

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Francieli Marconato

**PRODUÇÃO LACRIMAL INDUZIDA PELA CICLOSPORINA A E O  
TACROLIMUS EM CÃES HÍGIDOS E COM CERATOCONJUNTIVITE  
SECA**

Santa Maria, RS.

2017

**Francieli Marconato**

**PRODUÇÃO LACRIMAL INDUZIDA PELA CICLOSPORINA A E O TACROLIMUS  
EM CÃES HÍGIDOS E COM CERATOCONJUNTIVITE SECA**

Tese apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração Cirurgia e Clínica Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária**.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fernanda Silveira Flores Vogel

Santa Maria, RS.

2017

**Francieli Marconato**

**PRODUÇÃO LACRIMAL INDUZIDA PELA CICLOSPORINA A E O TACROLIMUS  
EM CÃES HÍGIDOS E COM CERATOCONJUNTIVITE SECA**

Tese apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração Cirurgia e Clínica Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária**.

**Aprovado em 10 de março de 2017:**

---

**Fernanda Silveira Flores Vogel, Profa. Dra. (UFSM)**  
(Presidente/ Orientadora)

---

**Daniel Curvello de Mendonça Müller , Prof. Dr. (UFSM)**

---

**Anne Santos do Amaral, Profa. Dra. (UFSM)**

---

**Débora Cristina Olsson, Profa. Dra. (IFC)**

---

**Fabício de Vargas Arigony Braga, Prof. Dr. (UFPEL)**

Santa Maria, RS

2017

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço imensamente aos meus pais Neusa e Cláudio e ao meu irmão Felipe por sempre me apoiarem nas minhas decisões, pelo incentivo, investimento, carinho, amizade, companheirismo. Vocês são meu porto seguro, são pessoas maravilhosas, exemplos de vida, seus ensinamentos fizeram a pessoa que sou hoje, admiro e amo muito vocês.

Aos todos os meus amigos queridos pelo companheirismo, pela amizade verdadeira, pessoas que sempre posso contar a qualquer hora. A amizade de vocês é especial, aliás, vocês são especiais em minha vida, espero ter vocês muito tempo por perto.

Ao meu orientador Ney Luis Pippi pelos ensinamentos, pela oportunidade de aprender mais sobre a área de oftalmologia e a professora Fernanda Vogel por me acolher e orientar na fase final do doutorado.

À professora Anne Amaral pela amizade, companheirismo, ensinamentos, por sempre estar disposta a ajudar com minhas dúvidas sempre com todo bom humor, por sempre ouvir as reclamações, pelas conversas, pelas risadas, por tudo.

Ao efetivo do Pelotão de Cães de Guerra por toda a ajuda prestada, e os cuidados e dedicação com os animais.

Ao efetivo da Seção de Material do BINFA e do Pelotão de Polícia Montada pela convivência e amizade.

A todos os funcionários do HVU por toda ajuda, carinho, conversas e amizade.

À Base Aérea de Santa Maria por apoiar o meu trabalho e por permitir realizar a pesquisa com os animais do PCG.

À Universidade Federal de Santa Maria pela oportunidade de desenvolver o projeto nessa instituição. Ao CNPq pela bolsa concedida.

Aos todos os animais que contribuíram com a pesquisa. As minhas queridas e amadas cachorras Mel e Bally, que já se foram, mas estarão sempre em meu

coração e em minha memória. Aos animais em especial a Lara, Oddy e Izzy cães maravilhosos e especiais que amo muito.

Aos cães do PCG por tornar meus dias mais felizes, poder trabalhar com vocês é inexplicável, amo todos vocês.

Agradeço aos proprietários dos animais que participaram da pesquisa, pela confiança e grande colaboração desde o início do tratamento até a conclusão das avaliações.

## RESUMO

### PRODUÇÃO LACRIMAL INDUZIDA PELA CICLOSPORINA A E O TACROLIMUS EM CÃES HÍGIDOS E COM CERATOCONJUNTIVITE SECA

AUTORA: Francieli Marconato

ORIENTADORA: Fernanda Silveira Flores Vogel

A ceratoconjuntivite seca (CCS) é uma doença inflamatória crônica comum em cães, resultante de deficiência do filme lacrimal pré-corneal. Pode ocorrer como uma deficiência quantitativa do componente aquoso da lágrima, bem como uma deficiência qualitativa dos componentes lipídico ou mucínico do filme lacrimal, gerando instabilidade desse filme. As complicações oculares dessa doença afetam a superfície ocular provocando vascularização, pigmentação e edema corneal. Em casos mais graves, pode ainda cursar com perda do epitélio da córnea, dor ocular e cegueira. O tratamento normalmente utilizado para CCS é medicamentoso e inclui principalmente lacrimogênicos, lacrimomiméticos, mucolíticos e antibacterianos tópicos. Considerando-se a importância da ceratoconjuntivite seca, o objetivo deste estudo foi investigar e comparar o tratamento com diferentes colírios em pacientes hígidos e com CCS. Para o estudo realizou-se inicialmente uma revisão bibliográfica sobre a CCS abordando os principais tratamentos (artigo 1), para a segunda pesquisa foram utilizados 13 cães divididos em dois trabalhos. O primeiro trabalho (artigo 2) os animais foram divididos em três grupos de três animais cada: no grupo CsA col o tratamento da córnea foi realizado com colírio de ciclosporina A (0,05%), o grupo Tacro com colírio tacrolimus (0,03%) e o grupo CsA pom com pomada de ciclosporina A (0,05%). No segundo trabalho (artigo 3), os cães foram divididos em dois grupos de dois animais cada, no grupo CsA col o tratamento da córnea foi realizado com colírio de ciclosporina A (0,05%) e o grupo Tacro com colírio tacrolimus (0,03%). Em todos os animais foi instilado uma gota da medicação a cada 12 horas e foram realizadas avaliações oftálmicas nos dias 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias. As avaliações ocorreram através do Teste Lacrimal de Schirmer (TLS), Prova de Fluoresceína, Teste Rosa de Bengala, além dos sinais clínicos de hiperemia conjuntival, tipo de secreção ocular presente, opacidade corneal, vascularização corneal e pigmentação corneal em cães hígidos e com CCS. Com base na revisão bibliográfica sobre CCS, o melhor tratamento descrito é o colírio de tacrolimus, entre as técnicas cirúrgicas a que obteve melhor resultado foi a oclusão do ducto nasolacrimal. Quando analisado o comportamento da ciclosporina A na formulação colírio e pomada e o tacrolimus em animais hígidos, a que apresentou melhor estimulação lacrimal foi a ciclosporina A na formulação de pomada. Em paciente com CCS, quando comparados os tratamentos com CsA colírio e o tacrolimus, os que obtiveram melhor resultado foram os cães tratados com tacrolimus.

Palavras-chave: filme lacrimal, córnea, colírio, lacrimomiméticos.

## **ABSTRACT**

### **LACRIMAL PRODUCTION INDUCED BY CYCLOSPORINE A AND TACROLIMUS IN HEALTHY DOGS AND KERATOCONJUNCTIVITIS SICCA**

**AUTHOR:** Francieli Marconato

**ADVISER:** Fernanda Silveira Flores Vogel

Keratoconjunctivitis sicca (KCS) is a chronic inflammatory disease common in dogs, resulting from deficiency of the precorneal tear film. It can occur as a quantitative deficiency of the aqueous component of the tear, as well as a qualitative deficiency of the lipid or mucin components of the tear film, generating instability of that film. The ocular complications of this disease affect the ocular surface provoking vascularization, pigmentation and corneal edema. In more severe cases, it can also lead to loss of corneal epithelium, ocular pain and blindness. The treatment normally used for KCS is medicated and mainly includes tear, lacrimomimetics, mucolytics and topical antibacterials. Considering the importance of keratoconjunctivitis sicca, the objective of this study was to investigate and compare the treatment with different eye drops in healthy patients with KCS. For the study, a literature review on the KCS was carried out, addressing the main treatments (article 1), 13 dogs divided into two studies were used for the second study. The animals were divided into three groups of three animals each: in the CsA col group the treatment of the cornea was performed with cyclosporin A (0,05%) eye drops, Tacro group with tacrolimus eye drops (0,03%) and the CsA pom group with cyclosporin A ointment (0,05%). In the second study (article 3), the dogs were divided into two groups of two animals each, in the CsA col group collagen treatment was performed with cyclosporin A eye drops (0,05%) and the Tacro group with tacrolimus eye drops (0,03%). A drop of the medication was instilled every 12 hours in all animals and ophthalmic evaluations were performed on days 0, 15, 30, 45, 60, 75 and 90 days. Clinical signs of conjunctival hyperemia, type of present ocular secretion, corneal opacity, corneal vascularization and corneal pigmentation in healthy dogs and with KCS were evaluated through Schirmer's Lacrimal Test (TLS), Fluorescein Test, Rose Bengal Test. Based on the literature review on KCS, the best treatment described is tacrolimus eye drops. Among the surgical techniques, nasolacrimal duct occlusion was the best outcome. When analyzed the behavior of cyclosporin A in the formulation eye drops and ointment and tacrolimus in healthy animals, cyclosporin A in the ointment formulation was the one with the best lachrymal stimulation. In patients with CCS, when compared to treatments with CsA eye drops and tacrolimus, the dogs with tacrolimus were the most successful.

**Keywords:** lacrimal film, cornea, eye drops, lacrimomimetics.

## LISTA DE FIGURAS

### ARTIGO 1

- Figura 1 – Cão da raça Pug, 9 anos, apresentando intenso ressecamento corneano e pigmentação corneal devido a Ceratoconjuntivite seca crônica..... 33
- Figura 2 – Cão da raça Poodle, 8 anos apresentando ceratoconjuntivite seca associado a carcinoma de células escamosas evidenciado pelas estruturas avermelhadas localizadas na córnea..... 34
- Figura 3 – Realização do Teste Lacrimal de Schirmer (TLS) em paciente da raça Pug, 9 anos apresentando sinais de ceratoconjuntivite seca crônica..... 34

### ARTIGO 2

- Figura 1 – Animais hípidos dos diferentes grupos realizando o Teste Lacrimal de Schirmer. O animal A pertence ao grupo CsA col, o animal B pertence ao grupo Tacro e o animal C pertence ao grupo CsA pom..... 42

### ARTIGO 3

- Figura 1 – Cão, Bulldog Inglês com CCS e tratado com Ciclosporina A. (A) e (B) olhos direito e esquerdo do animal no início do tratamento (dia 0) e (C) e (D) olhos direito e esquerdo do animal nos 90 dias de tratamento..... 56
- Figura 2 – Cão, Shih-Tzu com CCS e tratado com Ciclosporina A. (A) e (B) olhos direito e esquerdo do animal no início do tratamento (dia 0) e (C) e (D) olhos direito e esquerdo do animal nos 90 dias de tratamento..... 57
- Figura 3 – Cão, Beagle com CCS e tratado com Tacrolimus. (A) e (B) olhos direito e esquerdo do animal no início do tratamento (dia 0) e (C) e (D) olhos direito e esquerdo do animal nos 90 dias de tratamento..... 58



## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 2

Tabela 1 – Análise das médias do TLS nos diferentes grupos e nos diferentes tempos de avaliação demonstrando que houve diferença estatística significativa no grupo Ciclosporina Pomada ( $p=0,014$ ) analisado pelo teste de dupla análise de variância de Friedman de amostras relacionadas por postos..... 45

Tabela 2 – Análise das médias do TLS nos diferentes tempos de avaliação demonstrando que não houve diferença estatística significativa nos grupos em cada tempo analisado pelo Teste de Jonckheere Terpstra..... 46

### ARTIGO 3

Tabela 1 – Análise das médias do TLS nos diferentes grupos e nos diferentes tempos de avaliação demonstrando que houve diferença estatística significativa no grupo Ciclosporina Colírio ( $p=0,013$ ) e Tacrolimus ( $p=0,019$ ) analisado pelo teste de dupla análise de variância de Friedman de amostras relacionadas por postos..... 63

Tabela 2 – Análise das médias do TLS nos diferentes tempos de avaliação demonstrando que não houve diferença estatística significativa nos grupos em cada tempo analisado pelo Teste de Jonckheere Terpstra..... 63

## LISTA DE GRÁFICOS

### ARTIGO 2

Gráfico 1 – Comparação das médias do Teste Lacrimal de Schirmer nos diferentes tempos de avaliação..... 45

### ARTIGO 3

Gráfico 1 – Comparação das médias do Teste Lacrimal de Schirmer nos diferentes tempos de avaliação..... 62

Gráfico 2 – Frequência de aparecimento das alterações clínicas avaliadas durante todo o período de avaliação..... 64

### TESE

Gráfico 1 – Resultado da média do TLS em mm/mim dos animais avaliados em todos os tempos..... 69

Gráfico 2 – Resultado da média do TLS em mm/mim dos animais avaliados em todos os tempos separados nos diferentes grupos de acordo com a medicação recebida..... 69

Gráfico 3 – Resultado da média do TLS em mm/mim dos animais avaliados com CCS nos diferentes períodos de avaliação..... 70

Gráfico 4 – Resultado da média do TLS em mm/mim dos animais avaliados sem CCS nos diferentes períodos de avaliação..... 70

Gráfico 5 – Resultado da média do TLS em mm/mim dos animais avaliados nos diferentes grupos e nos diferentes períodos de avaliação..... 71

## ANEXOS

Anexo I – Ficha de autorização do proprietário para participação no projeto...	75
Anexo II – Ficha utilizada nas avaliações dos animais.....	77
Anexo III – Apresentação das análises das variáveis qualitativas por dia de avaliação.....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS

CCS	Ceratoconjuntivite seca
CsA	Ciclosporina A
SRD	Sem raça definida
TF	Teste de fluoresceína
TLS	Teste Lacrimal de Schirmer
TRB	Teste Rosa de Bengala

## SUMÁRIO

RESUMO.....	06
ABSTRACT.....	07
LISTA DE FIGURAS.....	08
LISTA DE TABELAS.....	09
LISTA DE GRÁFICOS.....	10
LISTA DE ANEXOS.....	11
LISTA DE ABREVIATURAS.....	12
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
ARTIGO 1.....	19
ARTIGO 2.....	35
ARTIGO 3.....	49
<b>2 DISCUSSÃO.....</b>	<b>67</b>
<b>3 CONCLUSÃO.....</b>	<b>71</b>
<b>4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>72</b>
ANEXOS.....	75

## 1 INTRODUÇÃO

Os animais domésticos são frequentemente acometidos por afecções corneais e diversos estudos visam à reparação das mesmas com o mínimo possível de sequelas, evitando assim a diminuição da acuidade visual. Devido à córnea ser uma estrutura transparente que necessita desta característica para a perfeita refração a busca por tratamentos que preservem a integridade da córnea é frequente (MARINHO, 2006).

A ceratoconjuntivite seca (CCS) é uma oftalmopatia crônica e potencialmente prejudicial à visão. Ela é caracterizada pelo déficit na produção e/ou aumento na evaporação do filme lacrimal. Hiperemia conjuntival, prurido ocular, quemose, sensação da presença de corpo estranho, blefarospasmo, fotofobia, ceratite com pigmentação e neovascularização corneais, conjuntivite e visão turva são sinais clínicos associados à condição (ALMEIDA, 2006).

A síndrome da disfunção lacrimal, conhecida como olho seco, tem uma alta prevalência em humanos, atingindo cerca de 14 a 33% da população mundial. Caracterizada por uma desordem multifatorial lacrimal e da superfície ocular, associada a sintomas de desconforto ou distúrbios visuais. Estes sintomas incluem ardor, prurido, hiperemia conjuntival, lacrimejamento, sensação de corpo estranho e fotofobia (SILVERIO et. al., 2011).

A CCS ocorre, com maior frequência, nas raças Cocker Spaniel, Bulldog Inglês, West Highland White Terrier, Yorkshire Terrier e Shih-tzu. A manifestação clínica varia em cada uma delas. Os cães Shih-tzu e Yorkshire começam a apresentar sinais clínicos ainda jovens (até 12 meses de idade), enquanto os Cocker Spaniels desenvolvem a doença após cinco anos de idade (SANCHES et al., 2007). As cadelas apresentam maior predisposição ao desenvolvimento da doença em relação aos cães machos (BARNETT, 1988).

Os cães braquicefálicos (Bulldog Inglês e Shih-tzu) têm como característica anatômica a órbita rasa, o que promove maior exposição do bulbo ocular e aumento da taxa de evaporação lacrimal. Este é o principal fator que torna estas raças predispostas à CCS (SANCHES et al., 2007). Os cães da raça Yorkshire Terrier podem desenvolver a CCS antes dos seis meses de idade, devido a aplasia ou

hipoplasia das glândulas lacrimais. Nestes casos, o tratamento clínico da CCS não funciona e o prognóstico é desfavorável (WESTERMEYER et al., 2009).

Essa síndrome constitui frequentemente, grande fonte de frustração, tanto para os pacientes, como para os oftalmologistas que, não raramente, são vencidos pela persistência dos sintomas, apesar dos esforços para sua abordagem diagnóstica e terapêutica. O tema adquire sua real importância quando nos deparamos com o fato do olho seco ser uma das queixas mais comuns na prática oftalmológica. Na medicina veterinária esta afirmação também é verdadeira, sendo que os sinais clínicos apresentados pelos animais tendem a ser muito mais severos (FRIDMAN et al., 2004)

Atualmente, devido à grande importância alcançada pelos animais de estimação na vida do ser humano, surge crescente preocupação relacionada ao bem-estar e ao aumento de sua expectativa de vida. Dentre os vários males que acometem os animais de estimação, mais precisamente os cães, estão as oftalmopatias (SILVERIO et al., 2011).

A oftalmologia veterinária vem crescendo nos últimos anos, buscando diagnósticos mais precisos e tratamentos cada vez mais eficazes e precoces (GELLAT, 2003).

Doenças do sistema lacrimal e nasolacrimal não são incomuns e a CCS é frequentemente encontrada na prática clínica sendo resultante da deficiência do componente aquoso (desordem quantitativa) ou deficiências dos componentes lacrimais, normalmente deficiência na camada de mucina (desordens qualitativas), o que resulta em ressecamento e inflamação da conjuntiva e córnea, dor ocular, doença corneal progressiva e déficit visual. Isto ocorre comumente em cães e com menor frequência em gatos (GELLAT, 2003).

Clinicamente, a CCS caracteriza-se por secreção ocular mucoide, hiperemia conjuntival, blefaroespasmos, úlcera corneal recorrente, vascularização corneal e, em casos avançados, pigmentação corneal. Cegueira ou déficit de visão do olho afetado provavelmente resultam da densa opacificação e pigmentação ou ainda de perfuração corneal secundária a uma ulceração profunda da córnea (GUM et al., 2007).

De acordo com pesquisa realizada por Hartley et al. (2009) em cães hígdos, há variação circadiana na produção lacrimal de 0,7 mm/min. Na parte da manhã, a produção de lágrima é menor que na parte da tarde. Outro fator que interfere na produção lacrimal é a idade do animal. Há redução de 0,4 mm/min no teste de Schirmer a cada um ano de idade.

O tratamento para CCS inclui uso de anti-inflamatórios, antibióticos, substitutos artificiais da lágrima e estimulantes da produção natural de lágrima (Ciclosporina A, Tacrolimus, Sirolimus). Apesar de todas essas terapias serem benéficas, a estimulação da produção lacrimal com uso de imunomoduladores tem se mostrado a alternativa mais eficaz na melhora dos sinais clínicos e prevenção da perda da visão (GRAHN e STOREY, 2004).

A CCS afeta diretamente a qualidade de vida do paciente, seja ele humano ou animal, pois leva a uma situação de incômodo e irritabilidade constantes. Particularmente em animais, esse quadro é mais severo, pois os sinais são percebidos pelos proprietários em estágios muito avançados da doença, e ainda, a medicação e lubrificação ficam na dependência total e completa do proprietário (FONZAR, 2014).

A Ciclosporina A é um antibiótico macrolídeo que foi isolado a partir do fungo *Tolypocladium inflatum*. Sua estrutura molecular é constituída por um undecapeptídeo cíclico hidrofóbico. No citoplasma, a CsA liga-se às ciclofilinas. O complexo ciclofilina/CsA bloqueia a calcineurina induzindo a fosforilação de fatores de transcrição que estão envolvidos na expressão células T, tais como a IL-2 e INF-gama. O efeito do tratamento com CsA é o bloqueio da resposta de Th1 e indução da expressão de MHC classe I (TIZARD, 2002).

A Ciclosporina A (CsA) foi a primeira droga a ser testada via tópica para tratar a CCS em cães. Os primeiros trabalhos sugeriam uma concentração para uso oftalmológico de 2% (MORGAN e ABRAHAMS, 1991). Já outros sugeriam 1% (OLIVERO et al., 1991) e a formulação comercial mundialmente conhecida Optimune (Union, New Jersey) apresenta concentração de 0,2%. A CsA é um metabólito fúngico natural que foi extensivamente estudado devido ao seu uso como imunossupressor no controle da rejeição de transplantes de órgãos e no tratamento



de enfermidades imunomediadas. Sua apresentação tópica oftalmológica foi aprovada pela *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) em dezembro de 2002 (BERTELMANN e PLYER, 2004).

Em humanos, já teve sua eficácia tópica em oftalmologia comprovada no alívio de sinais da CCS e atividade anti-inflamatória. Apesar dos efeitos adversos da administração de CsA pelas vias oral e intravenosa como nefrotoxicidade e hipertensão, o uso tópico demonstrou baixa absorção sistêmica e nenhum efeito colateral, a não ser uma sensação passageira de queimação após a aplicação, relatada por alguns pacientes (SALL et al., 2000).

Os efeitos imunomodulatórios da CsA ocorrem pela inibição da ativação de células T. Ela atua no citoplasma formando um complexo com a ciclofilina A, que se liga à calcineurina resultando em produção de citocinas. Estudos demonstraram diminuição da IL-6 após seis meses de tratamento tópico com CsA (TURNER et al., 2000). Outro mecanismo da Ciclosporina A seria a inibição da apoptose, demonstrada em humanos e em células da glândula lacrimal de cães (KASWAN e SALISBURY, 1989).

O Tacrolimus (FK506) é um antibiótico macrolídeo isolado da fermentação do *Streptomyces tsukubaensis*. A molécula liga-se a uma proteína de ligação citosólica específica, a proteína de ligação FKBP, formando um complexo que inibe a expressão da fase inicial de ativação de células T, inibindo a resposta imune mediada por essas células (WHITLEY e DAY, 2011).

Assim como a CsA, o Tacrolimus é lipofílico, embora após aplicação tópica o nível intraocular atingido pelo Tacrolimus demonstrou ser mais elevado que o atingido pela CsA. Níveis intraoculares podem ser significativamente aumentados por combinação do fármaco com os veículos de transporte, como lipossomas (MOLOKHIA et al., 2013). Em humanos o uso tópico do tacrolimus foi considerado benéfico no tratamento de pacientes após ceratoplastia por causa de úlcera de Mooren e também em pacientes que sofrem de conjuntivite atópica, com redução dos sinais clínicos (MOORE, 2004).

Williams (2008) relata que em casos refratários ao efeito lacrimogênico da Ciclosporina, o uso do Tacrolimus apresenta melhora dos sinais clínicos devido ao efeito lacrimogênico do Tacrolimus ser mais potente que o da Ciclosporina. Moore (2004) refere que a atividade do Tacrolimus *in vitro* é 10 a 100 vezes mais potente que a CsA. O Tacrolimus tópico já foi avaliado em uma série de trabalhos com bons resultados para o tratamento da CCS em cães. Uma formulação a 0,03% aplicada duas vezes ao dia demonstrou ser segura e tão eficaz quanto a CsA 2% (GRAHN e STOREY, 2004). Em outro trabalho a concentração de 0,02% também foi capaz de aumentar a secreção lacrimal sem efeitos colaterais em cães (BERDOULAY et al., 2005).

**Artigo 1**

**DIFERENTES TRATAMENTOS DA CERATOCONJUNTIVITE SECA EM CÃES -  
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Francieli Marconato, Ney Luis Pippi e Fernanda Silveira Flores Vogel

(artigo submetido à revista **MEDVEP** em 28/11/2016)

**DIFERENTES TRATAMENTOS DA CERATOCONJUNTIVITE SECA EM CÃES -  
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

DIFFERENT TREATMENTS OF KERATOCONJUNTIVITE SICCA IN DOGS - BIBLIOGRAPHICAL  
REVIEW

**Francieli Marconato – Doutoranda do Programa de Pós Graduação em  
Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria  
– RS, e-mail: francielim263@gmail.com**

**Ney Luis Pippi – Médico Veterinário, Professor do Departamento de Clínica de  
Pequenos Animais - UFSM**

**Fernanda Vogel – Médica Veterinária, Professora do Departamento de Medicina  
Veterinária Preventiva, UFSM**

**RESUMO**

Os animais domésticos são frequentemente acometidos por afecções corneais e o principal objetivo para a reparação é manter a integridade ocular e a transparência da córnea, evitando a diminuição da acuidade visual. A Ceratoconjuntivite seca (CCS) é uma doença comum em cães e gatos que pode ocorrer devido à deficiência quantitativa e/ou qualitativa do filme lacrimal pré-corneal, ou ainda por uma combinação de ambas. Caracteriza-se por uma desordem multifatorial lacrimal e da superfície ocular, associada a sintomas de desconforto ou distúrbios visuais. Os sinais incluem ardor, prurido, hiperemia conjuntival, lacrimejamento, sensações de corpo estranho e fotofobia. Devido aos fatores descritos, há necessidade de tratamento para aliviar esses sinais e os diversos tratamentos serão descritos nesse artigo.

Palavras-chave: Ceratoconjuntivite seca, córnea, colírio, lacrimomiméticos, cães.

## **ABSTRACT**

Domestic animals are often affected by corneal conditions and the main purpose for repair is to maintain ocular integrity and transparency of the cornea, avoiding a decrease in visual acuity. Keratoconjunctivitis Sicca (KCS) is a common disease in dogs and cats that can occur due to the quantitative and qualitative deficiency of the precorneal tear film, or a combination of both. It is characterized by a multifactorial lacrimal disorder and ocular surface, associated with symptoms of discomfort or visual disturbances. The clinical signs include burning, pruritus, conjunctival hyperemia, tearing, foreign body sensations and photophobia. Because of the factors described, there is a need for treatment to alleviate these signs and the various treatments will be described in this article.

**Keywords:** Keratoconjunctivitis sicca, cornea, eye drops, lacrimomimetics, dogs.

## **INTRODUÇÃO**

Os animais domésticos são frequentemente acometidos por afecções corneais e diversos estudos visam à reparação das mesmas com o mínimo possível de sequelas, evitando assim a diminuição da acuidade visual. Devido à córnea ser uma estrutura transparente que necessita desta característica para a perfeita refração a busca por tratamentos que preservem sua integridade é frequente (1).

A córnea apresenta duas funções, uma mecânica, em que juntamente com a esclera mantém a integridade física do olho e outra óptica que permite a passagem de luz até a retina e atua na função de foco (2).

A ceratoconjuntivite seca (CCS) é uma oftalmopatia crônica e potencialmente prejudicial à visão. Ela é caracterizada pelo déficit na produção e aumento na evaporação do filme lacrimal. Hiperemia conjuntival, prurido ocular, quemose, sensação de presença de corpo estranho, blefarospasmo, fotofobia, ceratite com pigmentação e neovascularização corneais, conjuntivite e visão turva são sinais clínicos associados à condição (3).

A síndrome da disfunção lacrimal, conhecida como olho seco, tem uma alta prevalência em humanos, atingindo aproximadamente 14 a 33% da população mundial. É caracterizada por uma desordem multifatorial lacrimal e da superfície ocular, associada a sintomas de desconforto ou distúrbios visuais. Estes sintomas incluem ardor, prurido, hiperemia conjuntival, lacrimejamento, sensação de corpo estranho e fotofobia (4).

A síndrome do olho seco constitui frequentemente, grande fonte de frustração, tanto para os pacientes, como para os oftalmologistas que, não raramente, são vencidos pela persistência dos sintomas, apesar dos esforços para sua abordagem diagnóstica e terapêutica. O tema adquire sua real importância quando nos deparamos com o fato do olho seco ser uma das queixas mais comuns na prática oftalmológica. Na medicina veterinária esta afirmação também é verdadeira, sendo que os sinais clínicos apresentados pelos animais tendem a ser muito mais severos (5).

Atualmente, devido à grande importância alcançada pelos animais de estimação na vida do ser humano, surge crescente preocupação relacionada ao bem-estar e ao aumento de sua expectativa de vida. Dentre os vários males acometidos nos animais de estimação, mais precisamente nos cães, estão as oftalmopatias (4).

Doenças do sistema lacrimal e nasolacrimal não são incomuns e a deficiência da lágrima, ceratoconjuntivite seca (CCS) ou olho seco é frequentemente encontrada na prática clínica. A ceratoconjuntivite seca é uma doença ocular comum em cães, resultante da deficiência do componente aquoso (desordem quantitativa) ou deficiências dos componentes lacrimais, normalmente deficiência na camada de mucina (desordens qualitativas), o que resulta em ressecamento e inflamação da conjuntiva e córnea, dor ocular, doença corneais progressiva e déficit visual. Isto ocorre comumente em cães e com menor frequência em gatos (6).

## **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **Etiologia**

Qualquer raça de cães pode ser acometida, contudo a incidência é maior nas raças Shih Tzu, Lhasa Apso, Pequinês, Buldogue Inglês, Yorkshire Terrier, Pug, Cocker Spaniel Americano, West Highland White Terrier e Schnauzer, o que sugere uma predisposição genética (6,7). Em gatos, entre as raças mais frequentemente acometidas por CCS encontram-se Burmês, Abissínio, Himalaia e Persa (8).

A CCS pode ser induzida pela administração sistêmica prolongada de sulfas ou sulfato de atropina tanto tópica quanto sistêmica (9), fármacos pré-anestésicos como buprenorfina e medetomidina, entre outros, também induzem a diminuição transitória da produção lacrimal em cães (10). A ceratoconjuntivite seca também

pode estar relacionada a endocrinopatias como hipotireodismo, hipoadrenocorticismo, hiperadrenocorticismo, diabetes mellitus e hipoestrogenismo (6). Doenças sistêmicas como a cinomose e o herpes vírus podem causar CCS em cães e gatos respectivamente (11).

A remoção cirúrgica da glândula da terceira pálpebra tem sido relatada como causa importante de CCS em cães. Trauma orbital ou supraorbital também pode causar CCS por lesão direta das glândulas lacrimais ou de sua inervação. Além dessas condições, tem sido observado que o envelhecimento também contribui para a diminuição da produção de lágrima. Animais que apresentam idade próxima de cinco ou seis anos são mais acometidos por CCS (9).

Inúmeros estudos sugerem que, a despeito da etiologia, a CCS é uma doença inflamatória imuno-mediada da glândula lacrimal, que também acomete as glândulas lacrimais acessórias e tarsais, a córnea, a conjuntiva e as interconexões neuronais (12). Nesta enfermidade, a infiltração linfocítica progressiva, constituída, predominantemente, de linfócitos T CD4+, é característica na histopatologia da superfície ocular, este evento pode ser identificado na presença de desordens sistêmicas auto-imunes, como a síndrome de Sjögren, ou na inflamação ocular imuno-mediada local, observada em olhos secos sem complicações sistêmicas (9).

### **Sinais clínicos**

A ceratoconjuntivite seca (CCS) ou síndrome do olho seco é uma afecção oftálmica caracterizada pelo ressecamento da superfície ocular, dor, enfermidade corneal e conjuntival progressiva associada com perda da visão. Diversas espécies animais são acometidas, principalmente os cães. A incidência de CCS em cães tem sido estimada em 5% (6,9).



Os sinais clínicos podem ser uni ou bilaterais e variam consideravelmente de acordo com o tempo decorrido do início da CCS. Nos estágios mais precoces frequentemente observa-se desconforto ocular, secreção mucoide, hiperemia conjuntival intensa, fotofobia e neovascularização da córnea. A córnea poderá apresentar-se edemaciada, irregular e muitas vezes ulcerada. Ressecamento ocular severo não tratado pode resultar em perfuração corneal e perda visual. Normalmente o muco acumulado é a parte integrante do filme lacrimal que não é drenado pelo sistema lacrimal (13).

Nos estágios mais avançados ocorre maior ressecamento da superfície ocular, neovascularização e pigmentação da córnea e muitas vezes resultando em perda da visão (Figura 1 e 2) (13).

### **Diagnóstico**

O diagnóstico da CCS é estabelecido com base na combinação das informações da anamnese e do exame oftalmológico (6). O diagnóstico deve ser precoce e preciso para prevenir e tratar a tempo as complicações da CCS. É fundamental obter a história clínica completa do paciente, especialmente em relação à presença de doenças sistêmicas, ao uso de medicamentos que possam ter desencadeado a CCS e a uma possível remoção cirúrgica da glândula da terceira pálpebra (14).

Ambos os olhos deverão ser examinados, tendo em vista que grande parte dos casos de CCS é bilateral. Durante o exame oftálmico deve ser realizada biomicroscopia com lâmpada de fenda, a quantificação da produção lacrimal e o uso de corantes vitais (6).

A biomicroscopia com lâmpada de fenda proporciona magnificação e estereopsia, permitindo avaliação detalhada da superfície ocular, particularmente das úlceras corneais. A quantificação da porção aquosa da lágrima tem fundamental importância no que tange à confirmação do diagnóstico de CCS (6).

O teste de Schirmer é um método semiquantitativo de mensuração da produção do filme lacrimal pré-corneano. Ele é realizado com tiras estéreis e individualmente embaladas, manufaturadas com papel absorvente (Whatman paper 41), com um entalhe a 5 mm de sua extremidade. Cada tira é dobrada neste entalhe e inserida na porção medial da pálpebra inferior durante 60 segundos. A distância do entalhe até a extremidade umedecida do papel é mensurada imediatamente após a remoção da tira do olho (Figura 3). A interpretação dos resultados baseia-se na mensuração de valores feita da seguinte forma: 1) de 15 mm/ min ou acima: produção normal; 2) entre 11 e 14 mm/min: CCS incipiente; 3) entre 6 e 10 mm/min: CCS moderada; 4) entre 0 e 5 mm/min: CCS severa (15).

O tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL) é o tempo em que filme lacrimal pré-corneano apresenta pontos de ressecamento logo após a instilação de fluoresceína (13). Este teste é realizado instilando-se uma gota de fluoresceína no olho e, então, manualmente, segurando as pálpebras abertas, o tempo é registrado a partir do último piscar, até o aparecimento do primeiro ponto seco, que surge como uma área escura no filme amarelo esverdeado de fluoresceína. Um filtro de azul cobalto deve ser utilizado no exame da córnea e tempo de ruptura normal no cão deve ser 20 segundos ou mais (6,13). O tempo de ruptura do filme lacrimal está supostamente relacionado à composição da camada lipídica do filme ou à natureza do filme corneano (6,13,16).

## Tratamento

O tratamento medicamentoso é instituído inicialmente, e tem como metas a reposição e a estimulação da produção lacrimal para que seja mantida a integridade da superfície ocular (6,8).

Para a reposição lacrimal foram desenvolvidos colírios com composição semelhante aos componentes da lágrima. As lágrimas artificiais são indicadas para umedecer a superfície ocular e aliviar o desconforto. Devem ser instiladas 6 a 8 vezes ao dia e geralmente associadas com outros agentes terapêuticos até que a produção lacrimal retorne aos níveis fisiológicos (17).

A partir das evidências da etiologia autoimune da CCS a ciclosporina A (CsA) tópica tem sido utilizada para estimular a produção lacrimal (18). A CsA foi introduzida no início da década de 80 como imunossupressor para uso pós-operatório em pacientes humanos submetidos a transplantes de órgãos (19).

Os linfócitos T infiltram a glândula lacrimal na CCS, destruindo os ácinos das células produtoras da camada aquosa da lágrima. A CsA é um imunomodulador específico que inibe os linfócitos T, particularmente as células T *helper*, revertendo o ciclo inflamatório e diminuindo a secreção de mediadores inflamatórios. O resultado é que o tecido glandular lacrimal que ainda se encontra viável recupera-se e reinicia a produção lacrimal (19,20). Para estimular a produção lacrimal, a CsA é utilizada na forma de colírio ou pomada em intervalos regulares de 8 ou 12 horas, dependendo da severidade do caso, porém, a CsA não é eficaz para todos os casos (6). Várias semanas de tratamento contínuo são necessárias para que o aumento na produção lacrimal seja observado e normalmente a CsA é utilizada durante toda a vida do paciente (6).

O Tacrolimus é um antibiótico macrolídeo isolado da fermentação do *Streptomyces tsukubaensis*. A molécula liga-se a uma proteína citosólica específica, a proteína de ligação FK (FKBP), formando um complexo que inibe a expressão da fase inicial de ativação de células T, inibindo a resposta imune mediada por estas células (21).

A Rapamicina ou Sirolimus é também um antibiótico macrolídeo isolado da fermentação do *Streptomyces hygroscopicus*, há mais de uma década de uma amostra de solo em Ilha de Páscoa (Rapa Nui) e, apesar de ser um potente antifúngico, a Rapamicina vem sendo estudada também por suas propriedades antitumorais e imunossupressoras (22).

Apesar da estrutura da Rapamicina ser muito semelhante à do Tacrolimus e os dois componentes compartilharem da mesma proteína de ligação (FKBP), seus mecanismos de ação molecular são diferentes. O Tacrolimus inibe a fase inicial de ativação das células T, enquanto que a Rapamicina inibe uma fase tardia. Sendo assim, quando se utiliza Rapamicina conjuntamente com Tacrolimus é esperado um efeito sinérgico, potencializando a ação de ambos os fármacos. Com a associação dos dois princípios a dose necessária a ser utilizada de cada composto diminui (23).

O Pimecrolimus é um anti-inflamatório derivado macrolactâmico da ascomicina, uma das substâncias produzidas pelo fungo *Streptomyces hygroscopicus*, e inibidor seletivo da produção e liberação de citocinas pró-inflamatórias e mediadores em células T e mastócitos. A inibição da calcineurina minimiza a ação do linfócito T de maneira bastante controlada, obtendo melhora do quadro inflamatório, sem o comprometer a função imunológica sistêmica (24).

Quando utilizamos o Pimecrolimus, o tratamento é efetivo na maioria dos animais e, apesar de alguns não tolerarem a formulação oftálmica a 1% em base de óleo de milho, acredita-se na superioridade à ciclosporina devido seu maior potencial intrínseco e sua maior permeabilidade tecidual devido seu baixo peso molecular (25). Porém, atualmente há dificuldade de acesso à molécula para manipulação no Brasil por dificuldades importação da matéria prima.

Foi comparada a utilização de óleo de peixe e óleo de linhaça por via oral em coelhos e, concluiu-se que ambos os produtos contribuíram para a melhora significativa da CCS, visto que são ricos em ômega 3 e 6 considerados anti-inflamatórios naturais, podendo ser úteis como adjuvantes no tratamento de CCS (26).

A Pilocarpina é um colinérgico direto, predominantemente muscarínico, cujo efeito é similar à acetilcolina (27). As secreções das glândulas lacrimais podem ser aumentadas pelo estímulo parassimpático e a resposta positiva depende da resposta de tecido lacrimal funcional, podendo ser utilizada também por via oral (27). Também foi relatado que além da função lacrimoestimulante, a pilocarpina provoca irritação local causando hiperemia conjuntival e blefarospasmo (28). Para evitar as reações adversas pode-se recomendar o uso da medicação tópica por via oral, junto com a comida, de 1 a 2 gotas para cada 15kg, e aplicado inicialmente 8 vezes ao dia, diminuindo a frequência progressivamente (29).

O tratamento cirúrgico envolve o transplante de glândulas salivares labiais no fórnice conjuntival e a técnica apresentou resultados satisfatórios, ocorrendo melhora clínica dos animais (15). Na técnica se faz a obtenção do enxerto das glândulas labiais da porção interna do lábio superior ou inferior com um corte elíptico

sendo a incisão aprofundada até o plano muscular, após a obtenção do enxerto este é suturado no fórnice conjuntival superior. Nos resultados deste estudo observou-se melhora clínica dos pacientes, porém os resultados dos TLS não observaram melhora significativa (15).

Outro procedimento que pode ser utilizado é a oclusão do ducto nasolacrimal utilizando adesivo de cianoacrilato ou até mesmo sutura e no referido estudo, tendo sido observado melhora clínica e o aumento dos valores do TLS (30).

A técnica de transposição do ducto da glândula parótida deve ser considerada em pacientes não responsivos à terapia com fármacos tópicos (13) por período mínimo de oito semanas (32). A técnica foi aplicada por Herrera et al. (2007) no tratamento de cães com suspeita de aplasia ou hipoplasia de glândula lacrimal, não responsivos à ciclosporina, tendo sido observada secreção salivar excessiva e dermatite facial. Outra complicação é a obstrução do ducto transplantado (33). Além disto, a natureza serosa da secreção da glândula parótida difere da composição do filme lacrimal humano (34, 35).

### **Considerações finais**

Com base nos estudos realizados nesta revisão, chega-se a conclusão que a medicação que apresenta melhor benefício para os animais é o colírio tacrolimus 0,03%. Quando o tratamento medicamentoso não é mais eficaz deve-se associar a técnica de oclusão do ducto nasolacrimal, que é uma técnica rápida e de fácil execução, porém não é indicada em pacientes com produção lacrimal de 0mm/min, sendo nestes casos indicado o transplante de glândulas labiais.

## Referência Bibliográfica

1. MARINHO, L. F. L. P. **Uso da membrana amniótica xenóloga, preservada em glicerina ou criopreservada, após úlceras experimentais em coelhos, avaliação clínica e histomorfométrica.** Tese apresentada a Universidade Estadual Paulista (UNESP)- Botucatu para obtenção do título de doutor, 118p., 2006.
2. BRAGA, F.A. **Uso do adesivo de cianoacrilato para fixação de botão corneal autólogo ou alógeno conservado em glicerina a 98% na ceratoplastia penetrante em coelhos.** Tese apresentada a Universidade Federal de Santa Maria para obtenção do título de doutor, 65p., 2007.
3. ALMEIDA, D. E. **Expressão gênica de citocinas e histopatologia da conjuntiva bulbar de cães acometidos por ceratoconjuntivite seca decorrente de cinomose** Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Cirurgia Veterinária. Jaboticabal-SP, 96p., 2006.
4. SILVÉRIO, J.; LUCCI, L.M.; FONSECA JÚNIOR, N.L.; REHDER, J.R. Efeitos da blefaroplastia na síndrome da disfunção lacrimal. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, 70(3):151-6, 2011.
5. FRIDMAN, D., FREITAG, M.M., KLEINERT, F., LAVINSKY, J. Olho seco: conceitos, história natural e classificações. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, 67(1):181-5, 2004.
6. GELLAT, N.K. Doença e cirurgia dos sistemas lacrimal e nasolacrimal do cão. In: Gellat NK. **Manual de oftalmologia veterinária.** 3a ed. São Paulo: Manole; p. 73-83, 2003.
7. CHRISTMAS, R. E. Common ocular problems of Shih Tzu dogs. **The Canadian Veterinary Journal**, v.33, n.6, p.390-393, 1992.
8. WITHELY, D. The treatment of keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Medicine**. v.3, p.1076-1093, 1991.
9. BARROS, P. S. M. Córnea em medicina veterinária. In: BELFORT, R.; KARA-JOSÉ, N. **Córnea Clínica-Cirúrgica.** Roca; p.603-607, 1997.
10. MARGADANT, D. L. et al. Effect of topical tropicamide on tear production as measured by Schirmer's tear test in normal dogs and cats. **Veterinary Ophthalmology**, v.6, n.4, p.315-320, 2003.
11. BRITO, F. L. C. Et al. Microalterations in the third eyelid gland of dogs with keratoconjunctivitis sicca secondary to distemper. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, p.340-344, 2007.
12. GAO, J.; MORGAN, G.; TIEU, D.; SCHWALB, T.A.; LUO, J.Y.; WHEELER, L.A.; STERN, M.E. ICAM-1 expression predisposes ocular tissue to immune-based inflammation in dry eye patients and Sjögrens syndrome-like MRL-lpr mice. **Experimental Eye Research**, v. 78, p. 823-835, 2004.
13. HERRERA, H. D. et al. Severe, unilateral, unresponsive keratoconjunctivitis sicca in 16 juvenile Yorkshire Terriers. **Veterinary Ophthalmology**, v.10, n.5, p.285-288, 2007.
14. ALMEIDA, D. E. et al. Iatrogenic keratoconjunctivitis sicca in a dog. **Ciência Rural**, v.34, n.3, p.921-924, 2004.
15. CASTANHO, L.S., et al. Transplante de glândulas salivares labiais no tratamento de olho seco em cães pela autoexertia. **Revista Brasileira de Oftalmologia**. n.72 (6): 373-8, 2013.

16. SLATTER, D. **Fundamentos de Oftalmologia Veterinária**. 3.ed. São Paulo: Roca, p. 686, 2005.
17. MOORE, C. P. Diseases and surgery of the lacrimal secretory system. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 3.ed., Philadelphia: Lippincott Williams; Wilkins, p.583-618, 1999.
18. MORGAN, R. V.; ABRAMS, K. L. Topical administration of cyclosporine for treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.199, n.8, p.1043-1046, 1991.
19. FUKUSHIMA, A. et al. Cyclosporin A inhibits eosinophilic infiltration into the conjunctiva mediated by type IV allergic reactions. **Clinical & Experimental Ophthalmology**, v.34, n.1, p.347-53, 2006.
20. TANG-LIU, D.; ACHEAPONG, A. Ocular pharmacokinetics and safety of ciclosporin, a novel topical treatment for dry eye. **Clinical Pharmacokinetics**. v.44, p.247-261, 2005.
21. WHITLEY, N.T.; DAY, M.J. Immunomodulatory drugs and their application to the management of canine immune-mediated disease. **Journal of small animal practice**, v.52, n.12, 670, 2011.
22. SEM, N.H.; LARSON, T.A.; MELETH, A.D. et al. Subconjunctival sirolimus for the treatment of chronic active anterior uveitis: results of a pilot trial. **American Journal of Ophthalmology**. 2012; 20:1-5.
23. IKEDA, E., HIKITA, N., ETO, K. et al. Tacrolimus-rapamycin combination therapy for experimental autoimmune uveoretinitis. **Japanese Journal Ophthalmology** 1997; 41:6.
24. CASTRO, A. P. B. M. Inibidores de Calcineurina no tratamento das dermatoses alérgicas. **Jornal de Pediatria**, p. 54, 2006.
25. MOTTA, D. A. **Comparação de dois protocolos de tratamento de ceratoconjuntivite seca experimentalmente induzida em coelhos**. Dissertação apresentada a Universidade do Oeste Paulista (Unoeste) para obtenção do título de mestre, 66p., 2011.
26. SILVA, D.A. **Comparação entre o óleo de peixe e de linhaça por via oral no tratamento de Ceratoconjuntivite Seca experimentalmente induzida em coelhos**. Presidente Prudente – SP. Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), 2014.
27. SILVA, P. **Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**. 3ª Edição. Philadelphia. W. B. Saunders Company, 304p., 2001.
28. ADAMS, H.R. Áreas específicas da farmacologia. In: Adams, H.R. **Farmacologia terapêutica em veterinária**. 8ª edição, Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, p.935-936, 2003.
29. SPINOSA, E.M., et al. Farmacologia Oftálmica. In: **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5ª edição. Rio de Janeiro –RJ: Guanabara Koogan, p. 713, 2011.
30. CARDOSO, K.C.F. et al. Clinical and histological effects of the temporary occlusion of the rabbit nasolacrimal duct and point using cyanoacrylate adhesives. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n. 6, p.1729-1737, 2013.
31. GIULIANO, E.A.; MOORE, C.P. Diseases and surgery of the lacrimal secretory system. In: GELATT, K.N. **Veterinary ophthalmology**. 4.ed. Victoria: Blackwell, cap. 13, p. 633-661, 2007.



32. TERMOTE, S. Parotid salivary duct mucocele and sialolithiasis following parotid duct transposition. **Journal of Small Animal Practice**, v. 44, n. 1, p. 21-23, 2003.
33. SOARES, E.J.C.; FRANÇA, V.P. Transplante de glândulas salivares labiais no tratamento do olho seco grave. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 68, n. 4, p. 481-489, 2005.
34. CHEN, W.L.; LIU, S.; LI, H.G.; WANG, Y.Y.; WANG, K. Transplantation of a reverse facial artery pedicled submandibular gland in a dog. **International Journal of Oral Maxillofacial Surgery**, v. 37, p. 1054-1058, 2008.
35. MURUBE, J. Cirugía substitutiva del ojo seco y transplantes glandulares. In: \_\_\_\_\_. **Ojo seco**. Quito: Tecnimedia, cap. 40, p. 207-221, 2007.

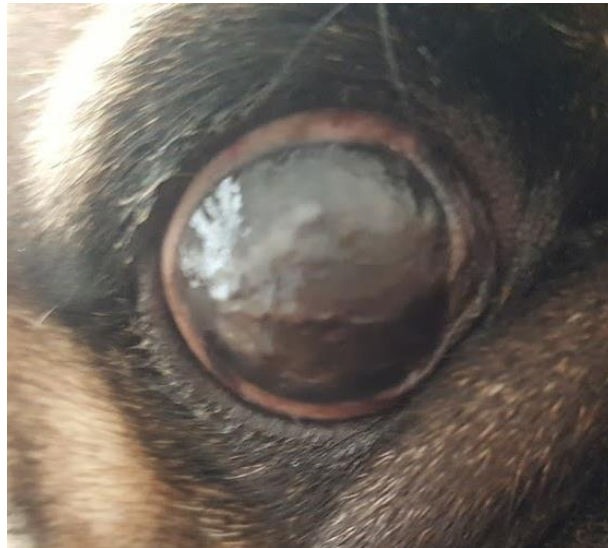


Figura 1 – Cão da raça Pug, 9 anos, apresentando intenso ressecamento corneano e pigmentação corneana devido a Ceratoconjuntivite seca crônica.



Figura 2 – Cão da raça Poodle, 8 anos apresentando certa conjuntivite seca associado a carcinoma de células escamosas evidenciado pelas estruturas avermelhadas localizadas na córnea.



Figura 3 – Realização do Teste Lacrimal de Schirmer (TLT) em paciente da raça Pug, 9 anos apresentando sinais de ceratoconjuntivite seca crônica.

**Artigo 2**

**PRODUÇÃO LACRIMAL INDUZIDA PELA CICLOSPORINA A E O TACROLIMUS  
EM CÃES HÍGIDOS**

Francieli Marconato e Fernanda Silveira Flores Vogel

(artigo submetido para publicação no dia 16/02/2017 para a revista **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**)

## **PRODUÇÃO LACRIMAL INDUZIDA PELA CICLOSPORINA A E O TACROLIMUS EM CÃES HÍGIDOS**

### **LACRIMAL PRODUCTION INDUCED BY CYCLOSPORINE A AND TACROLIMUS IN HEALTHY DOGS**

MARCONATO, F.<sup>1</sup>, VOGEL, F.S.F.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: francielim263@gmail.com

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), UFSM, Avenida Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

#### **Resumo**

O presente estudo teve por objetivo avaliar o emprego da ciclosporina A colírio 0,05% e pomada 0,05% e o tacrolimus 0,03% em cães hígidos com o objetivo de avaliar a estimulação da produção lacrimal e prováveis alterações oftálmicas causadas pela aplicação da medicação. Para isso, foram avaliados 18 olhos de cães através do Teste Lacrimal de Schirmer, Prova de Fluoresceína, Teste de Rosa de Bengala e demais alterações da superfície ocular. Os cães receberam as medicações na frequência de 12 em 12 horas e foram avaliados a cada 15 dias até completar 90 dias de avaliação. O tratamento empregado não gerou efeitos adversos oculares em nenhum animal estudado. A Ciclosporina A colírio e pomada e o Tacrolimus tópico incrementaram a produção lacrimal e a qualidade da lágrima dos animais tratados, sendo que o grupo que utilizou a Ciclosporina A na formulação de pomada apresentou resultado significativo ( $p=0,014$ ) no TLS. Com isso, conclui-se que a Ciclosporina na formulação de pomada oftálmica estimulou uma maior produção lacrimal no período de 90 dias de avaliação.

Palavras- Chave: filme lacrimal, colírio, pomada.

## **Abstract**

The aim of the present study was to evaluate the use of cyclosporin A 0,05% eye drops and 0,05% ointment and 0,03% tacrolimus in healthy dogs with the objective of evaluating the variation in lacrimal production and probable ophthalmic changes caused by the application of the medication. For this, 18 dog eyes were evaluated through the Schirmer Lacrimal Test, Fluorescein Test, Bengal Rose Test and other ocular surface changes. The dogs received the medications at the frequency of every 12 hours and were evaluated every 15 days until completing 90 days of evaluation. The treatment employed did not cause ocular adverse effects in any animal studied. Cyclosporin A eye drops and ointment and topical Tacrolimus increased lacrimal production and tear quality of the treated animals, and the group that used Cyclosporin A in the ointment formulation presented a significant result ( $p = 0,014$ ) in the Schirmer Lacrimal Test. Therefore, it is concluded that Cyclosporine in the formulation of ophthalmic ointment presents an increase in lacrimal production in the period of 90 days.

Keywords: lacrimal film, eye drops, ointment.

## **Introdução**

A ceratoconjuntivite seca é uma doença multifatorial que envolve a lágrima e a superfície ocular, e resulta em sinais de desconforto, dificuldade visual e danos severos a superfície ocular. A doença é acompanhada pelo aumento na osmolaridade do filme lacrimal e inflamação da superfície ocular (DEWS, 2007).

Caracterizada por ser uma oftalmopatia progressiva, crônica e potencialmente prejudicial à visão, a Síndrome do Olho Seco provoca um complexo de sinais clínicos causados pela anormalidade da película lacrimal pré-corneal e conjuntival (PIGATTO et al., 2007).

A maioria dos casos de ceratoconjuntivite seca é considerada idiopática e associada à diminuição da porção aquosa da lágrima, relacionada a doença imunomediada. A ceratoconjuntivite seca também pode estar relacionada a doenças metabólicas, cinomose, terapia sistêmica com sulfas, remoção da glândula da terceira pálpebra, entre outras causas (PIGATTO et al., 2007).

As anormalidades do filme lacrimal em cães podem ser classificadas quanto ao seu aspecto quantitativo, qualitativo ou ambos, sendo comumente observada na prática cotidiana. Alterações na produção de um ou mais componentes do filme lacrimal estão relacionadas à doença ocular em graus variados, denominada ceratoconjuntivite seca (LAUS et al., 2008). O filme lacrimal tem uma espessura de aproximadamente 35 a 45  $\mu\text{m}$  e pode ser separado em três camadas distintas: camada lipídica, camada aquosa e camada de mucina (McCULLEY et al., 2006).

A camada externa lipídica, secretada pelas glândulas tarsais, possui as funções de retardar a evaporação da lágrima e manter a estabilidade lacrimal. A camada intermediária aquosa é produzida pela glândula lacrimal principal e pela glândula lacrimal da terceira pálpebra, constitui 90% do filme lacrimal e contém inúmeros eletrólitos, glicose, ureia, polímeros de superfície ativos, glicoproteínas e proteínas lacrimais (globulinas, albumina, lizosima). A camada interna mucoide origina-se das células caliciformes da conjuntiva e confere adesão da lágrima à córnea, atuando na manutenção da integridade da superfície ocular (KUONEM, 2004).

As funções do filme lacrimal, incluem, principalmente, a nutrição e a proteção da córnea e da conjuntiva contra corpos estranhos e infecções. Além disso, a lágrima fornece uma superfície corneal homogênea para uma ótima eficiência óptica (SLATTER, 2005). A produção normal de lágrimas é importante para a manutenção da visão e da integridade da superfície ocular.

O tratamento medicamentoso é instituído inicialmente, e tem como metas repor e estimular a produção da lágrima e manter a integridade da superfície ocular (PIGATTO et al., 2008).

Para a reposição lacrimal foram desenvolvidos colírios com composição semelhante aos componentes da lágrima. As lágrimas artificiais são indicadas para umedecer a superfície ocular e aliviar o desconforto. As lágrimas artificiais devem ser instiladas 6 a 8 vezes ao dia e geralmente são associadas com outros agentes terapêuticos até que a produção lacrimal retorne aos níveis fisiológicos (MOORE, 1999).

As substâncias mucolíticas podem ser utilizadas para facilitar a remoção do muco. Normalmente utiliza-se, para este fim, colírio de acetilcisteína a 5% aplicado 3 a 4 vezes ao dia durante 30 a 60 dias (PIGATTO et al., 2008). Em casos de contaminação bacteriana secundária à CCS, colírios contendo antibióticos devem ser administrados. Inicialmente, o tratamento é prescrito três a quatro vezes ao dia, depois reduzido para duas vezes, conforme a secreção mucopurulenta diminui e, eventualmente, descontinuado quando os sinais de

infecção desaparecerem. Além disso, os proprietários devem ser instruídos para manter a superfície ocular limpa, minimizando o acúmulo de muco e o risco de contaminação bacteriana (PIGATTO et al., 2008).

A Ciclosporina (CsA) é um potente agente imunossupressor isolado do fungo *Tolypocladium inflatum gams*, e atua inibindo a atividade de células T e suprimindo citocinas inflamatórias na conjuntiva e na glândula lacrimal (KUNERT et al., 2000; TURNER et al., 2000). Além disso, promove o aumento da densidade das células caliciformes e redução da apoptose de células epiteliais na conjuntiva (PFLUGFELDER et al., 2008). Assim, a CsA, por meio da supressão da inflamação no olho e nas glândulas lacrimais, apresenta efeito lacrimogênico, ou seja, aumenta a produção de lágrimas (BEHRENS et al., 2007; KYMIONIS et al., 2008).

A CsA não é eficaz para todos os casos (GELATT, 2003). Várias semanas de tratamento contínuo são necessárias para que o aumento na produção lacrimal seja observado (GELATT, 2003).

O Tacrolimus é um antibiótico macrolídeo isolado da fermentação do *Streptomyces tsukubaensis*. A molécula liga-se a uma proteína citosólica específica, a proteína de ligação FK (FKBP), formando um complexo que inibe a expressão da fase inicial de ativação de células T, inibindo a resposta imune mediada por células T (WHITLEY e DAY, 2011).

## **Material e Métodos:**

A pesquisa foi conduzida obedecendo-se aos critérios da *Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO)* (ARVO 2012) e sob a anuência dos proprietários e aprovação da Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Rio Grande do Sul Brasil (Protocolo 6763171216/2016).

Nesse estudo foram utilizados 09 cães, machos ou fêmeas, com peso aproximado de 18 a 40 kg provenientes do banco de cães doadores de sangue do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM. Esses animais foram submetidos a exames oftalmológicos previamente ao início do experimento e depois de descartadas alterações que os desqualificassem para o estudo, foram alocados em box individuais com solário e um local

coberto e abrigado em cada box e mantidos com água à vontade e ração Royal Canin Maxxi Adult ofertada 2 vezes ao dia durante todo o período do experimento. Os cães eram treinados diariamente de acordo com a função exercida (guarda e proteção, faro de entorpecentes e/ou agility).

Todos os cães já estavam adaptados ao ambiente e alimentação há mais de um ano. As avaliações ocorreram no período compreendido entre às 14:00h e 16:00h, no período de outubro a janeiro, durante o verão, no estado do Rio Grande do Sul.

Os animais foram separados em três grupos experimentais de três animais cada, o grupo CsA col recebeu o colírio de CsA 0,05%, o grupo Tacro recebeu o colírio de tacrolimus 0,03% e o grupo CsA pom recebeu pomada de CsA 0,05%, em ambos os olhos. Em todos os animais a frequência de administração dos colírios ocorreu a cada 12 horas e o período de avaliação foi de 90 dias.

Como critério de inclusão no estudo, foram realizados exames de fundoscopia utilizando o oftalmoscópio e a avaliação da córnea, através da inspeção e do teste de fluoresceína para descartar qualquer alteração oftalmológica prévia ao experimento.

As avaliações clínicas dos cães ocorreram nos dias 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 após início do tratamento. Para tal, foram avaliados através do Teste Lacrimal de Schirmer (medido em mm/mim), prova de fluoresceína e teste com colírio Rosa de Bengala. Também se avaliou sinais de blefarospasmo, hiperemia conjuntival, secreção ocular (mucoide ou mucopurulento), opacidade corneal, vascularização corneal e pigmentação corneal, além de outros possíveis achados clínicos.

O blefarospasmo foi avaliado pela posição das margens palpebrais, abertura da rima palpebral e frequência do ato de piscar e foi classificado como: 0 = ausente (rima palpebral aberta, sem alterações no ato de piscar de olhos) e 1 = presente (rima palpebral semi-aberta, aumento na frequência do piscar de olhos).

A secreção ocular foi avaliada conforme a descarga ocular e pontuada conforme a intensidade da seguinte forma 0 = ausência de secreção ocular, 1 = presença de pequena quantidade de secreção no canto medial dos olhos e 2 = grande quantidade de secreção em toda a extensão das pálpebras.



A hiperemia conjuntival foi avaliada a coloração das conjuntivas palpebral e bulbar e pontuada, uma vez que reflete o grau de inflamação ocular em 0 = ausente 1 = presente 2 = intensa.

A vascularização corneal foi avaliada e pontuada da seguinte forma 0 = ausência de vascularização na córnea, 1 = vascularização restrita à periferia da córnea, 2 = vascularização em até  $\frac{1}{4}$  da superfície da córnea, 3 = vascularização em até  $\frac{1}{2}$  da superfície da córnea, 4 = vascularização em até  $\frac{3}{4}$  da superfície da córnea e 5 = vascularização em toda a superfície da córnea.

A pigmentação corneal foi avaliada e pontuada em 0 = ausência de pigmentação na córnea, 1 = pigmentação restrita à periferia da córnea, 2 = pigmentação em até  $\frac{1}{4}$  da superfície da córnea, 3 = pigmentação em até  $\frac{1}{2}$  da superfície da córnea, 4 = pigmentação em até  $\frac{3}{4}$  da superfície da córnea e 5 = pigmentação em toda a superfície da córnea.

A opacidade corneal foi avaliada da seguinte forma 0 = ausência de opacidade na córnea, 1 = opacidade restrita à periferia da córnea, 2 = opacidade em até  $\frac{1}{4}$  da superfície da córnea, 3 = opacidade em até  $\frac{1}{2}$  da superfície da córnea, 4 = opacidade em até  $\frac{3}{4}$  da superfície da córnea e 5 = opacidade em toda a superfície da córnea.

O Teste Lacrimal de Schirmer foi realizado para aferição da produção lacrimal. Para realização do teste os animais foram submetidos a contenção manual, sem anestesia local ou sedação. Uma fita milimetrada de papel absorvente estéril (Ophtalmos®) foi dobrada, posicionada no canto medial do olho e mantida em contato com a conjuntiva palpebral durante 1 minuto (Fig. 1). Em seguida, a leitura do resultado foi feita imediatamente, pela observação do umedecimento do papel. Valores iguais ou menores que 10 mm/min foram conclusivos para CCS.

A prova de fluoresceína é o resultado da impregnação da córnea e foi realizado após instilação do colírio de fluoresceína sódica a 1% e sob iluminação de lanterna clínica e o resultado avaliado em 0 = ausência de impregnação da córnea, 1 = impregnação restrita à periferia da córnea, 2 = impregnação em até  $\frac{1}{4}$  da superfície corneal, 3 = impregnação em até  $\frac{1}{2}$  da superfície corneal, 4 = impregnação em até  $\frac{3}{4}$  da superfície corneal e 5 = impregnação em toda a superfície corneal.

A presença de úlcera de córnea foi avaliada conforme a impregnação do colírio de fluoresceína e será avaliado e 0 = ausência de úlcera de córnea e 1 = presença de úlcera.

O Teste Rosa de Bengala (TRB) foi realizado instilando uma gota do corante Rosa de Bengala que detecta células desvitalizadas, defeitos epiteliais agudos ou filamentos de muco aderidos, corando-os em cor rosa brilhante e os resultados foram avaliados em 0 = ausente, 1 = corou apenas córnea, 2 = corou apenas conjuntiva e 3 = coraram córnea e conjuntiva.

Todos os sinais analisados foram anotados em ficha de cada paciente.



Figura 1 – Animais hípidos dos diferentes grupos realizando o Teste Lacrimal de Schirmer. O animal A pertence ao grupo CsA col, o animal B pertence ao grupo Tacro e o animal C pertence ao grupo CsA pom.

## Resultados e Discussão

A ceratoconjuntivite seca é uma doença multifatorial, crônica e progressiva da lágrima e da superfície ocular e provoca desconforto, dificuldade visual e instabilidade do filme lacrimal o que causa danos à superfície ocular (DEWS, 2007). Diante do exposto, optou-se por não utilizar cães com ceratoconjuntivite seca para testar os diferentes tratamentos, podendo assim, avaliar as variações do efeito da medicação lacrimogênicas em cães hípidos.

Segundo Ofri et al. (2007), a terapia imunossupressora promove significativo aumento na produção lacrimal (porção aquosa) e melhora os sinais clínicos de inflamação da superfície ocular em cães com ceratoconjuntivite seca, por esse motivo, foi utilizado nesse trabalho três

terapias imunossupressoras utilizando CsA colírio 0,05%, CsA pomada 0,05% e tacrolimus 0,03%. O grupo da CsA pomada obteve maior aumento da produção lacrimal ( $p=0,014$ ) (Tab. 1) em relação aos outros grupos, quando comparados em cada tempo, nenhum grupo obteve aumento da produção lacrimal estatisticamente significativa (Tab. 2).

Para esse trabalho, foi utilizado a CsA na formulação de colírio e pomada devido as pomadas terem ação mais duradoura que os colírios. Sua remoção se dá em uma taxa de 0,5% por minuto, o que leva à remoção completa em aproximadamente 3 horas e 30 minutos e lhes confere a vantagem de uma administração menos frequente que os colírios. As pomadas oftálmicas usualmente contêm lanolina anidra em base de óleo mineral ou petrolato. A lanolina é usada nas pomadas para facilitar a dispersão dos componentes hidrossolúveis. Entretanto, é considerado um agente potencialmente sensibilizante, podendo causar reações alérgicas locais, o que não foi observado nos animais desse experimento.

A formulação de colírios com substâncias altamente lipofílicas e insolúveis requer o uso de uma base oleosa, o que pode acarretar em algumas desvantagens como dificuldade de aplicação, irritação local e ainda possibilidade de reações alérgicas por conta do veículo oleoso (GILGER et al., 2013). Barabino et al. (2012) enfatizaram as limitações do uso tópico, pois o tratamento requer meses de continuidade para demonstrar sua eficácia e ainda alguns pacientes demonstram intolerância como ardência e irritabilidade após aplicação, o que faz com que o uso seja descontinuado. Nos animais avaliados não ocorreram reações alérgicas ou irritação local nos tempos avaliados, porém houve dificuldade de aplicação devido o produto estar armazenado em frasco de vidro âmbar e dispor de um conta gotas para a aplicação dos colírios.

Em artigo publicado por SOARES & FRANÇA (2005), o parâmetro de avaliação clínica utilizado nos períodos pré e pós-operatório de transplante de glândulas salivares labiais em humanos foi a observação da intensidade do brilho corneano nos pacientes. A justificativa do autor para não realizar o teste de Schirmer foi o incômodo que o exame poderia causar aos pacientes. Porém, esta justificativa não procede, uma vez que todos os animais avaliados apresentaram pouco sinal de desconforto no momento do teste e, além disso, o teste pode ser realizado utilizando a anestesia tópica da superfície ocular (teste de Schirmer II). O teste de Schirmer, por se tratar de parâmetro quantitativo tem especial importância na avaliação da lubrificação da superfície ocular e deve ser realizado.

Nesta pesquisa não foi utilizado nenhum colírio previamente ao exame, para evitar a interferência deste na leitura do teste de Schirmer. Não foi utilizado ar condicionado nem ventilador no ambiente do exame, pois estes poderiam promover

ressecamento ocular. Durante toda a pesquisa não foram utilizados fármacos diferente dos colírios avaliados que pudessem interferir negativamente na produção lacrimal como atropina, sulfonamidas e corticosteroides.

Os parâmetros clínicos avaliados nos diferentes tempos foram a presença de blefarospasmo, secreção ocular, hiperemia conjuntival, vascularização corneal, pigmentação corneal, opacidade corneal, teste de Fluoresceína (TF), Teste Rosa de Bengala (TRB) e presença de úlcera de córnea. Todos esses parâmetros estiveram ausentes em todos os períodos de avaliação, isso indica que os corantes de fluoresceína, Rosa de Bengala e os colírios utilizados nos diferentes grupos, não causam irritação local significativa.

Segundo Cardoso et al. (2006), o Teste de Rosa de Bengala, que é um corante de cor rosa forte, deve ser utilizado após a instilação prévia de colírio anestésico por ser altamente irritativo à superfície ocular. Esse teste serve para avaliar áreas de descontinuidade do filme lacrimal, ou seja, células mortas, degeneradas e filamentos de muco. Nesse trabalho, optou-se por não aplicar o colírio anestésico previamente a aplicação do Colírio Rosa de Bengala 1% e os animais avaliados não apresentaram desconforto ou irritação local.

Houve diminuição dos valores do TLS no Grupo CsA colírio nos dias 45, 75 e 90; CsA pomada nos dias 30, 60 e 75 e no Grupo Tacrolimus nos dias 15 e 90. Acredita-se que essa redução ocorreu devido à redução da umidade relativa do ar que poderia ter causado redução nos valores do teste de Schirmer em diferentes períodos de avaliação (Graf. 1). Entretanto, as condições climáticas não foram observadas e anotadas nesse estudo, mas Rocha (2012) avaliou a umidade relativa do ar e não observou redução nos valores de Schirmer nos dias de baixa umidade relativa do ar, o que permite concluir que a mudança da umidade não foi suficiente para influenciar nos resultados da pesquisa.

Nas últimas semanas de tratamento verificou-se declínio acentuado na produção lacrimal nos grupos CsA colírio e tacrolimus, esse fato poderia ser explicado pelo desenvolvimento de tolerância às medicações. Essa redução também foi observada por Ofri et al. (2007) a partir da vigésima semana de tratamento em alguns cães com CCS.

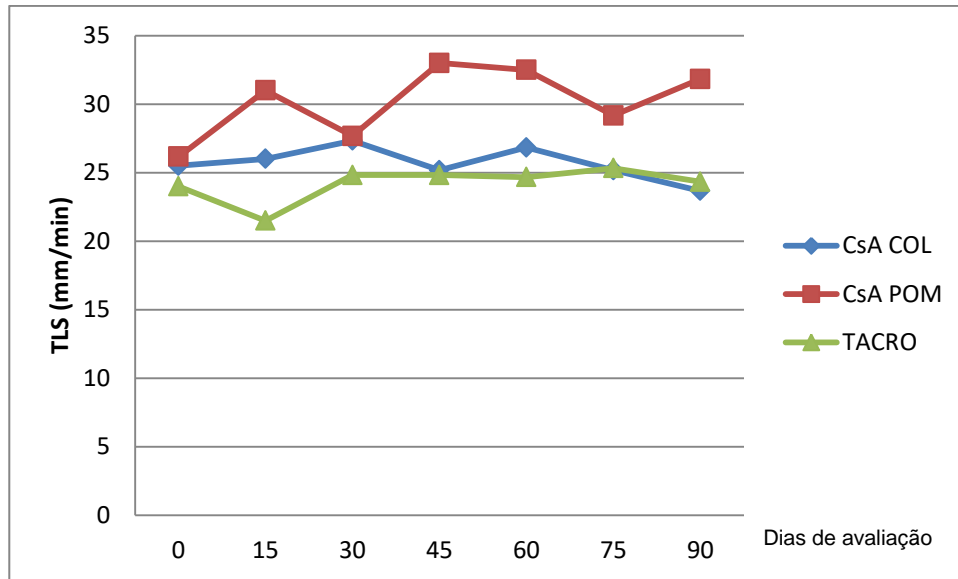


Gráfico 1 – Comparação das médias do Teste Lacrimal de Schirmer nos diferentes tempos de avaliação.

Tabela 1 – Análise das médias do TLS nos diferentes grupos e nos diferentes tempos de avaliação demonstrando que houve diferença estatística significativa no grupo Ciclosporina pomada ( $p=0,014$ ) analisado pelo teste de dupla análise de variância de Friedman de amostras relacionadas por postos.

Grupo	Teste Lacrimal de Schirmer (mm/min)							p*
	Dia 0	Dia 15	Dia 30	Dia 45	Dia 60	Dia 75	Dia 90	
Ciclosporina A colírio	25,5	26	27,33	25,17	26,83	25,17	23,67	0,962
Ciclosporina A pomada	26,17	31	27,67	33	32,5	29,17	31,83	<b>0,014</b>
Tacrolimus	24	21,5	24,83	24,83	24,67	25,33	24,33	0,703

Tabela 2 – Análise das médias do TLS nos diferentes tempos de avaliação demonstrando que não houve diferença estatística significativa nos grupos em cada tempo analisado pelo Teste de Jonckheere Terpstra.

Grupo	Teste Lacrimal de Schirmer (mm/min)						
	Dia 0	Dia 15	Dia 30	Dia 45	Dia 60	Dia 75	Dia 90
Ciclosporina A colírio	25,5	26	27,33	25,17	26,83	25,17	23,67
Ciclosporina A pomada	26,17	31	27,67	33	32,5	29,17	31,83
Tacrolimus	24	21,5	24,83	24,83	24,67	25,33	24,33
p*	p=0,065	p=0,239	p=0,54	p=0,774	p=0,799	p=0,744	p=0,935

### Conclusão

Diante do exposto, conclui-se que a Ciclosporina A 0,05% na formulação de pomada oftálmica apresentou melhor resultado na estimulação da produção lacrimal de cães hígidos quando comparados a Ciclosporina A 0,05% na fórmula de colírio e ao Tacrolimus 0,03%.

Houve variações nas médias do Teste Lacrimal de Schirmer ao longo dos 90 dias de avaliação com alguns momentos de redução nas médias do TLS.

A aplicação da Ciclosporina A colírio e pomada a 0,05% e o colírio Tacrolimus 0,03% não causou irritação local nos animais no período de 90 dias de avaliação.

### Referências

BARABINO S. et al. Ocular surface immunity: homeostatic mechanisms and their disruption in dry eye disease. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 31, n. 3, p. 271-285, 2012.

BEHRENS, A. et al. Dysfunctional tear syndrome study group. Dysfunctional tear syndrome: a Delphi approach to treatment recommendations. *Cornea*. 2006; 25(8):900-7. **Comment in Cornea**. 26(7):901, 2007.

CABRAL, P.V. et al. Canine lacrimal and third eyelid superficial glands macroscopic and morphometric characteristics. **Ciência Rural**, v.35, n.2, 2005.

CARDOSO, H.I. 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.

COSTER, D.J.; SHEPHERD, W.F.; FOOK, T.C.; RICE, N.S.; JONES, B.R. Prolonged survival of corneal allografts in rabbits treated with cyclosporin A. **Lancet**. V.2(8144):688-9, 1979.

DEWS – International Dry Eye WorkShop – Report. **The Ocular Surface**, v.5, n.2, p.142, 2007.

GILGER B.C.; WILKIE, D.A.; SALMON J.H.; PEEL, M.R. A topical aqueous calcineurin inhibitor for the treatment of naturally occurring keratoconjunctivitis sicca in dogs. **Veterinary Ophthalmology**., v. 16, n. 3, p. 192-197, 2013.

KYMIONIS, G.D.; BOUZOUKIS, D.I.; DIAKONIS, V.F.; SIGANOS, C. Treatment of chronic dry eye: focus on cyclosporine. **Clinical Ophthalmology**. 2(4):829-36, 2008.

KUNERT, K.S.; TISDALE, A.S.; STERN, M.E.; SMITH, J.A.; GIPSON, I.K. Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. **Archives Ophthalmology**. 118(11):1489-96, 2000.

LAUS, J.L. et al. Qualitative and quantitative tear film abnormalities in dogs. **Ciência Rural**, v. 38, n.2, 2008.

MOORE, C. P. Diseases and surgery of the lacrimal secretory system. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 3.ed., Philadelphia: Lippincott Williams; Wilkins, p.583-618, 1999.

PAIVA, C.S.; PFLUGFELDER, S.C. Rationale for anti-inflammatory therapy in dry eye syndrome. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**. 71(6 Suppl):89-95. Review, 2008.

PIGATTO, J.A.T.; et al. Ceratocomjuntivite seca em cães – Revisão de Literatura. **Veterinária em Foco**. v.5, n.2, p. 191-200, 2008.

PIGATTO, J.A.T., PEREIRA, F.Q., ALMEIDA, A.C.V.R., REDAELI, R., FAGANELLO, C.S., FRANZEN, A.A. Ceratoconjuntivite seca em cães e gatos. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.35., n.2, p.250-1, 2007.

PFLUGFELDER, S.C.; DE PAIVA, C.S.; VILLARREAL, A.L.; STERN, M.E. Effects of sequential artificial tear and cyclosporine emulsion therapy on conjunctival goblet cell density and transforming growth factor-beta2 production. **Cornea**. 27(1):64-9, 2008.

ROCHA, G.L.S. **Transplante autólogo das glândulas salivares labiais, oclusão cirúrgica dos pontos lacrimais ou associação das duas técnicas no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães**. Belo Horizonte, 2012 81p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 2012.

SLATTER, D. **Sistema lacrimal**. In: \_\_\_\_\_. *Fundamentos de Oftalmologia Veterinária*. 3.ed. São Paulo: Roca, 277p, 2005.

SOARES, E.J.C; FRANÇA, V.P. Transplante de glândulas salivares labiais no tratamento do olho seco grave. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**. 68 (4): 481-9, 2005.

TURNER, K.; PFLUGFELDER, S.C.; JI, Z.; FEUER, W.J.; STERN, M.; REIS, B.L. Interleukin- 6 levels in the conjunctival epithelium of patients with dry eye disease treated with cyclosporine ophthalmic emulsion. **Cornea**. 19(4):492-6, 2000.

UTINE, C.A.; et al. Clinical review: topical ophthalmic use of cyclosporin A. **Ocular Immunology Inflammation**. 18(5):352-61, 2010.

McCULLEY, J.P.; et al. Impact of evaporation on aqueous tear loss. **Transaction Of The American Ophthalmological Society**, v. 104, 2006.

OFRI, R., et al. Clinical evaluation of pimecrolimus eye drops for treatment of canine keratoconjunctivitis sicca: a comparasion with cyclosporine A. **The Veterinary Journal**, 2007.



**Artigo 3**

**PRODUÇÃO LACRIMAL INDUZIDA PELA CICLOSPORINA A E O TACROLIMUS  
EM CÃES COM CERATO CONJUNTIVITE SECA**

Francieli Marconato e Fernanda Silveira Flores Vogel

(artigo a ser submetido para revista **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**)

## **PRODUÇÃO LACRIMAL INDUZIDA PELA CICLOSPORINA A E O TACROLIMUS EM CÃES COM CERATOCONJUNTIVITE SECA**

### **LACRIMAL PRODUCTION INDUCED BY CYCLOSPORINA A AND TACROLIMUS IN DOGS WITH KERATOCONJUNCTIVIS SICCA**

MARCONATO, F.<sup>1</sup>, VOGEL, F.S.F.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: francielim263@gmail.com

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), UFSM, Avenida Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

#### **Resumo**

O presente estudo teve por objetivo avaliar o emprego da ciclosporina A colírio e o tacrolimus em cães com Ceratoconjuntivite Seca com o objetivo de avaliar a estimulação da produção lacrimal e as alterações clínicas oftálmicas nos animais atendidos. Foram avaliados 08 olhos de cães através do Teste Lacrimal de Schirmer, Prova de Fluoresceína, Teste de Rosa de Bengala e demais alterações do globo ocular como blefarospasmo, hiperemia conjuntival, secreção ocular, pigmentação corneal, opacidade corneal e a presença de úlcera de córnea. Os cães receberam as medicações na frequência de 12 em 12 horas e foram avaliados a cada 15 dias até completar 90 dias de avaliação. Ambos os colírios foram eficazes na atenuação dos sinais clínicos de ceratoconjuntivite seca em cães, bem como incrementaram a produção lacrimal dos animais tratados, porém com o uso do Tacrolimus foram obtidos melhores resultados.

Palavras- Chave: olho seco, tratamento, colírio, pomada.

## Abstract

The present study aimed to evaluate the use of cyclosporin A eye drops and tacrolimus in dogs with keratoconjunctivitis sicca in order to evaluate the stimulation of lacrimal production and clinical ophthalmic changes in the animals treated. Eight dog eyes were evaluated through Schirmer's Lacrimal Test, Fluorescein Test, Bengal Rose Test and other alterations of the eyeball such as blepharospasm, conjunctival hyperemia, ocular secretion, corneal pigmentation, corneal opacity and the presence of corneal ulcer. The dogs received the medications at the frequency of every 12 hours and were evaluated every 15 days until completing 90 days of evaluation. Both eye drops were effective in attenuating the clinical signs of dry keratoconjunctivitis in dogs, as well as increasing the lacrimal production of the treated animals, but with the use of Tacrolimus, better results were obtained.

Keywords: dry eye, treatment, eye drops, ointment.

## Introdução

A Ceratoconjuntivite Seca (CCS), mais comumente conhecida por olho seco, é uma condição inflamatória da superfície ocular causada pela redução patológica do componente aquoso do filme lacrimal, que leva à lesão da córnea. É comum no cão e diagnosticada por teste lacrimal de Schirmer (TLS) I com medida menor que 10mm/min concomitantemente com sinais clínicos patológicos da superfície ocular (WILLIAMS, 2008).

A CCS em cães pode ser classificada em dois tipos: no primeiro a produção lacrimal é deficiente e, no segundo, a evaporação devido à baixa qualidade da lágrima é a responsável pela deficiência do filme lacrimal. No cão, esse último tipo é visto em animais braquicefálicos, que apresentam lagoftalmia, o que leva a uma falha do fechamento palpebral completo, gerando uma área central de deficiência do filme lacrimal; ou ainda, em cães que apresentam deficiência do componente lipídico do filme lacrimal, o que gera aumento da evaporação desse filme (WILLIAMS, 2008).

A CCS pode ter uma única causa ou diversas causas associadas; dentre as possíveis causas em cães pode-se citar: predisposição genética de certas raças; induzida por drogas como anestesia geral, atropina, sulfonamidas; de causa congênita, como por exemplo, a alacrimia, que geralmente acomete raças miniatura e é unilateral; iatrogênica por remoção da glândula da terceira pálpebra; infecciosas, por exemplo, na cinomose canina; traumática ou ainda por desordem metabólica, como por exemplo, diabetes melitus, hiperadrenocorticismo e hipotireoidismo (GIULIANO e MOORE, 2007; WILLIAMS et al., 2007).

O avançar da idade também está diretamente relacionado com diminuição do lacrimejamento. Em filhotes de cães está descrito que a idade, o peso e o sexo dos animais afetam diretamente o valor do Teste Lacrimal de Schirmer, sendo que a partir da 9ª ou 10ª semana de vida esses cães passam a apresentar valores normais, como de adultos (BROADWATER et al., 2010).

De acordo com Plugfelder et al., (2000) muitos avanços ocorreram no tratamento do olho seco. Segundo Grahn e Storey (2004), o tratamento tópico é o mais apropriado para o controle da ceratoconjuntivite seca e deve ser adaptado a cada paciente.

A terapia médica é a primeira consideração no tratamento da CCS, sendo influenciada pela etiologia, gravidade da doença e comprometimento do proprietário com o esquema de tratamento proposto. A terapia envolve o uso de substituto lacrimal e estimulante lacrimal, além de agentes antimicrobianos e anti-inflamatórios, empregados de forma isolada ou associada (GIULIANO e MOORE, 2007).

Os lacrimomiméticos são substitutos do filme lacrimal que atuam providenciando lubrificação da superfície ocular, estabilidade e manutenção de filme lacrimal isotônico (GIULIANO e MOORE, 2007). São importantes a composição, a concentração e o tipo de agente empregado, sendo que os produtos contendo celulose são os mais usados nas desordens aquosas por permanecerem por mais tempo na superfície ocular em função de sua maior viscosidade (GRAHN e STOREY, 2004). Seu emprego como terapia isolada, em Medicina Veterinária, é limitado pela alta frequência de aplicações (GIULIANO e MOORE, 2007).

Os lacrimogênicos são fármacos de custo elevado, capazes de estimular a produção lacrimal, e incluem agentes imunossupressores (ciclosporina, tacrolimus, pimecrolimus, serolimus), fármacos colinérgicos (GRAHN e STOREY, 2004), fator de crescimento neural e interferon- $\alpha$  (RIBEIRO et al., 2008).

Embora todas as terapias citadas sejam úteis, a estimulação da produção natural de lágrimas parece causar uma grande melhora dos sinais clínicos evitando a progressão da doença e a perda da visão (BERDOULAY et al., 2005). O estimulante da produção lacrimal mais comumente utilizado para o tratamento da CCS em cães é a ciclosporina A (CsA). Esta droga é normalmente administrada topicamente como pomada oftálmica ou como colírio. Acredita-se que a CsA exerça sua ação terapêutica através da inibição da proliferação dos linfócitos T-auxiliares e da infiltração da glândula lacrimal, permitindo, desta forma, a regeneração e o retorno a sua função secretória. A resposta terapêutica a ciclosporina é alcançada através da sua ação anti-inflamatória sobre os tecidos oculares, efeitos estimulatórios sobre as glândulas lacrimais, efeito multiplicador das células calciformes produtoras de mucina e efeito inibitório sobre a apoptose das células lacrimais (BERDOULAY et al., 2005). Estudos revelam que a ciclosporina tópica aumenta a produção lacrimal em 71-86% dos cães com ceratoconjuntivite seca. Entretanto, relatos de irritação ocular e o não retorno da produção lacrimal a níveis normais limitam a efetividade deste medicamento em alguns pacientes.

Novas drogas imunossupressoras como pimecrolimus e tacrolimus podem ser alternativas no tratamento de pacientes com ceratoconjuntivite seca, que não respondem a ciclosporina A tópica ou que apresentam efeito adversos com o uso da pilocarpina oral (LAUS et al., 2008).

## **Material e Métodos:**

A pesquisa foi conduzida obedecendo-se aos critérios da *Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO)* (ARVO 2012) e sob a anuência dos proprietários e aprovação do Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Rio Grande do Sul Brasil (Protocolo nº 6763171216/2016).

Nesse trabalho foram avaliados quatro cães atendidos na rotina do Hospital Veterinário da UFSM e em clínicas particulares da cidade, machos e fêmeas, com peso variando de 02 a 25 kg. Os animais chegaram para atendimento oftalmológico e a principal queixa do proprietário era da presença de secreção ocular abundante e histórico de terem levado a vários veterinários e o problema sempre persistiu. Os animais foram submetidos a

exames oftalmológico no momento da consulta e ao diagnosticar CCS (TLS  $\leq 10$ mm/min) esses animais foram incluídos na pesquisa com a autorização e disponibilidade do proprietário. Os animais ficaram em suas residências e seus proprietários responsáveis pelo tratamento e pelo retorno para as consultas conforme combinado previamente.

Os critérios de inclusão ou exclusão dos pacientes foram os seguintes: Critérios de inclusão: Manifestação clínica da CCS e Teste de Schirmer I  $< 10$  mm / min. Critérios de exclusão: Animais com manifestações clínicas de cinomose e leishmaniose, animais sob uso de sulfato de atropina, ciclosporina e/ou sulfonamidas ou já em tratamento para CCS com colírios lacrimogênicos.

Os animais atendidos foram separados em dois grupos experimentais de dois animais cada, o Grupo CsA col recebeu o colírio de CsA 0,05% e o Grupo Tacro recebeu o colírio de tacrolimus 0,03% e foram avaliados os dois olhos de cada animal. Em todos os animais a frequência de administração dos colírios ocorreu a cada 12 horas e o período de avaliação foi de 90 dias.

Os animais foram tratados de maneira aleatória sendo que o primeiro animal atendido recebeu a CsA como tratamento, o segundo cão recebeu o tacrolimus e assim sucessivamente.

As avaliações clínicas dos cães ocorreram nos dias 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 após início do tratamento. Para tal, foram avaliados através do Teste Lacrimal de Schirmer (medido em mm/min), prova de fluoresceína e teste com colírio Rosa de Bengala. Também se avaliou sinais de blefarospasmo, hiperemia conjuntival, secreção ocular (mucoide ou mucopurulento), opacidade corneal, vascularização corneal e pigmentação corneal, além de outros possíveis achados clínicos (Fig. 1, 2 e 3).

O blefarospasmo foi avaliado pela posição das margens palpebrais, abertura da rima palpebral e frequência do ato de piscar e foi classificado como: 0 = ausente (rima palpebral aberta, sem alterações no ato de piscar de olhos) e 1 = presente (rima palpebral semi-aberta, aumento na frequência do piscar de olhos).

A secreção ocular foi avaliada conforme a descarga ocular e pontuada conforme a intensidade da seguinte forma 0 = ausência de secreção ocular, 1 = presença de pequena quantidade de secreção no canto medial dos olhos e 2 = grande quantidade de secreção em toda a extensão das pálpebras.

A hiperemia conjuntival foi avaliada a coloração das conjuntivas palpebral e bulbar e pontuada, uma vez que reflete o grau de inflamação ocular em 0 = ausente 1 = presente 2 = intensa.

A vascularização corneal foi avaliada e pontuada da seguinte forma 0 = ausência de vascularização na córnea, 1 = vascularização restrita à periferia da córnea, 2 = vascularização em até  $\frac{1}{4}$  da superfície da córnea, 3 = vascularização em até  $\frac{1}{2}$  da superfície da córnea, 4 = vascularização em até  $\frac{3}{4}$  da superfície da córnea e 5 = vascularização em toda a superfície da córnea.

A pigmentação corneal foi avaliada e pontuada em 0 = ausência de pigmentação na córnea, 1 = pigmentação restrita à periferia da córnea, 2 = pigmentação em até  $\frac{1}{4}$  da superfície da córnea, 3 = pigmentação em até  $\frac{1}{2}$  da superfície da córnea, 4 = pigmentação em até  $\frac{3}{4}$  da superfície da córnea e 5 = pigmentação em toda a superfície da córnea.

A opacidade corneal foi avaliada da seguinte forma 0 = ausência de opacidade na córnea, 1 = opacidade restrita à periferia da córnea, 2 = opacidade em até  $\frac{1}{4}$  da superfície da córnea, 3 = opacidade em até  $\frac{1}{2}$  da superfície da córnea, 4 = opacidade em até  $\frac{3}{4}$  da superfície da córnea e 5 = opacidade em toda a superfície da córnea.

O Teste Lacrimal de Schirmer foi realizado para aferição da produção lacrimal. Para realização do teste os animais foram submetidos a contenção manual, sem anestesia local ou sedação. Uma fita milimetrada de papel absorvente estéril (Ophtalmos®) foi dobrada, posicionada no canto medial do olho e mantida em contato com a conjuntiva palpebral durante 1 minuto. Em seguida, a leitura do resultado foi feita imediatamente, pela observação do umedecimento do papel. Valores iguais ou menores que 10 mm/min foram conclusivos para CCS.

A Prova de Fluoresceína é o resultado da impregnação da córnea e foi realizado após instilação do colírio de fluoresceína sódica a 1% e sob iluminação de lanterna clínica e o resultado avaliado em 0 = ausência de impregnação da córnea, 1 = impregnação restrita à periferia da córnea, 2 = impregnação em até  $\frac{1}{4}$  da superfície corneal, 3 = impregnação em até  $\frac{1}{2}$  da superfície corneal, 4 = impregnação em até  $\frac{3}{4}$  da superfície corneal e 5 = impregnação em toda a superfície corneal.

A presença de úlcera de córnea foi avaliada conforme a impregnação do colírio de fluoresceína e foi avaliado e 0 = ausência de úlcera de córnea e 1 = presença de úlcera.

O Teste Rosa de Bengala (TRB) foi realizado instilando uma gota do corante Rosa de Bengala que detecta células desvitalizadas, defeitos epiteliais agudos ou filamentos de muco aderidos, corando-os em cor rosa brilhante o resultado foi avaliado em 0 = ausente, 1 = corou apenas córnea, 2 = corou apenas conjuntiva e 3 = corou córnea e conjuntiva.

Todos os sinais analisados foram anotados em ficha de cada paciente.

A inclusão dos proprietários em inserir seus animais no experimento, foi realizada por meio da assinatura de um termo de autorização e responsabilidade no decorrer do tratamento. Não houve grupo-controle de animais com ceratoconjuntivite seca submetido a tratamento com placebo.

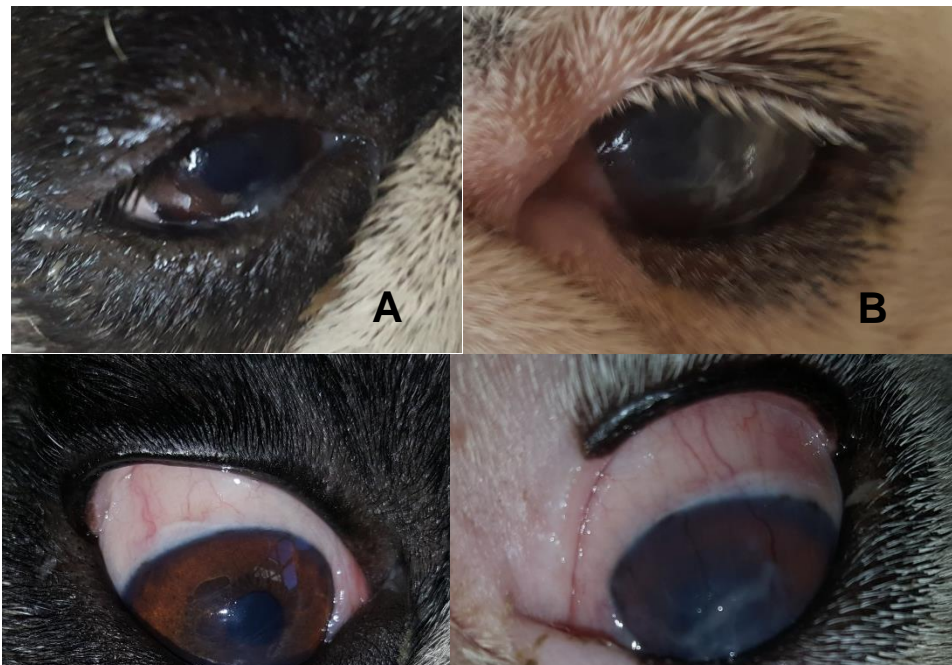


Figura 1 – Cão, Bulldog Inglês com CCS e tratado com Ciclosporina A. (A) e (B) olhos direito e esquerdo do animal no início do tratamento (dia 0) e (C) e (D) olhos direito e esquerdo do animal nos 90 dias de tratamento.





Figura 2 – Cão, Shih-Tzu com CCS e tratado com Ciclosporina A. (A) e (B) olhos direito e esquerdo do animal no início do tratamento (dia 0) e (C) e (D) olhos direito e esquerdo do animal nos 90 dias de tratamento.



Figura 3 – Cão, Beagle com CCS e tratado com Tacrolimus. (A) e (B) olhos direito e esquerdo do animal no início do tratamento (dia 0) e (C) e (D) olhos direito e esquerdo do animal nos 90 dias de tratamento.

## Resultados e Discussão

De acordo com Herrera (2008), a maioria dos cães com ceratoconjunctivite seca apresenta histórico de ceratoconjunctivite crônica, recorrente e inespecífica. A característica da enfermidade é a presença de secreção mucosa que faz com que os olhos aparentem uma conjunctivite bacteriana, os cães com CCS atendidos na rotina clínica, apresentavam história clínica de secreção ocular constante, já haviam sido submetidos a diferentes tratamentos e a secreção mucopurulenta persistia.

Para Gellat (2003) os sinais clínicos de ceratoconjunctivite seca variam dependendo do tempo decorrido do surgimento e extensão do ressecamento. Uma forma de CCS muito aguda

e severa e algumas vezes vista, na qual o olho torna-se agudamente doloroso em associação com ulceração corneal. Nesses casos, uma inflamação supurativa pode resultar em doença corneal progressiva com malácia estromal, descemetocele com resultante estafiloma e prolapso de íris. Entre os animais avaliados, os principais sinais clínicos observados antes do tratamento foram a presença de secreção ocular e a pigmentação corneal (Graf. 2).

Segundo Gellat (2003), Slatter (2005) e Herrera (2008), na maioria dos casos, o aparecimento é mais gradual, com a gravidade aumentando durante o período de várias semanas. Estes olhos aparecem inicialmente vermelhos e inflamados, com secreção mucoide ou mucopurulenta intermitente. Conforme a gravidade aumenta, a superfície ocular torna-se sem brilho, a conjuntiva fica extremamente hiperêmica e secreção mucopurulenta persistente é observada. Ceratite progressiva caracterizada por vascularização e pigmentação extensas com ou sem ulceração, pode também ocorrer. Ceratite pigmentar grave pode ser refratária a terapia médica e cirúrgica. Blefarite e dermatite periocular, frequentemente ocorrem com o acúmulo de exsudatos nas margens palpebrais e na pele periocular. Com a progressão da doença, o desconforto se intensifica, resultando desta forma em blefaroespasmos persistentes. Cegueira ou diminuição da acuidade visual são resultantes da densa opacificação corneal, ou perfuração da córnea, secundária a ulcerações profundas da mesma (BERDOULAY et al., 2005). Nos animais avaliados, dois olhos apresentavam cegueira bilateral, e um olho apresentou úlcera de córnea apenas nos 60 dias de avaliação.

Wilkie (1993) e Slater (2005) citam o blefaroespasmos como uma das manifestações clínicas mais importantes da CCS no cão. Entretanto, este achado foi encontrado em 18,52% dos animais avaliados, observado apenas no primeiro dia de avaliação e quando o animal apresentou úlcera de córnea. É possível que ocorra a ausência do blefaroespasmos e isso é possível devido à cronicidade da doença, o que pode reduzir este tipo de manifestação. Essa alteração só foi verificada no dia 0 (antes do início do tratamento) e apresentou diferença estatística significativa nos grupos CsA ( $p=0,014$ ) e Tacrolimus ( $p=0,001$ ) quando aplicado o Teste Q de Cochran de amostras relacionadas.

A grande frequência de descarga ocular observada na pesquisa (59,26 % no olho esquerdo e 44,44% no olho direito) vai ao encontro da literatura (SLATER, 2005), que cita este como um dos achados mais comuns em animais com CCS. A redução na intensidade da descarga ocular em todos os grupos após os tratamentos demonstra a melhora clínica da maioria dos animais e reflete o aumento da fração aquosa da lágrima em relação ao período anterior ao tratamento.

A hiperemia conjuntival é um achado frequente na CCS em cães e relaciona-se à etiologia inflamatória da doença, além da irritação das mucosas devido à lubrificação insuficiente das superfícies corneal e conjuntival (SLATER, 2005). A hiperemia conjuntival esteve presente em 33,33% dos olhos esquerdos e direito e houve melhora da hiperemia conjuntival em todos os grupos, o que sugere o aumento da lubrificação corneal nos olhos avaliados, essa hiperemia conjuntival estava ausente em todos os animais a partir dos 45 dias de avaliação.

A vascularização da córnea é um indicador de cronicidade da CCS (WILKIE, 1993) e esteve presente em 51,85% no olho esquerdo e 25,93% no olho direito no período de avaliação. Entretanto, houve redução de pontuação deste achado, o que não ocorre espontaneamente. Ou seja, depois de instalada a vascularização corneal, ou ela progride, ou se mantém estável (WILKIE, 1993). Estes resultados sugerem a baixa precisão e confiabilidade de avaliação deste parâmetro.

Segundo a literatura, a pigmentação da córnea ocorre em 75% dos animais com CCS, sendo um dos achados mais frequentes da doença (BALICKI et al., 2008). Nesta pesquisa, a incidência foi de 48,14% no olho esquerdo e 25,92% no olho direito. Não houve agravamento e nem regressão da pigmentação em nenhum dos olhos avaliados, pois, a partir do momento que a melanina se fixa no epitélio corneal, seu depósito é definitivo.

A opacidade corneal resulta do edema das camadas da córnea, causado por fatores irritantes como a má lubrificação da superfície ocular. Este achado pode sofrer alteração conforme a redução ou aumento dos fatores irritantes externos (ROCHA, 2012). Houve ausência de opacidade corneal em 100% dos olhos esquerdos e 88,89% dos olhos direitos, isso ocorreu devido um animal apresentar úlcera de córnea no olho direito aos 60 dias de avaliação. Aos 75 dias esse animal apresentou redução de pontuação da opacidade de córnea, o que sugere melhora da lubrificação e menor irritação da superfície ocular.

A redução da impregnação da córnea pela fluoresceína indica a recuperação das lesões do epitélio anterior da córnea proporcionada pela melhor lubrificação da superfície ocular depois dos tratamentos realizados. Embora a literatura cite a úlcera de córnea como um dos mais frequentes sinais clínicos observados na CCS em cães (SANCHES et al., 2007), esta alteração esteve presente em apenas 3,7% dos olhos deste estudo aos 60 dias de avaliação. Houve resolução da úlcera observada, para isso foi instituído o tratamento com colírio de tobramicina na frequência de 3/3 horas. Na avaliação de 75 dias, o teste de Fluoresceína já se apresentou negativo.

O teste lacrimal de Schirmer pode ser realizado sem (TLS I) ou com (TLS II) o uso de anestesia tópica. O TLS I mede a habilidade do olho em produzir lágrimas reflexas além das secreções basais e é o mais comumente utilizado, enquanto o TLS II mensura somente a secreção lacrimal basal (GELLAT, 2003). O TLS I é influenciado pela lágrima residual (quantidade de lágrima previamente ao teste no saco conjuntival inferior), secreção lacrimal basal e secreção reflexa devido a irritação da córnea causada pela tira de papel (SAITO e KOTANI, 2001). Foi escolhido para a pesquisa o TLS I, por ser o mais aplicado na rotina clínica oftalmológica.

Flutuações nos valores do teste lacrimal de Schirmer podem ocorrer diariamente, porém, somente alterações semanais são consideradas biologicamente significantes (GELLAT, 2003). Durante o período experimental, em algumas situações foram constatadas diminuições bruscas nos valores do teste lacrimal de Schirmer e/ou agravamento do quadro ocular nos intervalos de avaliação, o que poderia indicar a possibilidade da medicação não ter sido aplicada pelos proprietários na dosagem recomendada. Nestes casos, os proprietários foram alertados sobre a necessidade de seguir as recomendações referentes à posologia. As diminuições dos TLS ocorreram nos dias 30 e 75 do grupo CsA colírio e no dia 60 do grupo Tacrolimus (Graf. 1).

Segundo Laus e Oriá (1998) drogas parassimpatolíticas e anestésicos locais reduzem a produção de lágrima. Não obstante, a manipulação do olho e a utilização da fluoresceína podem aumentar estes valores. Portanto, para que não houvesse interferência nos resultados, o TLS foi aplicado logo na chegada do animal para a consulta, antes da aplicação de qualquer outro colírio teste.

Os valores normais para o cão variam ao redor de 16 ou 17mm/min, embora a maioria dos autores considere como normais os valores superiores a 10mm/minuto (HERRERA, 2008). De acordo com Pigatto et al. (2007) valores menores do que 15mm já podem ser sugestivos de olho seco. Para a inclusão nesse estudo, selecionou-se os cães com CCS que apresentaram o TLS menor que 10mm/min.

De acordo com Hartley et al. (2006), pesquisas confirmam que em cães ocorre um decréscimo anual no teste lacrimal de Schirmer de 0,4mm e que valores obtidos no período da manhã são em média 0,7mm menores do que valores obtidos ao final do dia. Como a pesquisa dependia da disponibilidade do proprietário para a avaliação dos animais, não foi possível realizar todas as avaliações no mesmo horário.

Segundo Ofri et al. (2007), a terapia imunossupressora promove significativo aumento na produção lacrimal e melhora os sinais clínicos de inflamação da superfície ocular em cães

com ceratoconjuntivite seca. Ainda de acordo com o mesmo autor, um número significativo de cães com CCS não respondem ao tratamento com ciclosporina. Esse fato não ocorreu nos animais desse estudo, pois obtiveram resposta positiva ao tratamento com CsA.

A ceratoconjuntivite seca é uma doença multifatorial, crônica e progressiva da lágrima e da superfície ocular e provoca desconforto, dificuldade visual e instabilidade do filme lacrimal o que causa danos a superfície ocular (DEWS, 2007). Diante disso, optou-se pela não utilização de cães com ceratoconjuntivite seca como grupo-controle e nem houve utilização de tratamento com placebo, priorizando o bem estar animal.

Verificou-se ainda no presente experimento que todos os cães apresentaram melhora do quadro de ceratoconjuntivite seca demonstrada principalmente pela ausência ou diminuição da secreção ocular, ausência de blefaroespasmos e córnea mais lubrificada (mais brilhante). Resultados de um estudo realizado por Ofri et al. (2007) demonstraram que o tratamento foi altamente efetivo no alívio dos sinais clínicos de cães com CCS, causando aumento na secreção lacrimal e diminuição da inflamação da superfície ocular, confirmando resultados de estudo realizado por Nell et al. (2005).

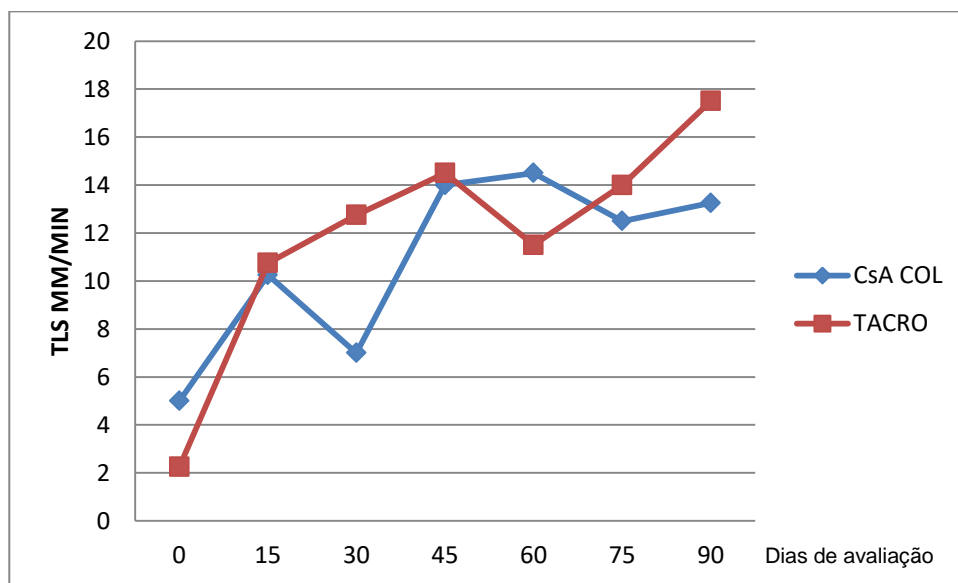


Gráfico 1 – Comparação das médias do Teste Lacrimal de Schirmer nos diferentes tempos de avaliação.

Tabela 1 – Análise das médias do TLS nos diferentes grupos e nos diferentes tempos de avaliação demonstrando que houve diferença estatística significativa no grupo Ciclosporina Colírio ( $p=0,013$ ) e Tacrolimus ( $p=0,019$ ) analisado pelo teste de dupla análise de variância de Friedman de amostras relacionadas por postos.

Grupo	Teste Lacrimal de Schirmer (mm/min)							p*
	Dia 0	Dia 15	Dia 30	Dia 45	Dia 60	Dia 75	Dia 90	
Ciclosporina A colírio	5,00	10,25	7,00	14,00	14,50	12,50	13,25	<b>0,013</b>
Tacrolimus	2,25	10,75	12,75	14,50	11,50	14,00	17,50	<b>0,019</b>

Tabela 2 – Análise das médias do TLS nos diferentes tempos de avaliação demonstrando que não houve diferença estatística significativa nos grupos em cada tempo analisado pelo Teste de Jonckheere Terpstra.

Grupo	Teste Lacrimal de Schirmer (mm/min)						
	Dia 0	Dia 15	Dia 30	Dia 45	Dia 60	Dia 75	Dia 90
Ciclosporina A colírio	5,00	10,25	7,00	14,00	14,50	12,50	13,25
Tacrolimus	2,25	10,75	12,75	14,50	11,50	14,00	17,50

p\*                      p=0,536    p=0,663    p=0,304    p=0,0884    p=1,000    p=0,381    p=0,144

Na Tabela 1 foi possível verificar que houve diferença estatística significativa nos dois grupos, sendo no Grupo CsA COL o valor de  $p=0,013$  e no Grupo Tacro o valor de  $p=0,019$ . Porém, quando comparados em cada tempo, não houve diferença estatística significativa (Tab. 2).

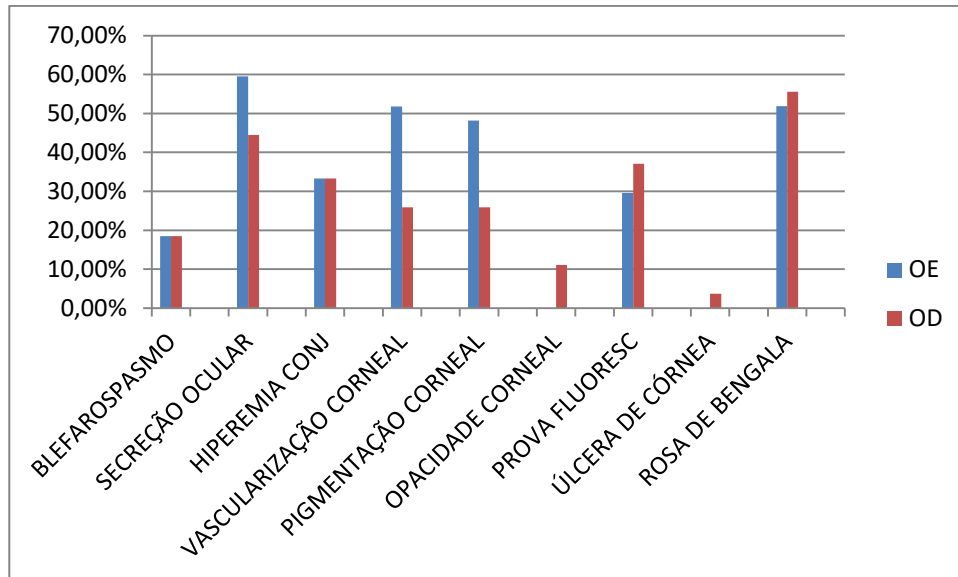


Gráfico 2 – Frequência de aparecimento das alterações clínicas avaliadas durante todo o período de avaliação.

## Conclusão

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que tanto a Ciclosporina A 0,05% quanto o Tacrolimus apresentaram resultado clínico satisfatório nos animais avaliados, mas o tacrolimus apresentou melhor resultado na estimulação da produção lacrimal de cães com ceratoconjuntivite seca quando comparados a Ciclosporina A 0,05% na fórmula de colírio.

## Referências

BALICKI, L.; et al. Studies on keratoconjunctivitis sicca incidence in crossbreed dogs. **Polish Journal of Veterinary Sciences**. 11(4): 353-8, 2008.

BERDOULAY, A., ENGLISH, R.V., NADELSTEIN, B. Effect of topical 0,02% tacrolimus aqueous suspension on tear production in dogs with keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v.8, n.4, p.225-232, 2005.

BROADWATER, J.J.; COLITZ, C.; CARASTRO, S.; SAVILLE, W. Tear production in normal juvenile dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v.13, p.321-325, 2010.



CABRAL, P.V. et al. Canine lacrimal and third eyelid superficial glands macroscopic and morphometric characteristics. **Ciência Rural**, v.35, n.2, 2005.

DEWS – International Dry Eye WorkShop – Report. **The Ocular Surface**, v.5, n.2, p.142, 2007.

GELLAT, N.K. **Manual de Oftalmologia Veterinaria**. 3.ed. São Paulo: Manole: p. 594, 2003.

GIULIANO, E.A.; MOORE, C.P. Diseases and surgery of the canine lacrimal secretory system In: GELLAT, K.N. **Veterinary Ophthalmology**. Iowa: Blackwell Publishing, p. 633 a 661, 2007.

GRAHN, B.H.; STOREY, E.S. Lacrimomimetics and lacrimostimulants. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.34, n.3, p.739- 753, 2004.

HARTLEY, C. et al. Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v.9, n.1, p.53-57, 2006.

HERRERA, D. **Oftalmologia Clínica em Animais de Companhia**. São Paulo: MedVet, 2008.

LAUS, J.L.; ORIA, P.A. **Doenças Corneanas em Pequenos Animais**. Disponível em: <<http://www.redevet.com.br/artigos/doencor1.htm>>. Acesso em: 10/12/2016.

LAUS, J.L. et al. Qualitative and quantitative tear film abnormalities in dogs. **Ciência Rural**, v. 38, n.2, 2008.

NELL, B. et al. The effect of pimecrolimus on keratoconjunctivitis sicca and chronic superficial keratitis in dogs: results from a exploratory study. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, n.1, p.39-46, 2005.

OFRI, R., et al. Clinical evaluation of pimecrolimus eye drops for treatment of canine keratoconjunctivitis sicca: a comparasion with cyclosporine A. **The Veterinary Journal**, 2007.

PLUGFELDER, C.S., SOLOMON, A., STERN, M.E. The Diagnosis and Management of Dry Eye. **Cornea**, v.19, n.5, p.644-649, 2000.

RIBEIRO, A.P.; BRITO, F.L.C.; MARTINS, B.C.; MAMEDE, F.; LAUS, J.L. Qualitative and quantitative tear film abnormalities in dogs. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 568-575, 2008.

SAITO, A.; KOTANI, T. Estimation of lacrimal level and testing methods on normal beagles. **Veterinary Ophthalmology**, v. 4, n.1, p.7-11, 2001.

SANCHES, R.F.; INNOCENT, G.; MOULD, J.; BILLSON, F.M. Canine keratoconjunctivitis sicca: disease trends in a review of 229 cases. **Journal of Small Animal Practice**, 48(4):2117, 2007.

SLATTER, D. Sistema lacrimal. In: \_\_\_\_\_. **Fundamentos de Oftalmologia Veterinária**, 3. ed., São Paulo: Roca; 2005.

WILLIAMS D.L.; PIERCE V.; MELLOR P.; HEALTH M.F. Reduced tear production in three canine endocrinopathies. **Journal of Small Animal Practice**, v. 48, p. 252-256, 2007.

WILLIAMS, D.L. Immunopathogenesis of keratoconjunctivitis sicca in the dog. **Vet. Clinical Small Animal**, v. 38, p. 251-268, 2008.

WILKIE, D. A. Management of keratoconjunctivitis sicca in dogs. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**; 15:58-63, 1993.

## 2 DISCUSSÃO

A ceratoconjuntivite seca (CCS) é uma enfermidade frequentemente encontrada nos cães. Ela é caracterizada por déficit lacrimal, que enseja danos às superfícies corneal e conjuntival. Nos últimos 25 anos, não há enfermidade em córnea e superfície ocular que tenha sido mais estudada que a CCS (PFLUGFELDER et al., 2000), por esse motivo, a doença foi escolhida para esse estudo.

A ceratoconjuntivite seca é uma doença multifatorial, crônica e progressiva da lágrima e da superfície ocular e provoca desconforto, dificuldade visual e instabilidade do filme lacrimal o que causa danos à superfície ocular (DEWS, 2007). Diante do exposto, optou-se pela realização de dois trabalhos, um utilizando nove cães hígidos (sem CCS) e, no outro, quatro cães com ceratoconjuntivite seca para testar os diferentes tratamentos (CsA colírio e pomada e colírio de Tacrolimus) que são os mais utilizados em medicina veterinária. Assim, pode-se avaliar as variações do efeito da medicação em cães hígidos e com CCS, e, por serem medicações que causam irritação e desconforto ocular esses efeitos também foram avaliados, porém, essas alterações não foram observadas nos cães testados.

Segundo Ofri et al. (2007), a terapia imunossupressora promove significativo aumento na produção lacrimal (porção aquosa) e melhora os sinais clínicos de inflamação da superfície ocular em cães com ceratoconjuntivite seca, por esse motivo, foi utilizado nesse trabalho três terapias imunossupressora utilizando CsA colírio 0,05%, CsA pomada 0,05% e tacrolimos 0,03%.

O blefarospasmo foi identificado em 5,56% dos olhos direito e esquerdos dos cães estudados com CCS e ausente nos cães estudos sem CCS. No grupo sem CCS, blefarospasmo, hiperemia conjuntival, secreção ocular, pigmentação corneal, opacidade corneal e vascularização corneal não foram identificados em nenhum cão estudado. No grupo com CCS, quando os parâmetros blefarospasmo e secreção ocular foram avaliados à estatística, houve diferença significativa no grupo CsA colírio ( $p=0,014$ ) e Tacrolimus ( $p=0,001$ ) referente ao blefarospasmo e no grupo CsA colírio ( $p=0,002$ ) referente a secreção ocular.

O emprego do rosa Bengala na superfície ocular é oportuno para a avaliação da severidade das lesões (DANJO et al., 1994). BARABINO et al. (2004) afirmaram

que o corante se fixa às células epiteliais conjuntivais e corneais pouco ou não protegidas pelo filme lacrimal. Em 51,87% dos olhos esquerdos e 55,55% dos olhos direitos dos animais do grupo com CCS, houve impregnação do corante. Os animais do grupo sem CCS não apresentaram sinais de impregnação. Esse teste nos mostra a extensa área de células epiteliais que não estão protegidas pelo filme lacrimal.

O teste da fluoresceína foi positivo em 29,63% dos olhos esquerdos e 37,04% dos olhos direitos. Ambos os testes foram negativos em 100% dos cães do grupo sem CCS. A fluoresceína é um corante vital hidrossolúvel utilizado para se avaliar a integridade do epitélio corneano (BARABINO et al., 2004), isso ocorre devido, na CCS, o déficit lacrimal e a inflamação crônica podem desencadear doença corneal progressiva, com malácia estromal, uma vez que a nutrição e a lubrificação corneais estão comprometidas.

Neste trabalho, estudaram-se animais com CCS atendidos na rotina clínica oftálmica do Hospital Veterinário da UFSM e animais hígidos proveniente do banco de animais doadores de sangue do mesmo hospital. Os resultados do teste da lacrimal de Schirmer foram inferiores no grupo com CCS, comparativamente aos hígidos. A diminuição significativa dos valores do Schirmer reproduz o que fora mostrado por KASWAN et al. (1985).

Outros sinais oftálmicos foram evidenciados neste experimento, tais como hiperemia conjuntival, secreção ocular, pigmentação corneal, opacidade corneal, comuns na CCS. A presença deles foi maior no grupo com CCS, quando comparado ao grupo sem CCS. Autores como KUNERT et al. (2002) reportaram-se a estes, entre outros sinais oftálmicos, como decorrentes do déficit lacrimal.

As variações do TLS quando comparamos os dois trabalhos estão apresentados em gráficos a seguir:

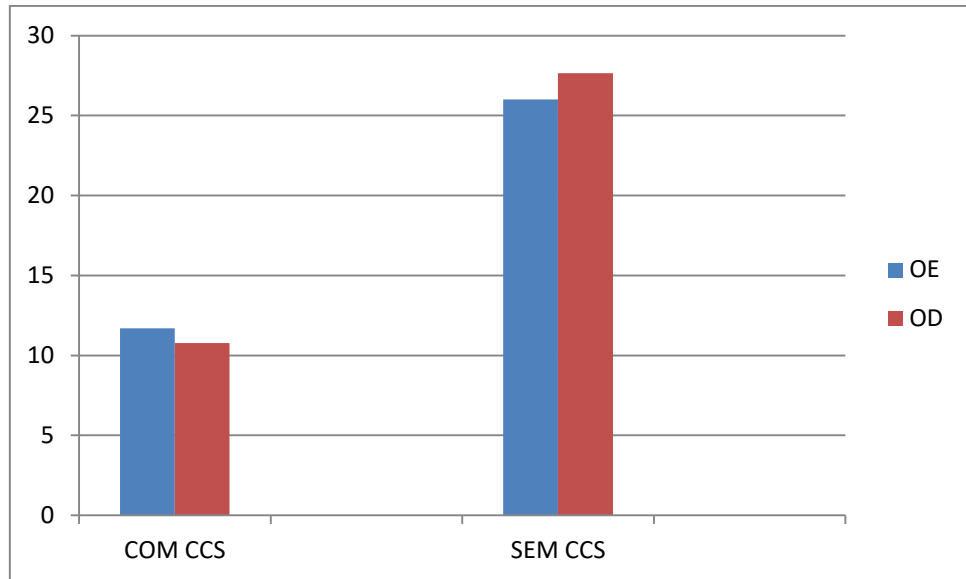


Gráfico 1 – Resultado da média do TLS em mm/mim dos animais avaliados em todos os tempos.

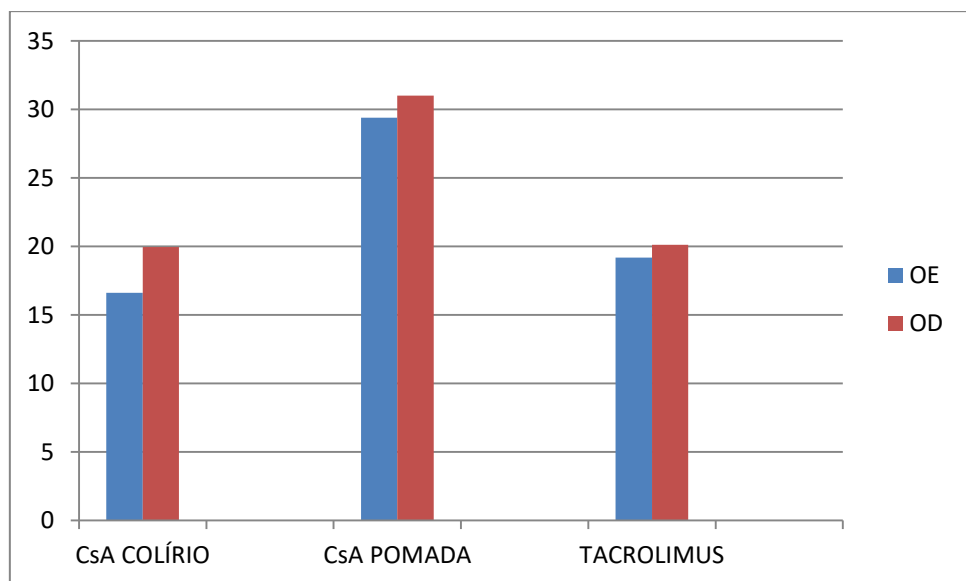


Gráfico 2 – Resultado da média do TLS em mm/mim dos animais avaliados em todos os tempos separados nos diferentes grupos de acordo com a medicação recebida.

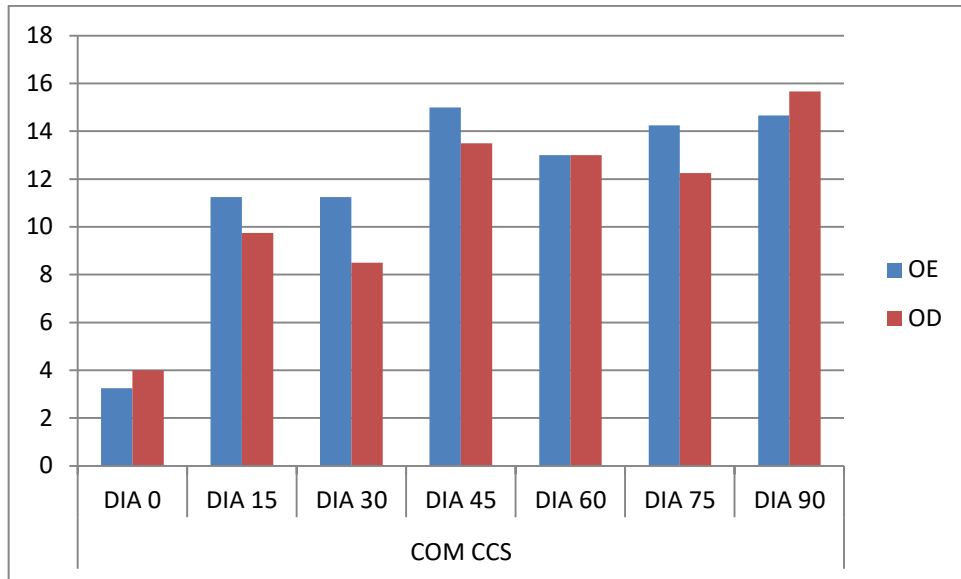


Gráfico 3 – Resultado da média do TLS em mm/mim dos animais avaliados com CCS nos diferentes períodos de avaliação.

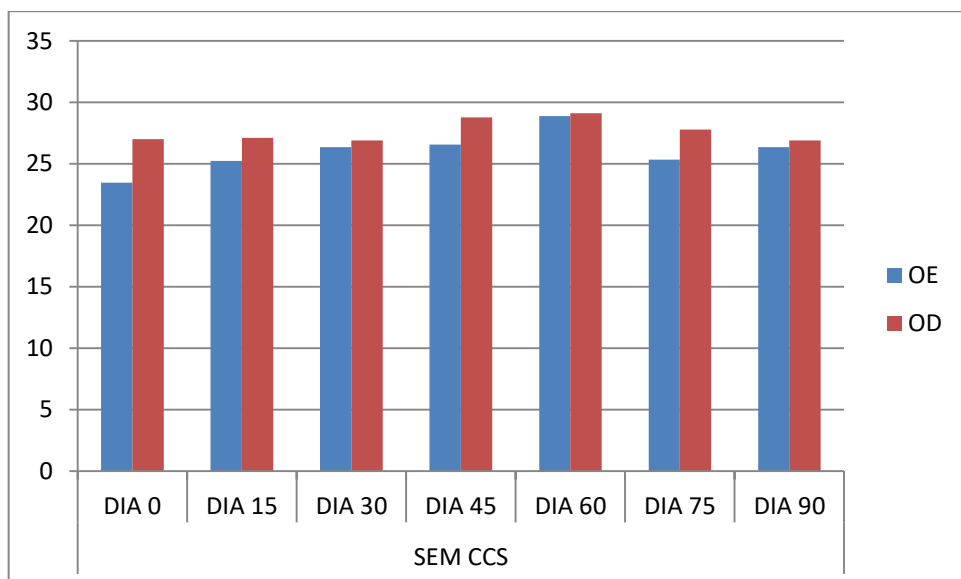


Gráfico 4 – Resultado da média do TLS em mm/mim dos animais avaliados sem CCS nos diferentes períodos de avaliação.

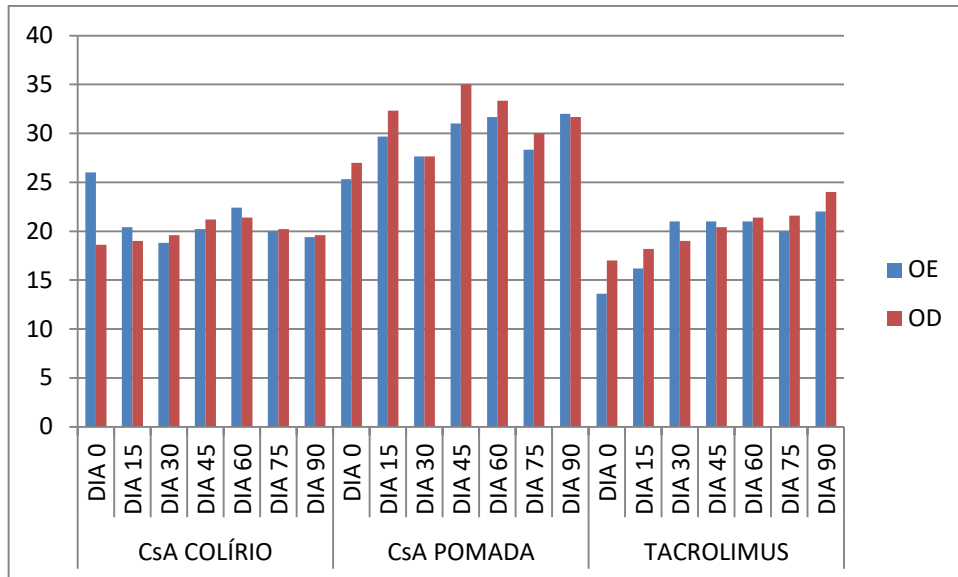


Gráfico 5 – Resultado da média do TLS em mm/mim dos animais avaliados nos diferentes grupos e nos diferentes períodos de avaliação.

### 3 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos na utilização de ciclosporina A colírio 0,05%, ciclosporina A pomada 0,05% e colírio de tacrolimus 0,03%, pode-se concluir que:

Quando aplicados em animais hígidos, as medicações estimularam a produção lacrimal, sendo a ciclosporina A pomada a que manteve as médias do Teste Lacrimal de Schirmer em valores mais elevados que as demais medicações.

Quando aplicados em animais com CCS, o tacrolimus obteve maior estimulação da produção lacrimal quando comparado a ciclosporina colírio 0,05%.

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARABINO, S.; et al. Tear film and ocular surfaces tests in animal models of dry eye: uses and limitations. **Experimental Eye Research**, v. 79, p. 613-621, 2004.

BARNETT, K.C. Keratoconjunctivitis sicca: sex incidence. **Journal of Small Animal Practice**. 29(8):531-4, 1988.

BERDOULAY A.; ENGLISH R.V.; NADELSTEIN B. Effect of topical 0.02% tacrolimus aqueous suspension on tear production in dogs with keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v.8, p. 225–232, 2005.

BERTELMANN E.; PLEYER, U. Immunomodulatory therapy in ophthalmology – is there a place for topical application? **Ophthalmologica**., v.218, p.359-367, 2004.

DANJO, Y.; LEE, M.; HORIMOTO, K.; HAMANO, T. Ocular surface damage and tear lactoferrin in dry eye syndrome. **Acta Ophthalmologica**, v. 72, p. 433-437, 1994.

DEWS – International Dry Eye WorkShop – Report. **The Ocular Surface**, v.5, n.2, p.142, 2007.

FONZAR, J. F. **Uso subconjuntival de lipossomas com Rapamicina e Tacrolimus tópico no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães**. Botucatu, 2014. 88p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2014.

GUM, G.G.; GELLAT, K.N.; ESSON, D.W. Physiology of the eye. In: Gellat KN. **Veterinary Ophthalmology**. Iowa: Blackwell Publishing, 149-182, 2007.

GRAHN, B.H.; STOREY, E.S. Lacrimomimetics and lacrimostimulants. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 34:3, 2004.



HARTLEY, C.; WILLIAMS, D.L; ADAMS, V.J. Effect of age, gender, weight and time of day on tear production in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**,9(1): 53-7, 2006.

KASWAN, R. L.; MARTIN, C. L.; DAWE, D. L. Keratoconjunctivitis sicca: Immunological evaluation of 62 dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 2, p. 376- 383, 1985.

KASWAN R.L.; SALISBURY M.A.; WARD, D.A. Spontaneous canine keratoconjunctivitis sicca. A useful model for human keratoconjunctivitis sicca: treatment with cyclosporine eye drops. **Archives Ophthalmology**, v.107, p.1210–1216, 1989.

KUNERT, K. S.; TISDALE, A. S.; GIPSON, I. K. Goblet cell numbers and epithelial proliferation in the conjunctiva of patients with dry eye syndrome treated with cyclosporine. **Archives Ophthalmology**, v. 120, p. 330-337, 2002.

MOLOKHIA, S.A.; THOMAS S.C.; GARFF, K.J.; MANDELL, K.J.; WIROSTKO, B.M. Anterior eye segment drug delivery systems: current treatments and future challenges. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 29, n. 2, p. 92-105, 2013.

MORGAN, R.V.; ABRAHAMS K.L. Topical administration of cyclosporine for treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.199, p.1043–1046, 1991.

OFRI, R., et al. Clinical evaluation of pimecrolimus eye drops for treatment of canine keratoconjunctivitis sicca: a comparasion with cyclosporine A. **The Veterinary Journal**, 2007.

OLIVERO, D.K.; et al. Clinical evaluation of 1% cyclosporine for topical treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.199, p.1039–1042, 1991.

PFLUGFELDER, S. C.; et al. The diagnosis and management of dry eye. A twenty-five-year review. **Cornea**, v. 19, n. 5, p. 644-649, 2000.

SALL, K.; et al. Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of CsA ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. CsA phase 3 study group. **Ophthalmology**, v.107, p.631–639, 2000.

SANCHES, R.F.; INNOCENT, G.; MOULD, J.; BILLSON, F.M. Canine keratoconjunctivitis sicca: disease trends in a review of 229 cases. **Journal of Small Animal Practice**. 48(4):2117, 2007.

TIZARD, I.R. Drogas e outros agentes que afetam o sistema imune. In: \_\_\_\_\_. **Imunologia Veterinária: Uma Introdução**. 6.ed. São Paulo: Roca, cap. 36, p.478-486, 2002.

TURNER, K.; PFLUGFELDER, S.C.; JI, Z.; FEUER, W.J.; STERN, M.; REIS, B.L. Interleukin-6 levels in the conjunctival epithelium of patients with dry eye disease treated with cyclosporine ophthalmic emulsion. **Cornea**, v.19; p.494– 496, 2000.

WESTERMEYER, H.D.; WARD, D.A.; ABRAMS, K. BREED predisposition to congenital alacrima in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, 12 (1) : 1 – 5, 2009.

WHITLEY, N.T.; DAY, M.J. Immunomodulatory drugs and their application to the management of canine immune-mediated disease. **Journal of Small Animal Practice**, v. 52, p. 70-85, 2011.

WILLIAMS, D.L. Immunopathogenesis of keratoconjunctivitis sicca in the dog. **Veterinary Clinical of Small Animal**, v. 38, p. 251-268, 2008.

## ANEXOS

### Anexo I – Ficha de autorização do proprietário para participação no projeto

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, \_\_\_\_\_, declaro ter sido informado e convidado a incluir meu animal de estimação no trabalho que está sendo realizado pela Dra. Francieli Marconato (CRMV-RG 9845), a respeito do trabalho “Comparação da produção lacrimal produzida pela ciclosporina A, tacrolimus e pimecrolimus em cães hígidos e com ceratoconjuntivite seca”.

Fui informado que meu animal de estimação apresenta deficiência de produção de lágrimas, o que provoca ressecamento ocular, e consequente lesão da córnea e conjuntiva.

Afirmo estar ciente que terei que administrar, os colírios conforme receitado para o meu cão, duas vezes ao dia, durante 90 dias. Ou precisará receber outros tipos de medicações, caso tenha outras alterações oftálmicas concomitantemente.

Afirmo estar ciente que, meu animal será avaliado durante, no mínimo, 90 dias. Os retornos serão marcados nos dias 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias a contar do dia que iniciar o tratamento. Fui informado que, em cada avaliação, será realizado o exame clínico completo, assim como o teste de produção de lágrima, que implica no posicionamento de uma tira de papel absorvente na região da pálpebra do meu animal.

Fui informado que os dados e os resultados obtidos nesta pesquisa serão confidenciais e, por isso, meu animal não poderá ser identificado. Deste modo, autorizo a divulgação científica dos resultados desde que a minha privacidade seja garantida.

Estou ciente de que não pagarei por nenhum exame necessário à realização desta

pesquisa tanto na primeira consulta quanto nos demais retornos até completar o tempo de avaliação da pesquisa. Porém a compra da(s) medicações necessárias para o tratamento de cada animal será de responsabilidade do proprietário. Também fui informado que caso interrompa o tratamento, haverá piora do quadro clínico do meu animal.

Fui informado que a qualquer momento poderei desistir de participar desta pesquisa e que a minha desistência não implicará em nenhum tipo de prejuízo para mim. Se não participar ou desistir de participar desta pesquisa a qualquer momento, não serei de forma alguma penalizado e não renunciarei de quaisquer direitos legais meus.

Por fim, declaro que a minha aceitação em incluir meu animal na pesquisa é totalmente voluntária e não está condicionada a nenhum tipo de benefício ou remuneração para mim ou meus familiares.

**PROPRIETÁRIO**

Nome: .

Assinatura .

**INVESTIGADOR**

Nome: Francieli Marconato

Assinatura:

**TESTEMUNHA**

Nome: .

Assinatura .

**TESTEMUNHA**

Nome: .

Assinatura



**Anexo III – Apresentação das análises das variáveis qualitativas por dia de avaliação.**

<b>BLEFAROSPASMO</b>				
	<b>AUSENTE (%)</b>		<b>PRESENTE (%)</b>	
	<b>OE</b>	<b>OD</b>	<b>OE</b>	<b>OD</b>
<b>Dia 0</b>	0%	0%	100%	100%
<b>Dia15</b>	75%	75%	25%	25%
<b>Dia 30</b>	100%	100%	0%	0%
<b>Dia 45</b>	100%	100%	0%	0%
<b>Dia 60</b>	100%	75%	100%	25%
<b>Dia 75</b>	100%	100%	0%	0%
<b>Dia 90</b>	100%	100%	0%	0%

<b>SECREÇÃO OCULAR</b>						
	<b>AUSENTE (%)</b>		<b>PEQ QTD (%)</b>		<b>GDE QTD (%)</b>	
	<b>OE</b>	<b>OD</b>	<b>OE</b>	<b>OD</b>	<b>OE</b>	<b>OD</b>
<b>Dia 0</b>	0%	25%	50%	25%	50%	50%
<b>Dia15</b>	0%	25%	100%	50%	0%	25%
<b>Dia 30</b>	50%	50%	25%	25%	25%	25%
<b>Dia 45</b>	50%	50%	25%	25%	25%	25%
<b>Dia 60</b>	75%	75%	0%	0%	25%	25%
<b>Dia 75</b>	50%	75%	50%	25%	0%	0%
<b>Dia 90</b>	75%	100%	25%	0%	0%	0%







<b>PROVA DE FLUORESCÊNCIA</b>				
	<b>AUSENTE (%)</b>		<b>PRESENTE (%)</b>	
	<b>OE</b>	<b>OD</b>	<b>OE</b>	<b>OD</b>
<b>Dia 0</b>	50%	50%	50%	50%
<b>Dia15</b>	75%	75%	25%	25%
<b>Dia 30</b>	75%	50%	25%	50%
<b>Dia 45</b>	75%	50%	25%	50%
<b>Dia 60</b>	50%	50%	50%	50%
<b>Dia 75</b>	75%	75%	25%	25%
<b>Dia 90</b>	100%	100%	0%	0%

<b>PROVA ROSA DE BENGALA</b>								
	<b>AUSENTE (%)</b>		<b>CÓRNEA (%)</b>		<b>CONJUNTIVA (%)</b>		<b>CORNEA E CONJUNTIVA(%)</b>	
	<b>OE</b>	<b>OD</b>	<b>OE</b>	<b>OD</b>	<b>OE</b>	<b>OD</b>	<b>OE</b>	<b>OD</b>
<b>Dia 0</b>	75%	75%	0%	0%	25%	25%	0%	0%
<b>Dia15</b>	75%	50%	0%	25%	25%	25%	0%	0%
<b>Dia 30</b>	75%	50%	0%	25%	25%	25%	0%	0%
<b>Dia 45</b>	0%	25%	75%	75%	25%	0%	0%	0%
<b>Dia 60</b>	25%	50%	25%	25%	50%	0%	0%	25%
<b>Dia 75</b>	50%	25%	25%	25%	0%	25%	25%	25%
<b>Dia 90</b>	25%	25%	0%	0%	75%	75%	0%	0%