 3,5 ml de acetilcisteína 10% + 1 ml pilocarpina 1% (grupo AAP) e óleo de linhaça tópico (grupo L) antes (M0) e nas 12 semanas do estudo (M1 a M12).

*1=negativo (ausência de úlcera de córnea) e 2=positivo (presença de úlcera de córnea)

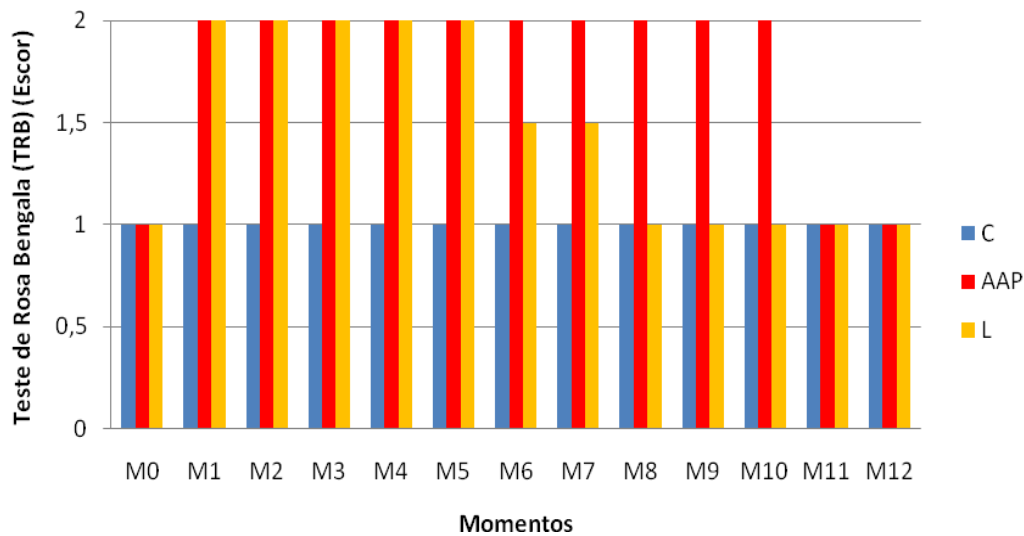


Figura 3. Medianas dos valores obtidos* do teste de rosa Bengala (TRB) em coelhos experimentalmente induzidos para CCS e submetidos a diferentes tipos de tratamentos: placebo (grupo C); fórmula tópica oftálmica composta por 3,5 ml de álcool povinílico 1,4% + 3,5 ml de acetilcisteína 10% + 1 ml pilocarpina 1% (grupo AAP) e óleo de linhaça tópico (grupo L) antes (M0) e nas 12 semanas do estudo (M1 a M12).

*1=negativo (ausência de células coradas desvitalizadas pela CCS) e 2=positivo (presença de células coradas desvitalizadas pela CCS).

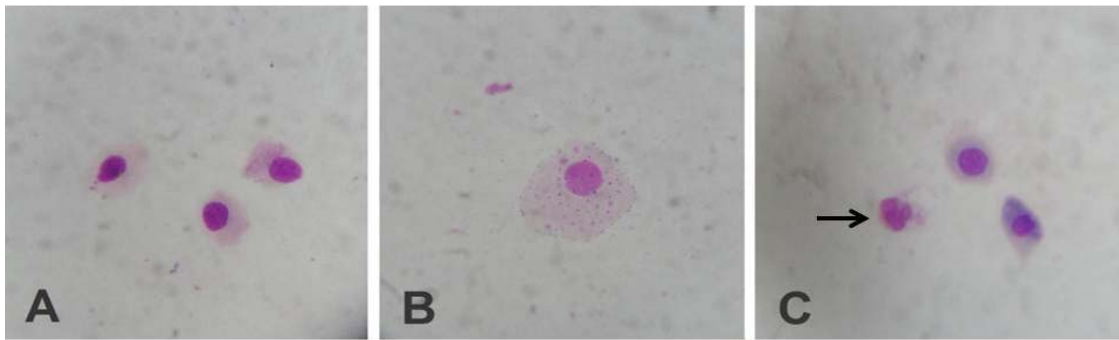


Figura 4. Fotomicrografia de citologia esfoliativa de córnea de coelho. (A) coelho nº 3 do grupo AAP no M1 com presença de células parabasais. (B) coelho nº 3 do grupo AAP no M1 com presença de células superficiais. (C) coelho nº 3 do grupo AAP no momento M4 com presença de células caliciformes (seta) – May-Grunwald-Giemsa (MGG) (400x).

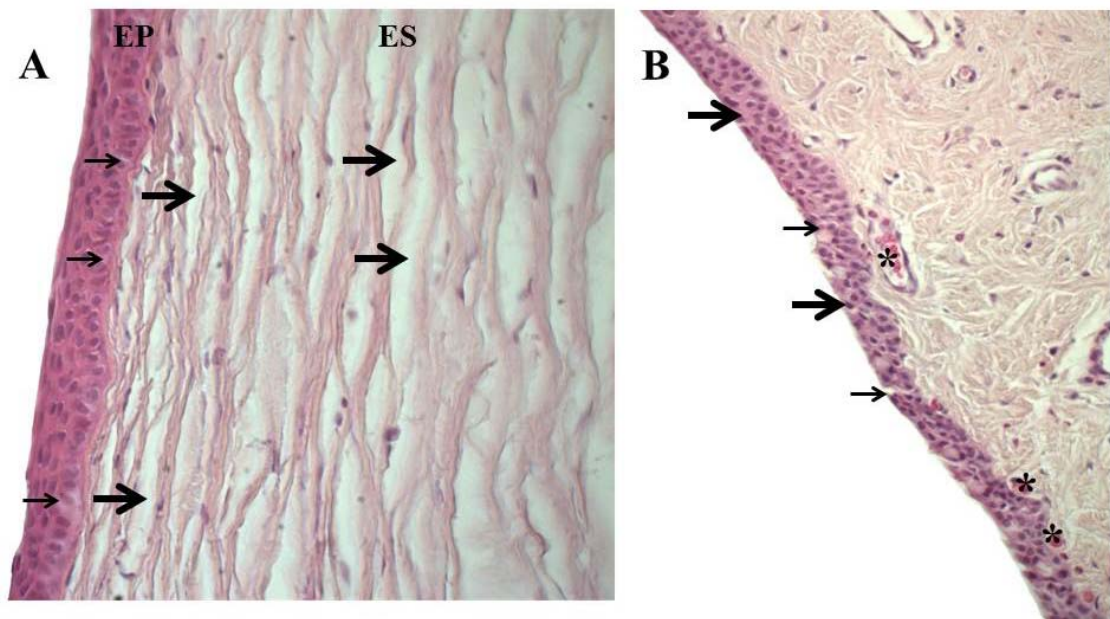


Figura 5. (A) Fotomicrografia de corte de córnea (OE) de coelho nº 3 do grupo AAP evidenciando edema leve no epitélio corneal (EC) (setas finas) e edema moderado no estroma (E) (setas) – H.E (100x). (B) Fotomicrografia da inserção da córnea com a conjuntiva (Seta) do coelho nº2 do grupo AAP onde se observa as células caliciformes (seta). Presença de edema moderado em epitélio corneal (EC) (setas finas). Observa-se congestão de vasos sanguíneos em estroma (E) (*) – H.E (400x).

ANEXO

INSTRUÇÕES AOS AUTORES



ISSN 0102-0935 *versão impressa*
ISSN 1678-4162 *versão online*

- [Tipos de artigos aceitos para publicação](#)
- [Política editorial](#)
- [Preparação dos manuscritos para publicação](#)
- [Citações bibliográficas](#)
- [Submissão dos trabalhos](#)

Tipos de artigos aceitos para publicação

Artigo Científico. É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa. Seções do texto: Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão e Conclusões. O número total de páginas não deve exceder a 15.

Relato de Caso. Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada. Seções do texto: Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes). O número total de páginas não deve exceder a 10.

Comunicação. É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico. Levantamentos de dados (ocorrência, diagnósticos, etc.) também se enquadram aqui. Deve ser compacto, com no máximo seis páginas impressas, sem distinção das seções do texto especificadas para "Artigo Científico", embora seguindo aquela ordem. Quando a comunicação for redigida em português deve conter um "Abstract" e quando redigida em inglês deve conter um "Resumo".

Política editorial

Publicar trabalhos científicos originais (artigos, relatos de casos e comunicações) que sejam de interesse para o desenvolvimento da ciência animal. Serão recomendados para publicação somente os trabalhos aprovados pelos editores, baseados na recomendação de dois revisores científicos da área pertinente e/ou do corpo editorial.

Preparação dos manuscritos para publicação

Os trabalhos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras. Os trabalhos submetidos em inglês deverão conter resumo em português e vice-versa.

Os trabalhos e ilustrações deverão ser apresentados em Microsoft Word, folha no formato A4, fonte Times New Roman tamanho 12, espaço entre linhas 1,5, margens de 3cm, com páginas e linhas numeradas (numeração contínua).

Seções de um trabalho

Título. Em português e em inglês. Deve ser o resumo do resumo e não ultrapassar 100 dígitos.

Autores. Os nomes dos autores virão abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. Deve estar indicado o autor para correspondência com endereço completo, telefone, fax e e-mail.

Resumo e Abstract devem conter no máximo 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título. Cada frase é uma informação. Atenção especial às conclusões.

Palavras-chave e Keywords. No máximo cinco.

Introdução. Explanação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência, relevância e os objetivos do trabalho.

Material e Métodos. Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Não usar subtítulos.

Nos trabalhos que envolvam animais ou organismos geneticamente modificados deverá constar o número do protocolo de aprovação do Comitê de Bioética e/ou de Biossegurança.

Resultados. Apresentar clara e objetivamente os principais resultados encontrados.

Discussão. Discutir somente os resultados obtidos no trabalho.

Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto.

Conclusões. As conclusões devem estar apoiadas nos dados da pesquisa executada.

Ilustrações. São tabelas e figuras. Toda ilustração que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, dados sobre a fonte (autor, data) e a correspondente referência deve figurar na lista bibliográfica final.

Tabela. Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação do cabeçalho e no final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tab., mesmo quando se referir a várias tabelas.

Figura. Qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Fig., mesmo se referir a mais de uma figura. As figuras devem ser enviadas em arquivo separado, extensão.jpg.

Agradecimentos. Devem ser concisamente expressados.

Referências bibliográficas. As referências devem relacionadas em ordem alfabética.

Citações bibliográficas

Citações no texto deverão ser feitas de acordo com ABNT/NBR 10520 de 2002. A

indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

- autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)
- dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)
- mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979)
- mais de um trabalho citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para trabalhos do mesmo ano.

Citação de citação. Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão citado por e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Na listagem de referência, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

Comunicação pessoal. Não fazem parte da lista de referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

Referências bibliográficas

São adotadas as normas ABNT/NBR-6023 de 2002, simplificadas conforme exemplos:

Periódicos

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

Publicação avulsa

DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: *National Academy of Sciences*, 1968. 69p.

SOUZA, C. F. A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola

de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Documentos eletrônicos

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. *Miami Herald*, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerId-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

Submissão dos trabalhos

A submissão dos trabalhos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico www.abmvz.org.br

Taxas de publicação

Taxa de submissão. O pagamento, no valor de R\$30,00, será feito por meio de boleto bancário (emitido quando da submissão do artigo). O autor deverá informar os dados para emissão da nota fiscal (Nome ou Razão Social, CPF ou CNPJ, Endereço).

Taxa de publicação. A taxa de publicação de R\$55,00, por página impressa, será cobrada do autor indicado para correspondência, por ocasião da prova final do artigo. Se houver necessidade de impressão em cores, as despesas correrão por conta dos autores.