

IZABEL CAROLINA RAITTZ CAVALLET

**ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS COMPARADOS AO GERIOOX® NO
TRATAMENTO DO OLHO SECO POR FACECTOMIA EM CÃES**

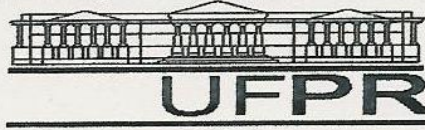
Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk.

CURITIBA

2007

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “**ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS COMPARADOS AO GERIOOX® NO TRATAMENTO DO OLHO SECO POR FACECTOMIA EXTRACAPSULAR EM CÃES**” apresentada pela Mestranda IZABEL CAROLINA RAITTZ CAVALLET, declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03–CEPE/UFPR, que considerou a candidata APTA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Patologia Veterinária.

Curitiba, 21 de dezembro de 2007.

Prof. Dr. Antonio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk
Presidente/Orientador

Profª Drª Antonia Maria do R. Binder do Prado
Membro

Prof. Dr. Ivan Deconto
Membro

**Para os homens da minha vida:
meu pai, Valdo José Cavallet,
e meu avô, Alvino Raittz;
Meus heróis...
Meus exemplos...
Minhas fontes de força e coragem!!!**

AGRADECIMENTOS

São dois anos de história... sobram personagens e faltam páginas. Espero poder ser justa com todos, se não for me perdoem pela pressa que este momento exige, mas o carinho e o agradecimento vão ser eternos:

Aos Diretores, Médicos Veterinários, Funcionários, Residentes e Estagiários dos Hospitais Veterinários da Universidade Federal do Paraná e da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, que participaram desta pesquisa.

Ao meu orientador Professor Felipe, pelo carinho, confiança, paciência, ensinamentos, incentivos e força. Obrigada por mostrar que orientar é mais do que assinar papéis ou exigir prazos. Por amar o que faz e amar ensinar o que faz. Por entender e respeitar que o emocional e o acadêmico andam juntos e devem ser mantidos ambos saudáveis para obtermos bons resultados. Por acreditar em mim, muitas vezes mais do que eu mesma até, e me mostrar que eu sempre posso ser melhor.

Ao curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná, principalmente à Maria José pela eterna paciência com os mestrandos e seus “imprevistos”, pelos olhares repreensivos sempre traídos pelos sorrisos carinhosos, pela força e torcida para que tudo dê certo.

Aos proprietários dos cães que participaram desta pesquisa, pela oportunidade, entendimento e apoio. Aos cães que participaram desta pesquisa, pela imensa contribuição mesmo sem ter a consciência do quanto estavam contribuindo.

Ao Professor João Possamai pela disposição e pelo auxílio nas análises estatísticas e na compreensão delas.

A toda minha família pelo apoio emocional, moral, psicológico e financeiro, pela atenção nos momentos de crises e comemoração nos momentos de vitórias. A meu pai pelo incentivo e insistência do início dessa caminhada, toda vez que colher os frutos dela vou lembrar e agradecer a ti. A minha mãe pela manutenção do meu equilíbrio emocional, pelas correções e pela incrível disposição a ajudar aprendendo sobre o assunto e me abrindo olhos para pontos importantes quando o cansaço já não me deixava ver.

Aos meus fiéis cães Théo e Lucca, companheiros durante longas horas de leitura e estudo no parque. A minha gata Xiboca, companheira nas horas de trabalho em meu quarto, tanto deitada aos meus pés quanto deitada em cima dos textos me mostrando que era hora de descansar... Amo-te minha "Honey Baby".

Aos meus amigos (e família escolhida) em Sorocaba: Carlos, Viana, Gil, Ana, Jeh, Gabi, Su, Camila, Festa e Joana; aos músicos (e respectivas esposas, namoradas e afins) do Forró Maromba; Aos pessoal do Zoológico Municipal Quinzinho de Barros; Aos amigos alunos do curso de Biologia da Puc; Aos parceiros e amigos carinhosos da Educar Turismo... todos vocês foram pontos decisivos e de forte apoio para a conclusão deste trabalho, companheiros de conversas, troca de idéias, insistências para terminar logo e ir para lá de vez, apoio e colo quando as coisas deram erradas e comemorações infinitas quando davam certo.

As minhas melhores amigas Cia, que mesmo fazendo seu mestrado no Japão sempre se manteve presente sejam por e-mail, MSN, telefonemas ou a transmissão de pensamentos e energias positivas; e Ina pelo carinho, pelas risadas e por me emprestar sua pequena filha e clone, Sophia, a quem também agradeço, por me fazer assistir mil vezes o "Rei Leão", me permitindo momentos de descontração para recuperar a energia.

A minha família forrozera: Cami, Lau, Wayner, Nê, Léo e todos os outros sem noção do forró, que me arrancavam de casa quando viam que depois de tantas horas de trabalho eu merecia descontração, forró, amigos e risadas para poder recomeçar no dia seguinte... obrigada amigos vocês não sabem o quanto ajudaram e o quanto ainda comemoraremos isso. Um agradecimento especial ao Kiko por além de tudo isso me fazer companhia no MSN durante as madrugadas escrevendo e corrigindo a tese... amigo, parceiro, cúmplice e tantas outras coisas boas mais!

A todos os animais e pessoas que se dedicam a eles. Minha paixão pela veterinária começou cedo e continua até hoje, e que sempre eu possa contribuir a minha maneira para o bem dela. Ao meio ambiente, à natureza e a tudo que nela vive... que um dia possamos aprender a respeitá-la...

A Oxalá e todos os seus orixás... Eparrei minha me lansã!

Antes do inteiro, a metade...
Uma outra parte de nós;
Antes do vôo, o tombo...
Luta pra não chorar;
Antes tarde do que nunca,
Pra nunca mais demorar.
Pra dilatarmos a alma,
Temos que nos desfazer;
Pra nos tornarmos imortais,
A gente tem que aprender a morrer
Com aquilo que somos nós...
Aquilo que fomos, aquilo que somos nós...
(O criador – O teatro mágico)

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	vi
LISTA DE SIGLAS	vii
LISTA DE SÍMBOLOS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DA CÓRNEA	4
2.1.1 Epitélio	4
2.1.2 Membrana Basal	4
2.1.3 Estroma	5
2.1.4 Endotélio	6
2.1.5 Membrana de Descemet	7
2.2 O FILME LACRIMAL	7
2.2.1 Camada Lipídica	8
2.2.2 Camada Aquosa	9
2.2.3 Camada de Mucina	10
2.3 A UNIDADE FUNCIONAL LACRIMAL	12
2.4 A SÍNDROME DO OLHO SECO	13
2.5 ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA TRÊS	22
2.6 NUTRACÊUTICOS NA FUNÇÃO VISUAL E INFLAMAÇÃO OCULAR	27
3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	30
3.1 LOCAL E ANIMAIS	30
3.2 PROCEDIMENTOS PRÉ-OPERATÓRIOS	30
3.3 PROCEDIMENTOS ANESTÉSICOS	32
3.4 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS	32
3.5 PROCEDIMENTOS PÓS-OPERATÓRIOS	34
3.6 AVALIAÇÃO CLÍNICA	35
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
6 REFERÊNCIAS	44
7 ANEXOS	50
ANEXO I – Bula Gerioox	51
ANEXO II – Lista Das Variáveis Estatística Geradas Pelo Programa Mstatc	52
ANEXO III – Análise De Variância Para Os Valores Do TRFL	53
ANEXO IV – Análise De Variância Para Os Valores Do STT1	54

ANEXO V – Teste De Tukey Para a Comparação Das Médias	55
ANEXO VI – Comparação Entre As Médias Gerais De T5 A T90 Dos Dois Tratamentos (OMG E G) Pelo Teste de T	57
ANEXO VII – Comparação Entre As Médias de T5 Dos Dois Tratamentos Pelo Teste de T	58
ANEXO VIII – Comparação Entre As Médias de T10 Dos Dois Tratamentos Pelo Teste de T	59
ANEXO IX – Comparação Entre As Médias de T15 Dos Dois Tratamentos Pelo Teste de T	60
ANEXO X – Comparação Entre As Médias de T30 Dos Dois Tratamentos Pelo Teste de T	61
ANEXO XI – Comparação Entre As Médias de T45 Dos Dois Tratamentos Pelo Teste de T	62
ANEXO XII – Comparação Entre As Médias de T60 Dos Dois Tratamentos Pelo Teste de T	63
ANEXO XIII – Comparação Entre As Médias de T90 Dos Dois Tratamentos Pelo Teste de T	64
ANEXO XIV – Comparação Entre As Médias Dos Testes de BUT e STT1 para T30 e T45 do Grupo OMG Pelo Teste de T	65
ANEXO XV – Comparação Entre As Médias Dos Testes de BUT e STT1 para T30 e T90 do Grupo OMG Pelo Teste de T	67
ANEXO XVI – Comparação Entre As Médias Dos Testes de BUT e STT1 para T30 e T45 do Grupo G Pelo Teste de T	68
ANEXO XVII – Comparação Entre As Médias Dos Testes de BUT e STT1 para T30 e T90 do Grupo G Pelo Teste de T	69

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 –	ESQUEMA DOS MECANISMOS DE AÇÃO DO OLHO SECO E SUAS INTERAÇÕES	17
TABELA 1 –	RAÇA, IDADE E SEXO DOS ANIMAIS UTILIZADOS NA PESQUISA. CURITIBA, 2007.....	30
FIGURA 2 –	ASPECTO DA CATARATA BILATERAL EM UM DOS CÃES OPERADOS. HOSPITAL VETERINÁRIO. UFPR. CURITIBA, OUTUBRO DE 2006	31
FIGURA 3 –	CATARATA E SUB-LUXAÇÃO DO CRISTALINO EM UM DOS CÃES OPERADOS. HOSPITAL VETERINÁRIO. UFPR. CURITIBA, OUTUBRO DE 2006	31
FIGURA 4 –	INCISÃO CÓRNEO-CORNEANA JUSTA LÍMBICA. HOSPITAL VETERINÁRIO. UFPR. CURITIBA, OUTUBRO DE 2006	33
FIGURA 5 –	SUTURA CORNEANA COM PONTOS ISOLADOS SIMPLES COM. HOSPITAL VETERINÁRIO UFPR, CURITIBA – PR. OUTUBRO 2006	33
TABELA 2 –	RESULTADOS DO TRFL E STT1 NOS DIFERENTES TRATAMENTOS E PERÍODOS AVALIADOS. CURITIBA, 2007	38
FIGURA 6 –	GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO STT1 ENTRE OS GRUPOS NOS DIFERENTES PERÍODOS. CURITIBA, 2007	40
FIGURA 7 –	GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO TRFL ENTRE OS GRUPOS NOS DIFERENTES PERÍODOS. CURITIBA, 2007	40

LISTA DE SIGLAS

ANOVA	- “Analysis of Variance” (Análise de Variância)
DAFL	- Deficiência Aquosa do Filme Lacrimal
DHA	- Ácido Docohexaenóico
EPA	- Ácido Eicosapentaenóico
HUFAs	- Ácidos Graxos Altamente Insaturados
Ig	- Imunoglobulinas
MMP	- Metaloproteases
PUC-PR	- Pontifícia Universidade Católica do Paraná
PUFAs	- Ácidos Graxos Poliinsaturados
STT1	- “Schirmer Tear Test 1” (Teste Lacrimal de Schirmer 1)
TGF- β	- Fator De Crescimento Transformador Beta
TRFL	- Tempo De Ruptura Do Filme Lacrimal
UFPR	- Universidade Federal do Paraná

LISTA DE SÍMBOLOS

%	- Por Cento
®	- Marca Registrada
α	- Alfa
β	- Beta
μm	- Micrometro
Cu	- Cobre
g	- Grama
mg	- Miligrama
ml	- Mililitro
mm	- Milímetro
mm/min	- Milímetro por Minuto
Na	- Sódio
Zn	- Zinco

RESUMO

Nesta pesquisa, objetivou-se identificar a ação de duas formulações de ômega três via oral em cães apresentando epiteliopatia neurotrófica induzida resultante de facectomia. Fizeram parte do estudo quatorze animais portadores de luxação ou subluxação anterior bilateral do cristalino. A raça escolhida foi o Cocker Spaniel, devido a sua predisposição a luxação do cristalino e ao olho seco senil. Os animais foram divididos em sete indivíduos para cada um dos tratamentos. A primeira formulação consistiu de ômega três de óleo de peixe. A segunda formulação consistiu em um novo medicamento geriátrico indicado para cães e gatos (Gerioox[®]) que possui em sua formulação, além do ômega três, outros elementos como: glucosamina destrogera, condroitina sulfato A, cobre, zinco, sódio e vitamina E. Os tratamentos tiveram início no quinto dia após a cirurgia e foram mantidos por sessenta dias. Foram realizadas avaliações oftálmicas no pré-operatório imediato e em seis diferentes momentos do pós-operatório (cinco, dez, quinze, trinta, quarenta e cinco, sessenta e noventa dias). Além da oftalmoscopia direta utilizou-se o teste lacrimal de Schirmer 1 e o tempo de ruptura do filme lacrimal com fluoresceína. No quinto após o procedimento cirúrgico foi evidenciada a instalação da epiteliopatia neurotrófica causada pela facectomia. No decorrer do tratamento, observou-se melhora do quadro clínico e recuperação em todos os animais. Porém, houve evolução diferenciada dos parâmetros de qualidade e quantidade de lágrima entre os dois grupos. Uma melhora estatisticamente significativa nos parâmetros do grupo que recebeu o Gerioox[®] foi verificada, sendo o tempo de recuperação deste grupo quase um terço menor do que o outro. Como a formulação que apresentou melhor quadro evolutivo possui menores quantidades de ômega três, substância que tem indicação reconhecida no tratamento de olho seco, evidencia-se a necessidade de novas investigações desta formulação em particular e de seus demais componentes isoladamente, além de pesquisas sobre as diferentes fontes e dosagens de ômega três para o tratamento do olho seco.

PALAVRAS CHAVES: Facectomia, Olho Seco, Filme Lacrimal, Ômega Três, Antioxidantes.

ABSTRACT

The aim of investigation was identify the action of two oral formulations of omega-3 for dogs presenting neurotrophic epitheliopathy induced by cataract surgery. Were studied fourteen animals with bilateral anterior dislocation or subluxation of the lens. The chosen breed was the Cocker Spaniel due to its predisposition to dislocation of the lens and senile dry eye. The animals were divided into seven subjects for each of the treatments. The first formulation consisted of omega-3 from fish oil. The second formulation consisted of a new geriatric medicine indicated for dogs and cats (Gerioox ®), which has in its formulation, in addition to the omega-3, other elements such as: glucosamine destrogera, condroitina The sulfate, copper, zinc, sodium and vitamin E. The treatments began on the fifth day after surgery and were maintained for sixty days. Ophthalmic evaluations were performed before surgery immediately and in six different times of post-operative (five, ten, fifteen, thirty, forty-five, sixty and ninety days). Besides the direct ophthalmoscopy were used the Scrimmer tear test 1 and the tear film break up test with fluorescein. In the fifth day after the surgical procedure was evident the installation of neurotrophic epitheliopathy caused by the lens extraction. In the development of the treatment, there was improvement in clinical status and recovery in all animals. However, there were different trends of the parameters of quality and quantity of tear between the two groups. A statistically significant improvement in the parameters of the group that received the Gerioox ® was verified, and the time for recovery of this group almost a third lower than the other. As the formulation that showed better evolutionary framework has smaller quantities of omega-3, substance that has recognized indication for the treatment of dry eye, highlighting the need for further investigations in this particular formulation and its other components alone, in addition to research on the different sources and doses of omega three pra the treatment of dry eye.

KEY WORDS: Cataract Surgery, Dry Eye, Tear Film, Omega-3, Antioxidants.

1 INTRODUÇÃO

O emprego de ácidos graxos ômega três é bastante difundido, tanto na Medicina quanto na Medicina Veterinária, em medicações dermatológicas tópicas como promotor da cicatrização e como nutracêutico com diferentes indicações terapêuticas. Recentemente, muitos dos seus efeitos, até então pouco conhecidos, foram comprovados e entre estes estão incluídos os efeitos sobre o filme lacrimal (MILJANOVIC et al., 2005; HODGE et al., 2006; ESCAMILLA, 2003).

Sabe-se que, particularmente no olho humano, os ácidos graxos ômega três possuem efeitos imunossupressivos e antiinflamatórios, que melhoram a expressão e a adesão dos microvilos dos epitélios oculares. Esta ação promove uma maior fluidez das secreções oriundas das glândulas de Meibomio, que atuam no funcionamento das células caliciformes da conjuntiva, e assim, melhoram globalmente a qualidade do filme lacrimal e evitam uma rápida evaporação da lágrima (ESCAMILLA, 2003; PINHEIRO JR et al., 2007).

O uso dos ácidos graxos essenciais em apresentação oral, na forma de óleo de linhaça ou óleo de peixe, é considerado uma alternativa para o tratamento de diversas formas de deficiência lacrimal, embora isso seja pouco evidenciado na literatura (PINHEIRO JR et al., 2007). Segundo ESCAMILLA (2003), a dose ideal dos ácidos graxos ômega três, para o tratamento do olho seco clínico, ainda não foi bem determinada, mas existem evidências de que a eficácia do tratamento pode variar dependendo da dose e da fonte do ômega três utilizadas.

O Cocker Spaniel é uma raça predisposta ao olho seco e luxação anterior do cristalino, sendo fêmeas (CABRAL et al., 2005) e indivíduos de meia idade ainda mais propensos ao desenvolvimento do quadro (FRIDMAN et al., 2004; BREWITT & SISTANI, 2001; CABRAL et al., 2005). A catarata é uma doença bastante comum na raça Cocker Spaniel, sendo que, quando é transmitida geneticamente nesses animais, desenvolve-se mais comumente em jovens adultos e cães de meia idade, ou seja, com menos de oito anos (IBY & KETRING, 1996).

Ainda segundo os mesmos autores, a catarata é por definição uma opacidade em qualquer porção da lente, independente do tamanho, idade de aparecimento ou progressão. As causas mais comuns de catarata incluem: influências genéticas, traumas, doenças metabólicas (como a diabetes mellitus), deficiências nutricionais e

inflamação interna grave do olho. O tratamento para a catarata é exclusivamente cirúrgico.

O quadro de olho seco após a cirurgia de catarata é uma constante, tanto em humanos quanto em animais, ocorrendo principalmente quando a técnica de facectomia (extra-capsular ou intra-capsular) é utilizada. Nestas técnicas, uma extensão maior da córnea é incisada, pois é necessária uma grande abertura na cápsula anterior do cristalino para se extrair núcleo ou a lente em sua totalidade, e a inflamação que ocorre devido a isso prejudica a produção e estabilidade lacrimal, induzindo uma epiteliopatia neurotrófica (ROBERTS & ELIE, 2007).

Pode-se supor que a epiteliopatia neurotrófica instalada após a facectomia seja atribuída à transecção de um número significativo de nervos sensoriais aferentes do plexo subepitelial durante a ablação do estroma corneano, o que ocasiona a diminuição da sensibilidade e interrupção do arco-reflexo (córnea - nervo trigeminal - tronco cerebral - nervo facial - glândula lacrimal) que estimula tanto a secreção lacrimal basal quanto a reflexa (WILSON, 2001; CREDIE et al., 2007; DAVIDSON & KUONEN, 2004; McCULLEY et al., 2006). Em consequência da epiteliopatia neurotrófica induzida ocorre uma instabilidade do filme lacrimal, gerando um círculo vicioso inflamatório (FRIDMAN et al., 2004; BREWITT & SISTANI, 2001). Além disso, segundo os mesmos autores, as suturas e os colírios produzem a ruptura iatrogênica do filme lacrimal ocasionando respostas imuno-inflamatórias que agravam a condição da Síndrome do Olho Seco.

A anestesia também pode causar uma diminuição da porção aquosa do filme lacrimal em humanos e animais. Em cães foram registradas significantes diminuições na produção lacrimal por mais de vinte e quatro horas após o evento anestésico ter sido terminado (CULLEN et al., 2005).

Apesar de existirem técnicas mais avançadas e menos invasivas para o tratamento da catarata, como a facoemulsificação, a facectomia extra-capsular e por vezes a intra-capsular, seguem sendo as técnicas mais empregadas, principalmente na Oftalmologia Veterinária. Isso ocorre tanto por questões econômicas (SAAD FILHO et al., 2005) quanto por questões clínicas, como nos casos de raças predispostas a luxação do cristalino, quando esta técnica se mostra mais segura que a técnica da facoemulsificação (WOUK, 2007).

Por estas razões torna-se relevante o estudo de alternativas para o tratamento dos efeitos secundários da facectomia. Diante deste quadro, decidiu-se estudar a Síndrome do Olho Seco em cães após facectomia, do ponto de vista de um novo paradigma terapêutico, que é o emprego dos ácidos graxos essenciais ômega três, associados ou não a antioxidantes e oligoproteínas. Para este fim foram usados cães de meia idade predispostos ao olho seco e submetidos a facectomia intra ou extra-capsular por luxação ou sub-luxação anterior do cristalino.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DA CÓRNEA

A córnea dos animais é formada por três leitos distintos (epitélio, estroma e endotélio) unidos entre si por duas importantes membranas (membrana basal e membrana de Descemet) (MULLER, 2004; SAMUELSON, 1991; SLATTER, 2005). As características das camadas corneanas e suas membranas são descritas a seguir partindo-se da mais externa para a mais interna.

2.1.2 Epitélio

O primeiro e mais externo leito da córnea é formado por epitélio do tipo pavimentoso estratificado não queratinizado, constituído no ser humano por cinco a seis camadas celulares (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999). É composto por células superficiais escamosas, células aladas e células epiteliais basais. Estas últimas sofrem mitose ativa para a reposição celular e estão aderidas entre si e à membrana basal por meio de hemidesmossomos (MULLER, 2004; SLATTER, 2005). Os epitélios corneano e conjuntival têm a mesma derivação embriológica e são contínuos com o epitélio das glândulas lacrimais, acessórias e de Meibomio, as quais se originam como invaginações especializadas da superfície ocular (DEWS, 2007). O epitélio corneano contém numerosas terminações nervosas livres, o que explica a grande sensibilidade da córnea (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999).

2.1.2 Membrana Basal

A membrana basal é uma camada de matriz extracelular entre o epitélio e o estroma, servindo para ancorar estes dois leitos (MULLER, 2004). É composta principalmente por colágeno tipo IV, proteoglicano sulfato de heparana, laminina, entactina e por fibronectina. A membrana basal tem como função separar o tecido conjuntivo subjacente às células epiteliais, determinar a polaridade das células, influenciar no metabolismo celular, organizar as proteínas nas membranas

plasmáticas adjacentes, induzir diferenciação celular e fornecer uma base para a migração das células em regeneração (MULLER, 2004).

2.1.3 Estroma

O segundo leito da córnea, o estroma ou substância própria constitui cerca de 90% da espessura da córnea em humanos e animais. É um tecido conjuntivo avascular, com fibras nervosas amielínicas, constituído de uma densa matriz extracelular e uma população de poucos ceratócitos dispersos entre as suas fibras colágenas (MULLER, 2004; SLATTER, 2005).

Os ceratócitos são células que possuem a capacidade de sintetizar componentes do estroma e de se transformarem em fibroblastos na resposta à lesão corneana profunda, formando um tecido cicatricial não transparente (SAMUELSON, 1991; SLATTER, 2005).

A matriz extracelular, por sua vez, consiste de fibrilas de colágeno de diâmetro uniforme (regularmente espaçadas) e de substância fundamental amorfa, a qual é formada por glicosaminoglicanos e glicoproteínas ou proteoglicanos (SAMUELSON, 1991; SLATTER, 2005).

Os glicosaminoglicanos são responsáveis pela manutenção do espaçamento regular entre as fibrilas de colágeno estromais (MULLER, 2004; GUM, 1991) e influenciam na regulação do crescimento e desenvolvimento celular, na concentração dos componentes da matriz extracelular e na modulação das interações entre as células (MULLER, 2004). Os chamados glicosaminoglicanos polisulfatados inibem tanto a plasmina quanto os ativadores de plasminogênio. Possuem efeitos anabólicos sobre os fibroblastos, condrócitos e sinoviócitos. Além disso, têm a habilidade de eliminar radicais livres, diminuir a liberação de prostaglandinas E₂, bloquear a ativação do complemento e diminuir a ação da interleucina 1, exercendo assim uma ação antiinflamatória (WOUK et al., 2006).

Os glicosaminoglicanos podem ser encontrados formando complexos com proteínas que são chamados proteoglicanos, cujas duas maiores classes são o sulfato de queratana e sulfato de dermatana/condroitina. Acredita-se que os proteoglicanos desempenhem um importante papel na manutenção da hidratação, rigidez e transparência da córnea. Os proteoglicanos possuem alta capacidade de

absorção de água, contribuindo para a estabilidade e suporte proporcionado pelo tecido conjuntivo e colaborando com a manutenção do volume de água no mesmo. Desta forma, auxiliam na manutenção do estado de deturgescência da córnea, permitindo o eficiente funcionamento das bombas do epitélio e endotélio (SAMUELSON, 1991). Os proteoglicanos, juntamente com o colágeno tipo 1, aparecem como os maiores componentes do estroma da córnea (MULLER, 2004).

Uma importante glicoproteína adesiva que também se encontra como constituinte da matriz extracelular é a fibronectina, a qual contribui para uma adequada adesão entre as células e a matriz extracelular, permitindo a ligação dos fibroblastos e várias outras células à matriz dos tecidos conjuntivos (MULLER, 2004). Além disso, a fibronectina possui a capacidade de estimular a migração epitelial corneana em cultura celular, sendo um proeminente componente do tecido de granulação e podendo formar uma matriz provisória por meio de sua ligação com fibrinogênio. Isto facilita a invasão de fibroblastos e a adesão deles ao substrato de fibrina e ao tecido colágeno (MULLER, 2004).

A manutenção e reparo da matriz extracelular do estroma corneano exige um balanço controlado da sua síntese, degradação e remodelação. As enzimas proteolíticas têm importantes funções fisiológicas na reposição e remodelação do estroma corneano (OLLIVIER et al., 2007). Duas importantes famílias de enzimas que afetam a córnea são as metaloproteases e serinoproteases, incluindo a elastase neutrofílica, que é a serinoprotease mais abundante no filme lacrimal e é sintetizada por polimorfonucleares e macrófagos. A elastase neutrofílica degrada o colágeno 3 e 4, assim como componentes da matriz extracelular, como a laminina e a fibronectina (OLLIVIER et al., 2007).

Para prevenir a excessiva degradação do tecido normal saudável, existem na córnea e no filme ocular pré-corneano, inibidores naturais das proteinases tais como inibidor da α 1-proteinase, macroglobulinas α 2 e alguns inibidores teciduais das metaloproteases (OLLIVIER et al., 2007).

2.1.4 Endotélio

O terceiro e último leito corneano, o endotélio, é formado por uma única camada de células escamosas poligonais, as quais contribuem para manutenção da

transparência corneana, por meio de um contínuo bombeamento de água para fora do tecido. Estas células possuem reduzida capacidade de regeneração, que pode variar conforme espécie e idade. As células do endotélio também são responsáveis pela secreção da sua membrana basal, a membrana de Descemet (MULLER, 2004).

2.1.5 Membrana De Descemet

A membrana de Descemet é constituída por fibrilas de colágeno tipo 4 e confere resistência e elasticidade à hidrólise química e enzimática (SAMUELSON, 1991; SLATTER, 2005; MULLER, 2004).

A cicatrização corneana é um processo excepcionalmente complexo, envolvendo a integração de ações de múltiplas proteases, fatores de crescimento e citocinas produzidas pelas células epiteliais, ceratócitos estromais, células inflamatórias e glândula lacrimal (OLLIVIER et al.). Durante esse processo ocorrem várias alterações (autócrinas e parácrinas) entre as células epiteliais e os fibroblastos ativados do estroma com as ações exócrinas dos fatores secretados pelas células da glândula lacrimal no filme lacrimal pré-corneano (OLLIVIER et al., 2007).

2.2 O FILME LACRIMAL

A superfície ocular está em constante contato com microrganismos, mas raramente é colonizada ou infectada por estes agentes, devido às defesas oculares, sendo uma das principais o filme lacrimal (DAVIDSON & KUONEN, 2004). Segundo HARTLEY e colaboradores (2006); DAVIDSON & KUONEN (2004), podem ser definidas sete principais funções do fluído lacrimal:

- Manutenção de uma superfície plana para a refração da luz;
- Lubrificação das pálpebras;
- Lubrificação da conjuntiva e córnea;
- Suplementação da córnea com nutrientes e transporte de produtos metabólicos da superfície corneana;

- Promover o acesso de glóbulos brancos sanguíneos à córnea e conjuntiva;
- Remoção de corpos estranhos da córnea e conjuntiva;
- Defesa da superfície ocular contra patógenos via substâncias antibacterianas específicas e não-específicas.

O filme lacrimal tem uma espessura de aproximadamente 35 a 45 μm e pode ser separado em três camadas distintas: camadas lipídica, camada aquosa e camada de mucina (GOMES, 2007; DAVIDSON & KUONEN, 2004; HARTLEY et al., 2006; CULLEN et al., 2005; ESMAELI et al., 2001; McCULLEY et al., 2006; CABRAL et al., 2005). As camadas do filme lacrimal e suas características estão descritas a seguir.

2.2.1 Camada Lipídica

É a camada mais externa do filme lacrimal, formada essencialmente pela secreção das glândulas de Meibômio, que são glândulas sebáceas modificadas presentes ao longo das margens palpebrais (HARTLEY et al., 2006; CABRAL et al., 2005). É composta tanto por lipídeos polares quanto apolares. A fração polar da camada lipídica, que age como surfactante e compreende a maioria dos fosfolipídios, espalha-se pela camada aquosa do filme lacrimal, enquanto a fração apolar é mais superficial e permanece em contato com o meio externo. A camada lipídica possui como funções retardar a evaporação da lágrima e estabilizar o filme lacrimal (GOMES, 2007; McCULLEY et al., 2006; HARTLEY et al., 2006), produzir uma superfície óptica plana e prevenir a contaminação do filme lacrimal por corpos estranhos e restos celulares (DAVIDSON & KUONEN, 2004).

A regulação da secreção das glândulas de Meibômio é modulada tanto pela síntese de lipídeos quanto pela maturação celular. Também pode ser modulada pela ação de hormônios, sendo que alguns estudos determinam que os andrógenos estimulam a secreção, enquanto que os estrógenos a reduzem (DAVIDSON & KUONEN, 2004; DEWS, 2007).

Uma disfunção das glândulas de Meibômio pode levar à instabilidade do filme lacrimal e alterações da superfície ocular (GOMES, 2007) e a remoção da camada lipídica leva à evaporação do filme lacrimal, resultando na diminuição dos valores do teste de tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL ou “Break up time” – BUT) e

aumentando a osmolaridade lacrimal. Acredita-se ser esse processo bastante relevante para o desenvolvimento do quadro de olho seco (DAVIDSON & KUONEN, 2004).

2.2.2 Camada Aquosa

A porção aquosa da lagrima é produzida pelas glândulas lacrimais principais (70%) e glândulas da terceira pálpebra (30%). Sua função é transportar nutrientes solúveis em água e remover corpos estranhos. Também possui substâncias bactericidas (como glicoproteínas, lactoferrina, imunoglobulinas, lisozima, β -lisina, albumina, transferrinas, ceruloplasminas e defensinas) além de componentes essenciais para a proliferação e diferenciação do epitélio da superfície ocular (como fator de crescimento da epiderme e vitamina A) (GOMES, 2007; DAVIDSON & KUONEN, 2004; McCULLEY et al., 2006; HARTLEY et al., 2006). A camada lacrimal também possui uma pequena quantidade de mucina, que diminui a tensão superficial, aumentando a dispersão e coesão da camada aquosa e contribuindo para a viscosidade do filme lacrimal (DAVIDSON & KUONEN, 2004).

A glândula lacrimal pode ser afetada tanto pelo sistema nervoso como por vários hormônios. Estímulos na córnea, conjuntiva, nervo óptico e cérebro desencadeiam a secreção de fluídos pela glândula lacrimal utilizando as vias eferentes do sistema nervoso simpático e parassimpático. A estimulação dos nervos aferentes da superfície ocular induz ao piscar imediato (que em humanos ocorre numa média de doze a quinze vezes por minuto) e à produção de lágrima reflexa pela glândula lacrimal. O estímulo corneano aferente percorre o ramo oftálmico do nervo trigêmeo (quinto par craniano), passando pelo gânglio trigeminal e núcleo espinal trigeminal, alcançando a primeira sinapse na ponte. Uma via aferente secundária é constituída pelos neurônios pré-ganglionares simpáticos da medula espinal, gânglio cervical superior e cadeia simpática para-vertebral. Depois de processado na ponte, o estímulo induz resposta eferente através das fibras eferentes da ponte, nervo facial (sétimo par craniano), gânglio pterigo-palatino, sinapses e fibras para a glândula lacrimal, ponto final da via eferente primária. As fibras simpáticas do gânglio cervical superior são responsáveis pela resposta por via eferente secundária junto à glândula lacrimal (CREDIE et al., 2007).

Os andrógenos e estrógenos também modulam a secreção lacrimal, sendo que uma deficiência de andrógenos causa mudanças degenerativas reversíveis no filme lacrimal e uma diminuição no volume total de lágrimas e do conteúdo protéico destas (DAVIDSON & KUONEN, 2004).

2.2.3 Camada De Mucina

É a camada mais interna do filme lacrimal, formada principalmente pela secreção das células caliciformes da conjuntiva, que estão concentradas particularmente no saco conjuntival inferior (HARTLEY et al., 2006; CABRAL et al., 2005). No entanto os epitélios corneano e conjuntival também contribuem para a sua produção (DAVIDSON & KUONEN, 2004), que pode ser estimulada por histamina, antígenos, complexos auto-ímmunes ou ações mecânicas (McCULLEY et al., 2006). A camada de mucina é composta por mucina, imunoglobulinas, uréia, sais, glicose, leucócitos, restos celulares e enzimas.

As mucinas são glicoproteínas presentes na superfície mucosa de tecidos epiteliais. Elas protegem os tecidos, funcionando como antioxidante, promovendo a lubrificação e inibindo a aderência bacteriana. A mucina do filme lacrimal pode proteger a superfície epitelial corneana de forma direta e/ou indireta. Diretamente aderindo-se por receptores específicos aos patógenos antes destes se ligarem ao epitélio corneano. Indiretamente, inibindo a colonização microbiana por bloqueio competitivo dos receptores microbianos no epitélio (DAVIDSON & KUONEN, 2004). Outra forma de proteção da mucina aos tecidos decorre de sua capacidade de concentrar a imunoglobulina A na superfície mucóide.

A camada de mucina também tem um importante papel na manutenção da lubrificação epitelial da córnea e conjuntiva. O epitélio corneano é hidrofóbico, então a camada hidrofílica criada pela camada de mucina facilita a dispersão da porção aquosa do filme lacrimal por toda superfície ocular (DAVIDSON & KUONEN, 2004; HARTLEY et al., 2006). A camada de mucina também ancora a porção aquosa do filme lacrimal ao epitélio corneano, protegendo e prevenindo este da dessecação e contaminação bacteriana.

No olho seco, ocorre destruição das células caliciformes, ressecamento e sofrimento do epitélio da superfície ocular (GOMES, 2007). Uma deficiência da

porção aquosa da lágrima, danos ao epitélio ou glicocalix e aumento da perda de células epiteliais permitem ao muco da camada de mucina se aderir a si mesmo ou ao epitélio, causando “plugs” de muco e levando à instabilidade lacrimal e dano corneano (DAVIDSON & KUONEN, 2004). Como a deficiência lipídica, a deficiência de mucina induz a alteração do tempo de ruptura do filme lacrimal (HARTLEY et al., 2006; DAVIDSON & KUONEN, 2004).

O filme lacrimal, apesar de não fazer parte da córnea, está anatomicamente e funcionalmente ligado a ela. Devido a este contato, proteinases, inibidores das proteinases, fatores de crescimento e citocinas do filme lacrimal têm um papel importante na reposição de células corneanas e na cicatrização da córnea (OLLIVIER et al., 2007; MULLER, 2004).

Em córneas altamente lesadas a atividade das proteinases no filme lacrimal é significativamente aumentada, sugerindo que este aumento seja parte fundamental da resposta do olho a lesões corneanas (OLLIVIER et al., 2007). Entre as metaloproteases (MMP) de maior importância para remodelação e degradação do colágeno do estroma corneano estão a MMP 2 e a MMP 9. Recentes publicações demonstraram que a produção MMP 9 nas afecções corneanas em humanos está associada com a presença de interleucina 1 α no fluido lacrimal. Este achado permitiu pensar-se que este mediador pró-inflamatório é um importante indutor da síntese de MMP 9, MMP 1, MMP 2 e MMP 3 na superfície ocular (MULLER, 2004).

As lágrimas contêm antimicrobianos tanto específicos como inespecíficos, a maioria deles presentes na camada aquosa. Alguns antimicrobianos não específicos são: lisozimas, lactoferrinas, α -lisinas e proteínas do complemento. A lisozima, secretada pela glândula lacrimal, é considerada a primeira linha de defesa contra patógenos oculares, causando bacteriólise por hidrólise dos peptídeoglicanos que formam a parede celular das bactérias (DAVISON & KUONEN, 2004). A lactoferrina também é secretada pela glândula lacrimal e tem alta concentração na lágrima, ligando-se reversivelmente a dois átomos de ferro, esgotando o estoque de ferro que é essencial para o metabolismo e crescimento bacteriano. Além disso, a lactoferrina se liga também ao cobre, imunoglobulina A, imunoglobulina G e proteínas do complemento, assim modulando o sistema imune. As α -lisinas causam ruptura das membranas celulares por um mecanismo de ação ainda não determinado.

Algumas das substâncias antimicrobianas específicas da córnea são as imunoglobulinas (Ig): IgA, IgG e IgM. A IgA, considerada a imunoglobulina primária do filme lacrimal, é secretada tanto pela glândula lacrimal quanto pela substância própria da conjuntiva. Provavelmente, sua secreção é regulada por hormônios, fatores imunes ou respostas neurais. A IgA secretada pela glândula lacrimal é diferente das outras IgAs, pois é composta de duas moléculas de IgA ligadas, o que a protege da ação de enzimas proteolíticas da lágrima. A IgA atua revestindo o microrganismo impossibilitando a aderência dele ao epitélio corneano, causando aglutinação, neutralização e lise microbiana. As IgG e IgM são encontradas em concentrações muito mais baixas no filme lacrimal normal, aumentando durante a inflamação, quando participam da fagocitose e lise bacteriana mediada por complemento (DAVIDSON & KUONEN, 2004).

2.3 A UNIDADE FUNCIONAL LACRIMAL

A unidade funcional lacrimal (UFL) é um sistema integrado composto pelas glândulas lacrimal e de Meibômio, superfície ocular (córnea e conjuntiva), pálpebras e nervos (sensoriais e motores) que conectam estes elementos. Esta unidade funcional controla a maior parte dos componentes do filme lacrimal num padrão regulado e responde a influências ambientais, endócrinas e corticais. A função principal da UFL é preservar a integridade do filme lacrimal, a transparência da córnea e a qualidade da imagem projetada na retina (DEWS, 2007).

Os impulsos sensoriais originados na superfície ocular têm papel importante na manutenção do filme lacrimal. Considera-se que a produção do filme lacrimal é uma resposta reflexa aos impulsos aferentes derivados (particularmente, mas não totalmente) da superfície ocular sendo que os impulsos sensoriais da mucosa nasal também têm certa contribuição. As fibras sensoriais do nervo trigêmeo partem da superfície ocular até o núcleo salivar superior na ponte, a partir de onde fibras eferentes atravessam o *nervus intermedius* até o gânglio pterigo-palatino. Nele originam-se fibras pós-ganglionicas que terminam na glândula lacrimal, nasofaringe e vasos da órbita. Outra via neural controla o reflexo de piscar, por meio das fibras

trigeminais aferentes e fibras somáticas eferentes do sétimo par de nervos cranianos (DEWS, 2007).

A secreção lacrimal no indivíduo acordado ocorre em grande parte devido aos estímulos sensoriais trigeminais originados principalmente das vias nasolacrimais e da córnea. Quando os olhos estão abertos, existe um aumento dos reflexos sensoriais vindos da superfície ocular exposta. Uma redução na condução sensorial da superfície ocular favorece a hiperosmolaridade lacrimal tanto pela diminuição da secreção lacrimal reflexo-induzida quanto pela redução do número de vezes que o indivíduo pisca, assim aumentando a perda lacrimal evaporativa (DEWS, 2007).

A estabilidade do filme lacrimal, que é extremamente necessária para o funcionamento normal do olho, é ameaçada quando as interações entre os constituintes estabilizadores do filme lacrimal são comprometidos pela diminuição da quantidade, demora no escoamento e alterações na composição da lágrima. Uma lesão ou dano a qualquer um dos componentes da UFL pode desestabilizar o filme lacrimal e levar à doença ocular que se expressa como olho seco (DEWS, 2007).

2.4 A SÍNDROME DO OLHO SECO

Caracterizada por ser uma oftalmopatia progressiva, crônica e potencialmente prejudicial à visão, a Síndrome do Olho Seco provoca um complexo de sintomas causados pela anormalidade da película lacrimal pré-corneana e conjuntival. Esta síndrome está entre as doenças mais frequentemente diagnosticadas, tanto na Oftalmologia Veterinária (ALMEIDA, 2006; DAVIDSON & KUONEN, 2004; PIGATTO et al., 2007; ROBERTS & ELIE, 2007; CABRAL et al., 2005) quanto em seres humanos (BREWITT & SISTANI, 2001; MILJANOVIC et al., 2005; FRIDMAN et al., 2004; SCHIFFMAN et al., 2003; ROBERTS & ELIE, 2007).

O Olho Seco é uma enfermidade comum em pequenos animais, principalmente em cães, onde a incidência da doença entre eles é de 1% (SLATTER, 2005). Acomete com maior frequência as raças: Shih-tzu, Lhasa Apso, Pequinês, Buldogue Inglês, Yorkshire Terrier, Pug, Cocker Spaniel, West Highland White Terrier e Schnauzer miniatura (PIGATTO et al., 2007).

Segundo o sub-comitê de definição e classificação do WorkShop Internacional sobre Olho Seco (Dry Eye WorkShop – DEWS, 2007) a definição padronizada para

olho seco é: *“O olho seco é uma doença multifatorial, das lágrimas e superfície ocular, que resulta em sintomas de desconforto, perturbação visual e instabilidade do filme lacrimal com um potencial dano a superfície ocular. É acompanhado por um aumento da osmolaridade lacrimal e inflamação da superfície ocular.”*

FRIDMAN e colaboradores (2004) definiram a síndrome do olho seco como uma diminuição da quantidade, modificação da qualidade e/ou diminuição da estabilidade da lágrima. Por estas razões o olho seco é caracterizado pelo déficit na produção e/ou aumento na evaporação do filme lacrimal (HIDA et al., 2005; ALMEIDA, 2006; SOARES & FRANÇA, 2005; ESMAELI et al., 2000; BREWITT & SISTANI, 2001).

O olho seco pode ser desencadeado por uma grande variedade de razões que não excluem uma a outra. Isto é parte de um círculo vicioso de amplificações que podem aumentar a severidade da doença. Um exemplo disso seria que todas as formas dessa síndrome causam perda das células caliciformes e isto, por sua vez, contribui para a perda da estabilidade do filme lacrimal, evaporação da água da superfície, danos ao epitélio corneano e sintomas resultantes da falta de lubrificação e eventos inflamatórios da superfície (DEWS, 2007).

O mecanismo central do olho seco se dá pela hiperosmolaridade e pela instabilidade do filme lacrimal. A maior causa da hiperosmolaridade é a evaporação do filme lacrimal e/ou a redução da porção lacrimal aquosa, resultado da falência lacrimal (FRIDMAN et al., 2004).

O olho seco por evaporação do filme lacrimal ocorre devido a uma excessiva perda de água da superfície ocular exposta na presença de uma função secretória normal, podendo ocorrer por fatores intrínsecos e/ou extrínsecos. O aumento da perda evaporativa é favorecido por condições ambientais, como a baixa umidade e a alta velocidade do ar. Clinicamente, pode ser causado pela disfunção das glândulas de Meibomio, o que leva a formação de uma camada lipídica instável (DEWS, 2007).

A hiperosmolaridade causa danos ao epitélio da superfície corneana por aumentar a osmolaridade das células epiteliais e pela ativação de eventos da cascata inflamatória na superfície ocular com liberação de fatores inflamatórios como citocinas (fator de necrose tumoral- α , interleucinas 2, 6, 1 α e 1 β) e metaloproteínas na lágrima (DEWS, 2007; ALMEIDA, 2006; MILJANOVIC et al., 2005).

O dano epitelial causado por estes fatores, envolve morte celular por apoptose, perda de células calciformes, e perturbações da expressão de mucina, levando a instabilidade do filme lacrimal. Essa instabilidade exacerba a hiperosmolaridade da superfície ocular e completa um círculo vicioso. Ainda segundo o mesmo autor, a instabilidade do filme lacrimal também pode ser iniciada sem a ocorrência prévia da hiperosmolaridade lacrimal, devido a várias etiologias, incluindo a xeroftalmia, alergia ocular, uso de medicações tópicas e outros (GOMES, 2007).

A perda da mucina normal da superfície ocular, que ocorre devido aos fatores inflamatórios liberados em consequência da hiperosmolaridade lacrimal, contribui para os sintomas causados pelo olho seco, aumentando a resistência da fricção entre as pálpebras e o globo ocular (DEWS, 2007).

O dano epitelial, causado pela liberação de fatores inflamatórios devido à hiperosmolaridade lacrimal, estimula as terminações nervosas da córnea, levando a sintomas de desconforto ocular, aumento do ato de piscar e secreção lacrimal reflexa compensatória. A secreção reflexa é encarada como um mecanismo compensatório inicial, mas com o tempo a inflamação que acompanha a disfunção secretória crônica e a diminuição na sensação corneana eventualmente compromete a resposta reflexa e resulta em instabilidade ainda maior do filme lacrimal. Esse aumento da secreção lacrimal reflexa tem sido sugerido como a base da inflamação neurogênica no interior da glândula lacrimal. Esta inflamação causa tanto destruição tecidual como um bloqueio neurosecretório que pode ser potencialmente reversível (DEWS, 2007).

Em seres humanos, a inflamação lacrimal, que afeta tanto as glândulas lacrimais quanto a superfície ocular, também pode ser observada em desordens sistêmicas auto-imunes (como a síndrome de Sjogren) e na inflamação ocular imuno-mediada local sem complicações sistêmicas. Além disso, a inflamação também pode ser observada em indivíduos idosos, com baixos níveis teciduais de androgênio ou induzida pelo uso de drogas sistêmicas, como alguns anti-histamínicos e anti-muscarínicos (ALMEIDA, 2006; BREWITT & SISTANI, 2001; FRIDMAN et al., 2004).

HARTLEY e colaboradores (2006) afirmam que em cães, a diminuição da quantidade de lágrima (valores do teste de Schirmer) com a idade pode estar ligada

à redução da capacidade funcional das glândulas lacrimais e nictitantes. Com o aumento da idade, o indivíduo normal tem um aumento na probabilidade de patologias dos ductos, o que pode promover disfunção da glândula lacrimal por efeitos obstrutivos (DEWS, 2007).

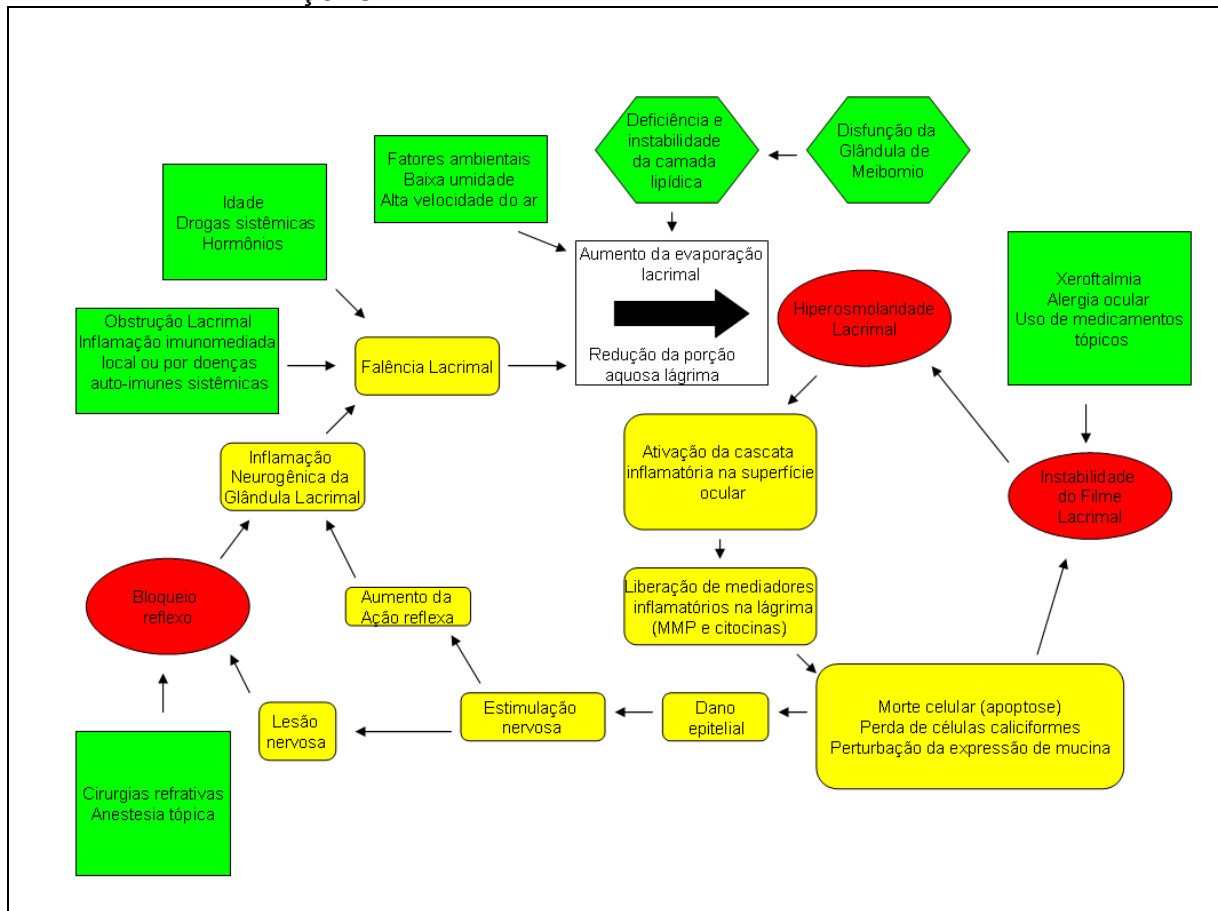
Evidências sugerem um papel dos hormônios sexuais na etiologia do olho seco em seres humanos, com a generalização de que baixos níveis de andrógenos e altos níveis de estrógenos são fatores de risco para o olho seco. Biologicamente ativos, os andrógenos promovem a função da glândula lacrimal e da glândula de Meibômio. Além disso, os androgênios circulantes são supostamente indutores do acúmulo de citocinas anti-inflamatórias nas glândulas lacrimais, como o fator de crescimento transformador β (TGF- β) (DEWS, 2007).

Alguns autores sugerem que a inflamação crônica da superfície ocular seja secundária a lesão das células epiteliais, causada pela deficiência lacrimal, pela abrasão conjuntival causada pelas pálpebras e, possivelmente, pela ausência de componentes como o fator de crescimento epidérmico, na superfície ocular. Outros admitem que a inflamação conjuntival presente no quadro de olho seco desempenha um papel primário na patogênese da enfermidade, uma vez que a diminuição da abrasão na superfície ocular, com o emprego de lacrimomiméticos e de antiinflamatórios não esteroidais, não reduz a expressão de marcadores inflamatórios na conjuntiva, mas apenas ameniza os sinais clínicos (BRIGNOLE et al., 2000).

A imunidade celular seria a causa base para a inflamação da superfície ocular que ocorre no olho seco (ALMEIDA, 2006). O olho apresenta características imunológicas únicas em virtude de sua origem embriológica e da presença de fatores fisiológicos que modulam a resposta imune. Os tecidos intra-oculares expostos a antígenos apresentam uma resposta imunológica atípica, uma vez que a ausência de vasos linfáticos, a presença de fatores protetores como a barreira hemato-aquosa, alguns imunomoduladores no humor aquoso, e do fenômeno conhecido como desvio imunológico da câmara anterior, interagem e fazem do olho um sítio imunologicamente privilegiado (ALMEIDA, 2006).

A título de síntese desta revisão bibliográfica sobre o mecanismo de ação do olho seco, apresenta-se a FIGURA 1 como um quadro que resume os mecanismos de ação do olho seco e suas interações:

FIGURA 1 – ESQUEMA DOS MECANISMOS DE AÇÃO DO OLHO SECO E SUAS INTERAÇÕES.



NOTA: ADAPTADO DE DEWS (2007)

Apesar da maioria dos casos de olho seco na literatura relativa ao tema, tanto em humanos quanto em animais, serem considerados de origem idiopática e ligados à diminuição da porção aquosa da lágrima associada à doença imunomediada (HARTLEY et al., 2006), ela também pode estar relacionada a outros fatores. Entre estes fatores são citados na literatura: doenças metabólicas (hipotireoidismo, diabetes mellitus e Síndrome de Cushing); blefarconjuntivite crônica; inflamação lacrimal imunomediada; predisposição racial; deficiência lacrimal congênita; falência lacrimal iatrogênica; radiação; doença neurogênica; cinomose; terapia sistêmica com fármacos como sulfas e fenazopiridina; uso tópico prolongado com atropina; remoção da glândula da terceira pálpebra; trauma orbital ou supra orbital; perda da inervação parassimpática das glândulas lacrimais, entre outras (PIGATTO et al., 2007; HARTLEY et al., 2006).

Segundo FRIDMAN (2004), em modelos animais pré-clínicos de olho seco permitiram que pudesse ser delineada sua história natural em quatro eventos chave:

1. Inicialmente, a redução na produção lacrimal ou o aumento em sua evaporação se associa a uma hiperosmolaridade lacrimal, elevando o teor de sódio e de outros eletrólitos na lágrima. Nesta fase inicial, o olho seco só pode ser detectado pela história clínica e por uma medida da osmolaridade lacrimal;
2. Na segunda fase, evidenciam-se os danos conjuntivais, o que pode ser identificado pelo tingimento da conjuntiva com corantes pela queda na densidade de suas células caliciformes, o que pode ser observado em exames como a citologia de impressão conjuntival. A hiperosmolaridade parece atingir, também, as glândulas meibomianas, separadas do “mar lacrimal” apenas pela fina parede tarso-conjuntival;
3. No terceiro momento, com a ruptura das ligações das moléculas do epitélio corneano entre si, passa a ocorrer sua descamação, o que é evidenciado pelo tingimento corneano com corantes;
4. Na quarta e última fase, a perda de glicoproteínas da superfície corneana se associa à desestabilização da interface córnea-lágrima, o que é demonstrado pela redução do TRFL.

Em Medicina, no atendimento diário de pacientes submetidos à cirurgias que incisam uma área relativamente extensa da córnea, comumente os pacientes queixam-se de sintomas de “sensação de areia no olho” após o procedimento. Uma das explicações para este sintoma seria a de que durante a ablação do estroma corneano, ramos de terminações nervosas do plexo subepitelial seriam removidos. Isto induziria à diminuição transitória da sensibilidade corneana, o que pode levar a uma menor produção do conteúdo aquoso da lágrima, por diminuição do estímulo eferente, necessário à sua produção e biodisponibilidade para compor o filme lacrimal (CREDIE et al., 2007).

Em Medicina Veterinária observa-se o mesmo quadro. Um paciente submetido à facectomia, onde fatalmente nervos corneanos são cortados desenvolve uma epitelopatia neurotrófica. Em consequência da epitelopatia neurotrófica induzida ocorre uma instabilidade do filme lacrimal o que gera um círculo vicioso inflamatório mediado pelas interleucinas do tipo um, agregado ao

déficit de mucina na lágrima e ao hipoandrogenismo das fêmeas castradas (WOUK, 2007).

Entre os sinais clínicos associados a esta afecção estão: Hiperemia conjuntival, prurido ocular, quemose, blefaroespasma, fotofobia, fibrose, ceratite com pigmentação e neovascularização corneana, conjuntivite, desconforto ocular, ceratite ulcerativa, secreção ocular mucóide ou mucopurulenta, ressecamento da superfície ocular, pigmentação da córnea e diminuição da acuidade visual (PIGATTO et al., 2007; ALMEIDA, 2006; ROBERTS & ELLIE, 2007).

A morbidade associada à síndrome do olho seco em humanos, se relaciona às mudanças na superfície ocular, que dão origem a um espectro de anormalidades que abrangem: erosões superficiais puntiformes, filamentos corneanos, placas mucosas e defeitos epiteliais. Nos casos mais severos, a ocorrência de complicações como as úlceras de córnea podem trazer sérios riscos a integridade ocular (FRIDMAN et al., 2004).

O diagnóstico do olho seco em cães é estabelecido com base na combinação das informações da anamnese e do exame oftalmológico, incluindo biomicroscopia com lâmpada de fenda, corantes vitais, teste quantitativo ou de produção lacrimal (Teste Lacrimal De Schirmer 1 – Schirmer Tear Test 1 – STT1), e teste de estabilidade e qualidade da lágrima (tempo de Ruptura do Filme Lacrimal – TRFL) realizado com fluoresceína. (PIGATTO et al., 2007).

Entre os testes clínicos disponíveis para avaliar a produção lacrimal e detectar anormalidades quantitativas do filme lacrimal, o mais usado é o STT1, por tratar-se de um teste fácil e de baixo custo (SAITO & KOTANI, 2001; HARTLEY et al., 2006). Para o STT1, um papel filtro padronizado de 5 mm de largura e 35 mm de comprimento, com uma dobra a 5 mm da extremidade, é colocado no terço médio do saco conjuntival inferior por um minuto. Esse método mede a secreção basal e reflexa da lágrima (PIGATTO et al., 2007). Não há diferença nos valores do teste se os olhos ficarem abertos ou fechados (HIDA et al., 2005). Segundo SAITO & KOTANI (2001). Na literatura pesquisada, os valores normais do STT1 para cães saudáveis variam entre 15 mm/min e 23 mm/min, sendo que valores menores do que 15 mm/min já podem ser sugestivos de olho seco para cães (PIGATTO et al., 2007; SLATTER, 2005). O STT1 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 & KOTANI, 2001).

O teste qualitativo da lágrima pode ser feito pela análise do TRFL, que é um teste não invasivo que mede indiretamente a estabilidade do filme lacrimal pré-corneano através dos componentes de mucina e lipídeos do filme lacrimal. Para a realização do TRFL instila-se uma gota de corante de fluoresceína sódica na esclera dorsal dos pacientes. As pálpebras são mantidas fechadas até o início do teste. Ao se abrir as pálpebras mede-se o tempo até o primeiro sinal de ruptura do filme lacrimal (ponto escuro no filme lacrimal que está amarelo-esverdeado devido a ação da fluoresceína). Em cães, os valores normais de TRFL variam entre 14,7 e 24 segundos. Porém estes valores podem apresentar outras variações que devem ser avaliadas individualmente com o quadro e evolução de cada caso (CULLEN et al., 2005; SAITO & KOTANI, 2001).

Em humanos, a Síndrome do Olho Seco constitui freqüentemente em 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 (FRIDMAN et al., 2004). Na Medicina Veterinária a situação não é muito diferente.

Não existem dúvidas de que o olho seco é uma doença importante e séria da superfície ocular, e que pode reduzir drasticamente a qualidade de vida do paciente. Por ser uma doença complexa, com manifestações diversas em cada indivíduo, a necessidade de um tratamento voltado para cada paciente e caso é cada vez mais presente (BREWITT & SISTANI, 2001).

O tratamento normalmente utilizado para o olho seco é medicamentoso e inclui principalmente lacrimogênicos, lacrimomiméticos, mucolíticos e antibacterianos tópicos. Uma constante entre os tratamentos, as lágrimas artificiais promovem apenas um alívio sintomático dos sinais clínicos. Este alívio além de temporário é incompleto (MILJANOVIC et al., 2006).

A partir das evidências da etiologia auto-imune do olho seco em cães, preconiza-se a utilização da Ciclosporina A tópica como tratamento de eleição para estimular a produção lacrimal (PIGATTO et al., 2007). A Ciclosporina A, é uma poderosa droga imunossupressiva utilizada em numerosas condições oftalmológicas, tanto humanas quanto veterinárias. É o primeiro imunossupressor a ter um efeito

seletivo em células linfóides ou células T. Esse efeito nas células T é único, sendo que em concentrações terapêuticas ele inibe a proliferação dessas células, mas não é citotóxico (GILGER & ALLEN, 1998; WILSON & PERRY, 2007).

Outro tratamento comumente usado para a deficiência aquosa do filme lacrimal baseia-se no uso de lubrificantes tópicos, de preferência sem preservativos, e que tenham o tempo de permanência e viscosidade apropriados de acordo com a severidade do olho seco. Normalmente, inicia-se o tratamento com metilcelulose 0,5%, álcool polivinílico 0,12% ou polividona 5%, trocando-se, nos casos mais severos, para metilcelulose 1% ou carboximetilcelulose 1%. A frequência deve ser ajustada de acordo com o tipo de lubrificante e resposta clínica observada (GOMES, 2007).

Quando o uso dos lubrificantes não é suficiente, indica-se a oclusão dos pontos lacrimais, com o objetivo de diminuir a drenagem e manter a lágrima (ou lubrificante) na superfície ocular por um período maior de tempo pois reduz a área exposta da superfície ocular (GOMES, 2007).

Nos casos severos de olho seco, pode-se utilizar soro autólogo puro ou diluído, conforme a gravidade do caso. Normalmente, dilui-se a concentrações de 20 a 50% em solução salina ou metilcelulose 0,5%. Sabe-se que o soro autólogo possui componentes essenciais que se encontram presentes na lágrima, como a vitamina A, fator de crescimento da epiderme e TGF- β . É importante que a preparação desse colírio seja feita em laboratório estéril e com experiência na manipulação de sangue para diminuir o risco de contaminações (GOMES, 2007).

O olho seco do tipo evaporativo secundário a disfunção das glândulas de meibômio pode ser tratado com compressas mornas e limpeza das margens palpebrais com shampoo neutro uma a duas vezes ao dia. Nos casos de blefarite estafilocócica associada, pode-se utilizar pomadas de tetraciclina 1%, sulfacetamida 10% ou bacitracina 5000 μ g/ml uma a duas vezes ao dia. Nos casos mais graves indica-se o uso sistêmico de doxiciclina na dose de 100mg uma a duas vezes ao dia por algumas semanas (GOMES, 2007).

Nos casos de deficiência de mucina, o tratamento consiste no controle da condição determinante e lubrificação. O oftalmologista Eduardo Melani Rocha, pesquisador da Faculdade De Ciências Médicas da UNICAMP, está desenvolvendo um novo colírio para ser empregado no tratamento do olho seco. A inovação deste

colírio está ligada à incorporação da insulina, hormônio que estimula o metabolismo dos tecidos e, neste caso pode contribuir para a produção de lágrimas, pois sabe-se que existem nos tecidos oculares receptores específicos para a insulina, o que indica a possibilidade de sua ação no local (ALVES FILHO, 2004)

A tarsorrafia lateral pode ser realizada nos casos mais graves para diminuir a área de exposição da superfície ocular e, conseqüentemente, a evaporação da lágrima (GOMES, 2007). Outra opção cirúrgica seriam os transplantes glandulares que substituem a lágrima pela secreção salivar (SOARES & FRANÇA, 2005; GOMES, 2007; PIGATTO ET AL., 2007).

Pesquisas atuais mostram que o consumo de ômega três e a razão entre o consumo de ômega seis e três, afetam o nível global de atividade inflamatória no organismo, e algumas evidências sugerem um possível papel protetor da suplementação de ômega três no tratamento do olho seco. MILJANOVIC e seus colaboradores (2005) realizaram uma pesquisa na tentativa de demonstrar essa relação em seres humanos, chegando à conclusão de que mulheres que tem um maior consumo de ômega três aparentam ter um menor risco de desenvolver olho seco. Além disso, uma alta razão entre o consumo de ômega seis e ômega três foi associada a um aumento no risco do aparecimento da doença (MILJANOVIC et al., 2005).

2.5 ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA TRÊS

As células animais não podem sintetizar os ácidos graxos não saturados como o ômega três e seis, que por isso são chamados de ácidos graxos essenciais e devem ser ingeridos com a dieta (ESCAMILLA, 2003).

As famílias de ácidos graxos ômega três e seis são ácidos graxos poliinsaturados contendo 18 a 22 carbonos. A designação de ômega tem relação com a posição da primeira dupla ligação, contando a partir do grupo metílico final da molécula de ácido graxo. O ácido graxo ômega três apresenta a primeira dupla ligação entre o terceiro e o quarto átomo de carbono (HODGE et al., 2006). Os principais ácidos graxos ômega três são o ácido linolênico 18:3, o ácido

eicosapentaenóico (EPA) 20:5 e o ácido docohexaenóico (DHA) 22:6 (SUÁREZ-MAHECHA et al. 2002).

Entre as principais funções gerais dos ácidos graxos estão: o depósito de energia e a conformação das membranas celulares, a manutenção das condições normais das funções cerebrais e impulsos nervosos, além de serem precursores de substâncias, como as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos (SUÁREZ-MAHECHA et al. 2002; MILJANOVIC et al., 2005; MARTIN et al, 2006). Também participam da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, da síntese de hemoglobina e da divisão celular (MARTIN et al., 2006). O número e a posição das duplas ligações determinam as propriedades físicas e químicas dos PUFAs. As famílias ômega seis e três têm diferentes funções fisiológicas e atuam em conjunto para regular os processos biológicos (SUÁREZ-MAHECHA et al. 2002). Inúmeros estudos sobre os ácidos graxos ômega seis e três nas últimas décadas têm destacado a importância da ingestão destes na fase gestacional, nos primeiros meses após o nascimento, na terceira idade e em diversas doenças, principalmente degenerativas (MARTIN et al., 2006)

Os benefícios nutricionais e medicinais do EPA e o DHA, também conhecidos como ácidos graxos altamente insaturados ômega três, têm sido muito discutidos em muitos artigos e conferências. Entre os efeitos fisiológicos nos humanos estão a prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, hipertensão, inflamações em geral, asma, artrite, psoríase e vários tipos de câncer (SUÁREZ-MAHECHA et al. 2002). Já foi demonstrado que o uso do ácido linoleico e do gama linoleico reduz a inflamação ocular e melhora os sintomas de olho seco por deficiência aquosa (PINHEIRO JR et al., 2007).

Os derivados dos ácidos α -linoleico recebem a terminação de antiinflamatórios porque podem bloquear o ciclo da lipoxigenase e cicloxigenase, e por isso são atribuídas a estas atividades imunorreguladoras e antiinflamatórias (ESCAMILLA, 2003).

O EPA e o DHA quando incorporados no interior da membrana celular, influem na permeabilidade da mesma, agindo nas funções de receptor, na atividade enzimática, citocinas e na produção de eicosanóides (SUÁREZ-MAHECHA et al. 2002; CALDER, 2004; MILJANOVIC et al., 2005). Os eicosanóides são mediadores

inflamatórios que são sintetizados tanto pelos ácidos graxos ômega três citados acima como pelo ácido araquidônico, um ácido graxo ômega seis (CALDER, 2004).

Frente a um estímulo antigênico, tanto o ácido araquidônico quanto o EPA e o DHA são mobilizados das membranas das células imunes pela enzima fosfolipase A2, e competem entre si pelas mesmas vias enzimáticas (ciclooxigenase e lipoxigenase) para a formação dos eicosanóides (CALDER, 2004). As enzimas ciclooxigenases convertem os ácidos graxos livres em endoperóxidos cíclicos, originando as prostaglandinas e tromboxanos, enquanto que as enzimas lipoxigenases são responsáveis pela obtenção dos leucotrienos. As Prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos agem de forma autócrina e parácrina, influenciando inúmeras funções celulares que controlam mecanismos fisiológicos e patológicos do organismo (MARTIN et al., 2006).

O ácido linoléico é convertido em ácido araquidônico, que é um dos responsáveis pelas respostas inflamatórias e imunológicas (ESCAMILLA, 2003). O ácido araquidônico tem uma maior afinidade pela enzima ciclooxigenase e é precursor de eicosanóides da série 2 que são vigorosamente pro-inflamatórios, como a prostaglandina E2, leucotrieno B4, tromboxano 2 e fator de agregação de plaquetas, que participam de inúmeros processos inflamatórios no organismo. Enquanto que seus correspondentes eicosanóides sintetizados a partir dos ácidos graxos ômega três, como a prostaglandina E3, leucotrieno B5 e tromboxano 3, possuem propriedades anti-inflamatórias, sendo de 10 a 100 vezes menos ativos que os eicosanóides da série 2 (CALDER, 2004; MILJANOVIC et al., 2005; MARTIN et al., 2006).

Em função dessas diferenças fisiológicas tem-se proposto que a produção excessiva de prostanoídes da série 2 está relacionada com a ocorrência de desordens imunológicas, doenças cardiovasculares e inflamatórias, sendo recomendado nestes casos o aumento da ingestão de ácidos graxos ômega três para elevar a produção de prostanoídes da série ômega três (MARTIN et al., 2006)

Assim como o EPA inibe a síntese de prostaciclina e tromboxanos, o DHA inibe preferencialmente a síntese de tromboxanos, isto, além do fato do tromboxano gerado pelo DHA ser muito mais débil do que o formado pelos ácidos graxos ômega seis, transforma o DHA em um melhor fator antitrombótico (SUÁREZ-MAHECHA et al. 2002).

O DHA tem importante função na formação, desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina, sendo predominante na maioria das membranas celulares destes órgãos. Na retina, encontra-se ligado aos fosfolípidos que estão associados a rodopsina, uma proteína que interage no processo de absorção da luz. Seu mecanismo de ação possivelmente está relacionado com o aumento na eficiência do processo de transformação da luz e com a regeneração da rodopsina. A diminuição dos níveis desse ácido graxo nos tecidos da retina tem sido associada, em recém-nascidos, com anormalidades no desenvolvimento do sistema visual, e em adultos com a diminuição da acuidade visual (MARTIN et al., 2006).

Por ser altamente insaturado, o DHA atua influenciando as propriedades físicas das membranas cerebrais, as características de seus receptores, as interações celulares e as atividades enzimáticas. Com o envelhecimento do indivíduo, há um aumento do estresse oxidativo, que atua reduzindo os níveis de DHA e ácido aracdônico no cérebro. Esse processo resulta em um aumento na produção de colesterol no cérebro e nos humanos ocorre em maior intensidade nas doenças de Alzheimer, Parkinson e na esclerose lateral amioniotrófica (MARTIN et al., 2006).

O EPA afeta o metabolismo lipoprotéico e diminui a produção de outros componentes, incluindo citocinas, interleucina 1- β e fator de necrose tumoral α , que têm efeitos pro-inflamatórios. Estes componentes exercem ações celulares pró-inflamatórias que incluem estimular a produção da colagenase e aumentar a expressão de moléculas de adesão necessárias para o extravasamento de leucócitos (HODGE et al., 2006).

Além da importância dos ácidos graxos na modulação da resposta inflamatória, seus metabólitos eicosanóides possuem uma variedade de outras ações. Na síndrome do olho seco, a prostaglandina E1 parece ser um importante estimulador da secreção aquosa lacrimal. Os ômega três também podem ter um efeito direto na porção polar da camada lipídica do filme lacrimal, devido a um aumento na quantidade de ômega três presentes. E, finalmente, o consumo de ômega três pode diminuir a produção de estrogênio endógeno, o que pode reduzir o risco do desenvolvimento do olho seco (MILJANOVIC et al., 2005).

Sabe-se que particularmente no olho os ácidos graxos ômega três possuem efeitos imunossupressivos e antiinflamatórios, que melhoram a expressão e a

adesão dos microvilos dos epitélios oculares, que promovem uma maior fluidez das secreções oriundas das glândulas tarsais (Meibômio), que promovem a função das células caliciformes da conjuntiva (Glândulas de Henley) e assim globalmente melhoram a qualidade do filme lacrimal e evitam a rápida evaporação da lágrima (PINHEIRO JR et al., 2007). Colírios de ômega três já foram utilizados com sucesso na disfunção da glândula de Meibômio (ESCAMILLA, 2003). Portadores de olho seco têm processos inflamatórios, que afetam a superfície ocular e as glândulas lacrimais, influenciados por citocinas mediadas por receptores. A capacidade dos esteróides e de agentes imunomoduladores de melhorar o quadro de olho seco moderado a severo dá suporte à hipótese que um importante processo inflamatório contribui decisivamente para o ciclo vicioso de sinais e sintomas que estão presentes nesses pacientes. A eficácia do óleo de linhaça como auxiliar no tratamento do olho seco pode ser explicada pela elevação local das prostaglandinas tipo 1, já demonstrada após ingestão sistêmica de ácidos linoleico e gama linoleico, que estão entre os componentes do óleo de linhaça com comprovado e significativo aumento de prostaglandina E1 no filme lacrimal (PINHEIRO JR et al., 2007)

Os ácidos graxos ômega três são de suma importância na nutrição, devendo existir uma relação adequada entre o consumo de ômega seis e três, uma vez que um balanço inadequado poderia acentuar um estado de deficiência de ômega três, como é relatado em várias pesquisas (SUÁREZ-MAHECHA et al. 2002). Os ácidos graxos ômega três e ômega seis competem pelas enzimas envolvidas nas reações de dessaturação e alongamento de cadeia. Embora essas enzimas tenham maior afinidade pelos ácidos da família ômega três, a conversão do ácido α -linolênico é fortemente influenciada pelos níveis de ácido linoléico na dieta. Assim, a razão entre a ingestão diária de alimentos fontes de ácidos graxos ômega seis e três assume grande importância na nutrição, pois razões elevadas resultam na diminuição da produção do EPA, condição que contribui para o desenvolvimento de doenças inflamatórias, alérgicas e cardiovasculares (MARTIN et al., 2006).

Não existem estudos que demonstrem se é melhor consumir o ácido α -linoleico (EPA e DHA) na forma de linhaça ou na forma de pescado, mas provavelmente as diferenças dependem do metabolismo de cada indivíduo (ESCAMILLA, 2003). Ainda segundo a mesma autora, apesar dos múltiplos benefícios dos ácidos graxos ômega três no tratamento do olho seco, ainda existem

muitas dúvidas sobre as doses e a melhor forma de obtenção do suplemento nutricional do ômega três. Todavia, já se pode concluir que o ômega três é um tratamento alternativo para qualquer doença inflamatória e imune.

2.6 NUTRACÊUTICOS NA FUNÇÃO VISUAL E NA INFLAMAÇÃO OCULAR

Em função das reações foto-oxidativas e de toxinas químicas, a superfície e o segmento anterior do olho estão constantemente expostos à ação das espécies ativas de oxigênio. A superfície ocular também está envolvida na proteção anti-infecciosa, sendo os leucócitos ativados uma importante fonte de radicais livres (GUS et al., 2006).

Nutraceuticos ou alimentos funcionais são alimentos que além dos nutrientes básicos possuem propriedades de preservação ou diminuição de certas doenças. A suplementação nutricional com antioxidantes, vitaminas e minerais melhora a função visual e estudos defendem o uso de vitaminas (A, C e E), antioxidantes, ácidos graxos ômega três, zinco, selênio e carotenóides para a melhora e tratamento de problemas visuais (CANGEMI, 2007).

O medicamento testado nesse trabalho foi o Gerioox^{®1}. Inicialmente desenvolvido como um medicamento geriátrico destinado a cães e gatos, com ações antioxidantes e condroprotetoras, o Gerioox[®] age melhorando as funções vitais do organismo pela ação do ômega três em distintos órgãos do corpo. Cada comprimido é composto de: ômega três (0,2 ml), glucosamina destogera (0,140g), condroitin sulfato "A" (0,150g), gluconato de Cu (0,003g), gluconato de Zn (0,20g), selenito de Na (0,005mg) e vitamina E (0,05g).

O Zinco, o Cobre, a vitamina E e o Selenito de Sódio, são antioxidantes por excelência, que atuam eliminando os radicais livres, produtos naturais do metabolismo celular que quando não eliminados vão lesando as células, o que acelera o envelhecimento do organismo. Os antioxidantes auxiliam na resposta inflamatória, na cicatrização corneana e mantêm a estabilidade do filme lacrimal (GUS et al., 2006).

¹ Gerioox[®] - Labyes S. A. Especialidades Veterinárias - Argentina

O Cobre é um elemento metálico de transição, de caráter básico, que apresenta como característica química a facilidade de se oxidar. Este microelemento está presente no sítio ativo de algumas enzimas que catalisam reações orgânicas oxidativas. As funções do cobre são várias e estão ligadas ao papel deste nas metaloenzimas. O cobre está ligado ainda à imunocompetência e este fato está associado com a menor capacidade de fagocitose dos leucócitos, causada pela ação de radicais superóxidos desativados pela menor atividade da metaloenzima superóxido-dismutase (ORTOLANI, 1999).

A vitamina E desenvolve importante ação antioxidante, que previne a peroxidação lipídica nas membranas celulares, preservando assim a integridade estrutural das células em geral. Entre algumas de suas funções estão: a proteção das células endoteliais contra certos tipos de danos vasculares; a influência no metabolismo dos ácidos graxos poliinsaturados e ácidos nucléicos; a melhoria na suplementação de vitamina A (extremamente importante para a função visual), impedindo a sua oxidação; a promoção da síntese de hormônios gonadotróficos e adrenocorticotróficos; além de potente ação antioxidante em relação aos lipídeos, inibindo a oxidação de vários compostos, como os ácidos graxos insaturados, e impedindo a peroxidação destes com conseqüente formação de radicais livres (MEDEIROS & PAULINO, 1999).

O selênio é um elemento não metal, de caráter ligeiramente ácido, que se caracteriza por uma versátil capacidade de oxirredução. Esta característica é fundamental para a sua atuação no centro ativo da enzima glutathiona-peroxidase, responsável pela destruição de peróxidos (radicais livres). Enquanto o selênio protege o interior das células, a vitamina E atua, na mesma função, no meio extracelular (ORTOLANI, 1999).

A suplementação da vitamina E, nos animais protege o organismo contra a formação de radicais livres, impedindo a peroxidação de metais pesados, drogas ou outras substâncias químicas. Esta suplementação geralmente se faz necessária na deficiência de selênio, pois há inter-relação importante entre a vitamina E e este elemento mineral, em determinadas situações o selênio substitui a vitamina E, pois ambos têm efeitos antioxidantes (MEDEIROS & PAULINO, 1999).

O condroitin sulfato "A" se encontra na cartilagem articular e na córnea formando uma matriz. São estruturas com alta carga aniônica e elevado peso

molecular, características que conferem a estas estruturas a capacidade de reter água dando ao tecido melhor elasticidade e permitindo a entrada de nutrientes e a eliminação de resíduos do metabolismo celular. A córnea é avascular, então sua nutrição é realizada por difusão. Os nutrientes se difundem através da água da matriz para alimentar as células. Outra ação do condroitin sulfato é melhorar a microcirculação arterial. WOUK e colaboradores (2006) confirmaram o efeito antiinflamatório tópico do sulfato de condroitina no olho de eqüinos.

A glucosamina estimula a formação do ácido hialurônico, principal componente do líquido sinovial articular. É aplicada em processos avançados de osteoporose.

3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

3.1 LOCAL E ANIMAIS

Ao longo de quatorze meses, foram selecionados da casuística de dois serviços universitários de Oftalmologia Veterinária (Universidade Federal do Paraná - UFPR e Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR), quatorze cães da raça Cocker Spaniel portadores de sub-luxação ou luxação anterior bilateral do cristalino, com ou sem catarata. Na TABELA 1 podem ser observados os dados dos animais que participaram desta pesquisa.

TABELA 1 – RAÇA, IDADE E SEXO DOS ANIMAIS UTILIZADOS NA PESQUISA. CURITIBA, 2007.

Número do Cão	Raça	Idade	Sexo	Castrado/Inteiro
1	Cocker Inglês	6 anos	Fêmea	Castrada
2	Cocker Americano	5,5 anos	Macho	Inteiro
3	Cocker Americano	6 anos	Macho	Castrado
4	Cocker Inglês	7 anos	Fêmea	Inteira
5	Cocker Inglês	5,5 anos	Fêmea	Castrada
6	Cocker Inglês	5,5 anos	Fêmea	Inteira
7	Cocker Americano	5,5 anos	Fêmea	Castrada
8	Cocker Inglês	6 anos	Fêmea	Inteira
9	Cocker Inglês	5,5 anos	Fêmea	Castrada
10	Cocker Inglês	6 anos	Fêmea	Inteira
11	Cocker Inglês	8 anos	Fêmea	Castrada
12	Cocker Inglês	6 anos	Macho	Inteiro
13	Cocker Americano	6 anos	Fêmea	Castrada
14	Cocker Americano	7 anos	Macho	Inteiro

3.2 PROCEDIMENTOS PRÉ-OPERATÓRIOS

Nas FIGURAS 2 e 3 são apresentados exemplos percebidos na avaliação clínica e relativos aos aspectos da catarata dos animais participantes desta pesquisa.

Após avaliação clínica, três dias antes do procedimento cirúrgico foi iniciada a medicação antibiótica tópica ocular com uma gota de Tobramicina² cinco vezes ao dia. Uma hora antes da intervenção, a cada 15 minutos, foi instilada uma gota de Sulfato de Atropina 1%³ e uma gota de Cloridrato de Fenilefrina 10%⁴ para provocar midríase e permitir a realização do procedimento.

² Tobrex® - Alcon Labs do Brasil Ltda. – São Paulo, SP

³ Atropina 1% - Fraga Farmagráfica S.A. – São Paulo – SP

FIGURA 2 – ASPECTO DA CATARATA BILATERAL EM UM DOS CÃES OPERADOS. HOSPITAL VETERINÁRIO, UFPR. CURITIBA, OUTUBRO 2006.



FOTO LEANDRO LIMA.

FIGURA 3 – CATARATA E SUB LUXAÇÃO DO CRISTALINO EM UM DOS CÃES OPERADOS. HOSPITAL VETERINÁRIO, UFPR. CURITIBA, OUTUBRO 2006.

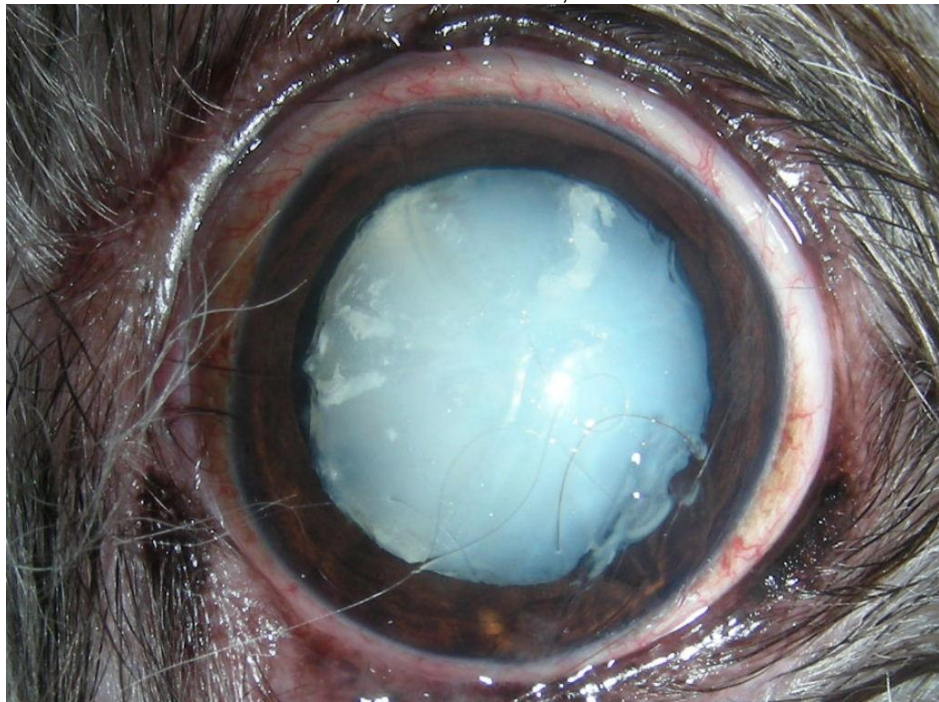


FOTO LEANDRO LIMA.

⁴ Fenilefrina 10% - Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda – São Paulo – SP

3.3 PROCEDIMENTOS ANESTÉSICO

O procedimento iniciou-se com a indução anestésica endovenosa com Propofol⁵. Posteriormente, o paciente foi mantido sob anestesia geral gasosa com uma mistura de gás oxigênio e Metoxiflurano ⁶.

Com os animais já sob anestesia geral, foi realizada uma anestesia local extraconal (peri-bulbar) com Cloridrato de Lidocaína 2%⁷ sem adrenalina. Foram injetados 4ml de lidocaína em cada canto de ambos os olhos.

3.4 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICO

Todos os procedimentos independente do local de realização dos mesmos, PUC-PR ou UFPR, foram realizados pelo mesmo cirurgião. Na mesma intervenção cirúrgica os dois olhos de cada animal foram submetidos à Facectomia Intra ou Extra-Capsular, conforme necessário. Foram operados 14 animais totalizando 28 olhos.

Após a realização da antisepsia do fundo de saco conjuntival com uma solução de iodo povidine diluído em água destilada na proporção de 1:5000, foi realizado o afastamento palpebral. A fixação do bulbo ocular deu-se por meio de sutura do músculo reto dorsal, em posição de “12 horas”, com fio de seda 4-0.

O início da facectomia ocorreu com a incisão córneo-corneana justa límbica da região compreendida entre “2 e 10 horas” (FIGURA 4).

Sob proteção da câmara anterior com Metilcelulose 2%⁸ realizou-se a capsulorexis com auxílio de uma pinça de Utrata. Nas situações em que o procedimento foi a extração intra-capsular esta etapa não foi realizada. A remoção da lente ocorreu por pressão em “6 horas” e contra-pressão em “12 horas”.

As suturas da córnea foram realizadas com fio de poliglactine (Vycril) número 8-0, com sete pontos isolados simples, sepultando-se o nó (FIGURA 5).

⁵ Diprivan 2% - Astrazeneca Produtos Farmacêuticos, Ltda – São Paulo – SP

⁶ Pentrane – Abbott Laboratories – São Paulo – SP

⁷ Cloridrato de Lidocaína 2% Injetável – Hipolabor farmacêutica, Sabará – MG.

⁸ Metilcelulose 2% - Ophthalmos Indústria e comércio de produtos farmacêuticos Ltda. São Paulo - SP

FIGURA 4 – INCISÃO CÓRNEO-CORNEANA JUSTA LÍMBICA. HOSPITAL VETERINÁRIO UFPR, CURITIBA – PR. OUTUBRO 2006.

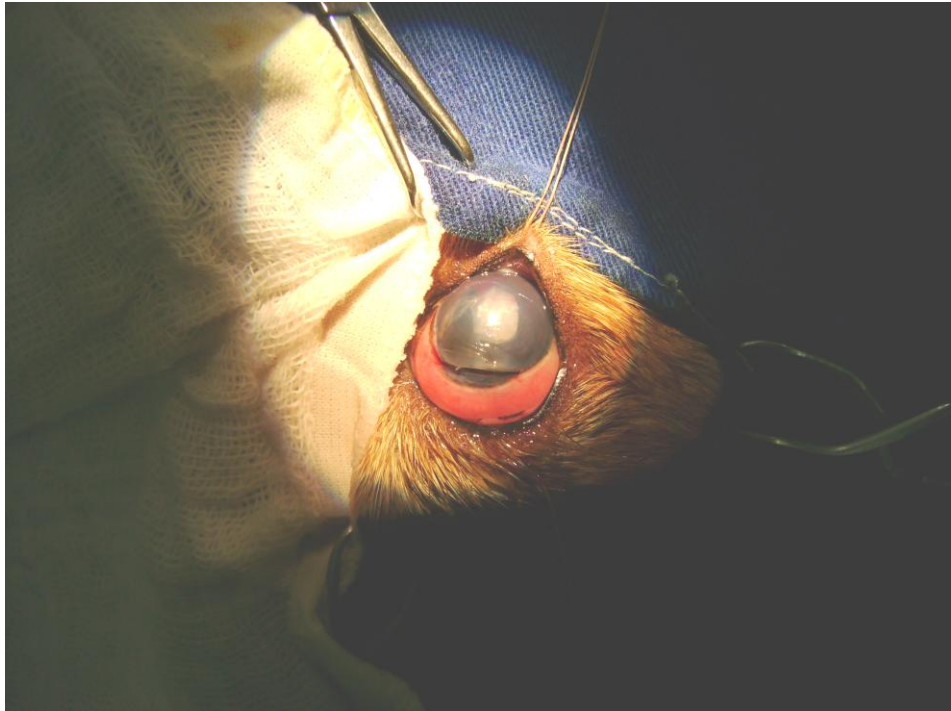


FOTO: LEANDRO LIMA

FIGURA 5 – SUTURA CORNEANA COM PONTOS ISOLADOS SIMPLES. HOSPITAL VETERINÁRIO UFPR, CURITIBA – PR. OUTUBRO 2006.



FOTO: LEANDRO LIMA

3.5 PROCEDIMENTOS PÓS-OPERATÓRIO

No pós operatório os animais seguiram com a mesma medicação e posologia antibiótica do pré-operatório por mais quinze dias. Para a manutenção da midríase, foram receitadas uma gota de Sulfato de Atropina 1% e uma gota de Cloridrato de Fenilefrina 10% duas vezes ao dia por mais cinco dias. Foi acrescentado ainda um colírio com corticóide a base de Prednisona⁹ na dose de uma gota cinco vezes ao dia por trinta dias após o procedimento.

Os animais especificados na TABELA 1 foram nomeados de um a quatorze e divididos ao acaso em dois grupos de sete animais cada grupo recebendo um tratamento nutracêutico diferenciado.

Os animais de um a sete formaram um primeiro grupo composto de dois machos e cinco fêmeas com média de idade de 5,8 anos. Este grupo que foi denominado grupo OMG foi tratado com três cápsulas de ômega três de Óleo de Peixe¹⁰ que contêm em cada cápsula 87mg de EPA e 54mg de DHA (Total: 261mg de EPA e 162mg de DHA por dia).

Os demais animais (oito a quatorze) formaram um segundo grupo também com dois machos e cinco fêmeas, com média de idade de 6,3 anos. Este grupo denominado grupo G recebeu tratamento com um comprimido de Gerioox[®] que contém 14mg de EPA e 21mg de DHA de origem tanto animal quanto vegetal, além de glucosamina destrogera (0,140g), condroitin sulfato A (0,15g), gluconato de cobre (0,003g), gluconato de zinco (0,02g), selenito de sódio (0,05g) e vitamina E (1,8g). O Gerioox[®] é um novo medicamento indicado inicialmente como nutracêutico geriátrico com efeitos antioxidantes, condroprotetores e dermatológicos para cães e gatos. Os componentes antioxidantes, vitaminas e minerais presentes na sua formulação podem potencializar o efeito antiinflamatório dos ômega três e auxiliar na estabilidade e qualidade do filme lacrimal como já foi referido na revisão bibliográfica. Apesar de não ser indicado especificamente para o tratamento de olho seco, este produto foi escolhido como um dos tratamentos a serem testados, por se tratar de uma associação de Omega três com outros componentes.

⁹ Predfort[®] - Allergan produtos farmacêuticos Ltda. São Paulo – SP

¹⁰ Óleo de peixe com ômega três – Phytomare. Governador Celso Ramos – SC

Previamente ao início da pesquisa os proprietários dos animais pertencentes ao grupo G foram alertados que estes estavam recebendo um tratamento alternativo ainda em teste. Somente após o consentimento e esclarecimento dos proprietários, os animais foram incluídos na pesquisa.

Em cada um dos grupos o nutracêutico utilizado para tratamento - ômega três ou Gerioox[®] - foi administrado uma vez ao dia, pela manhã, após a alimentação. Nenhum dos animais utilizados no estudo recebia ração ou outro tipo de suplementação contendo ômega três ou outro nutracêutico.

Os tratamentos dos dois grupos foram iniciados em todos os animais a partir do quinto dia de pós-operatório durante um período de 60 dias. O motivo pelo qual se começou a tratar os animais apenas no quinto dia foi para permitir que a epiteliopatia neurotrófica fosse instalada.

Por se tratar de um estudo clínico não foi necessária a aprovação por um Comitê de Ética.

3.6 AVALIAÇÃO CLÍNICA

A avaliação oftálmica e do filme lacrimal foi feita no período pré-operatório imediato (T0) e no quinto (T5), décimo (T10), décimo quinto (T15), trigésimo (T30), quadragésimo quinto (T45), sexagésimo (T60) e nonagésimo (T90) dias de pós-operatório.

Para este fim empregou-se oftalmoscópio direto, STT1 e TRFL com colírio de cloridrato de fluoresceína¹¹.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de TRFL e STT1 de cada olho de cada animal foram tabulados a partir das informações coletadas em T0, T5, T10, T15, T30, T45, T60 e T90 em planilhas no Excel para posterior análise. Foi utilizada a média entre os valores dos testes no olho direito e esquerdo de cada animal já que o tratamento foi administrado via sistêmica.

¹¹ Fluoresceína 1% - Ophthalmos Indústria e comércio de produtos farmacêuticos Ltda. São Paulo - SP

A metodologia usada para a análise foi a comparação das médias entre os dois grupos experimentais realizada inicialmente por Análise de Variância (ANOVA) utilizando o programa MSTATC. Os testes estatísticos de significância utilizados para comparação de médias foi o teste Tukey, sempre que o teste de F (Fisher) da ANOVA constatou haver diferenças significativas no nível de probabilidade de 99% e o uso do “t” teste (teste de Student) na comparação de dois processos, também no nível de 99%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente trabalho priorizou o estudo de alternativas para o tratamento do olho seco como efeito secundário da técnica cirúrgica de facectomia intra ou extracapsular. Para tanto, elegeu-se um estudo clínico com cães da raça Cocker Spaniel.

O quadro de olho seco, caracterizado como uma doença inflamatória crônica apresentando anormalidades quantitativas e/ou qualitativas no filme lacrimal, é muito freqüente em cães. Conforme revisão da literatura, constatou-se que há uma predisposição ao desenvolvimento do quadro na raça Cocker Spaniel, particularmente em fêmeas e cães de meia idade (CABRAL et al., 2005; THE AMERICAN SPANIEL CLUB INC., 1996). Os cães desta raça são predispostos, tanto a luxação do cristalino quanto ao olho seco senil (HARTLEY et al., 2006), e, estes aspectos tornam estes animais particularmente interessantes ao estudo pretendido. Foram selecionados animais de meia idade (ver TABELA 1) para que as chances da instalação do quadro de olho seco pós-cirúrgico fossem aumentadas (FRIDMAN et al., 2004; BREWITT & SISTANE, 2001; CABRAL et al. 2005).

O epitélio corneano contém numerosas terminações nervosas livres, o que explica a grande sensibilidade da córnea (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999). A epiteliopatia corneana neurotrófica é atribuída à diminuição da produção lacrimal associada ao corte de nervos corneanos, e influencia na regulação do eixo córnea - sistema nervoso central - glândula lacrimal que controla as secreções lacrimais basal e reflexa (WILSON, 2001).

A epiteliopatia neurotrófica e o conseqüente desenvolvimento do olho seco, derivados da cirurgia de facectomia intra ou extracapsular, já foram descritos por ROBERTS & ELIE (2007), e, no experimento em estudo, este fato se confirma pela avaliação dos testes de quantidade (STT1) e estabilidade (TRFL) da lágrima quando comparados os dados do pré-operatório (T0) com os dados obtidos após cinco dias do procedimento cirúrgico (T5).

Na TABELA 2 a seguir, são apresentadas as Médias Aritméticas com o respectivo Desvio Padrão dos resultados dos testes quantitativo (STT1) e qualitativo (TRFL) nos diferentes tempos e por grupo de tratamento realizado, sendo que o grupo tratado com Gerioox[®] foi identificado pela letra "G" e grupo tratado com Ômega 3 de Óleo de Peixe com as letras "OMG".

TABELA 2 – RESULTADOS DO TRFL E STT1 NOS DIFERENTES TRATAMENTOS E PERÍODOS AVALIADOS. CURITIBA, 2007.

Tempo (dias)	TRFL (segundos)		STT1 (mm/min)	
	OMG	G	OMG	G
T 0	17,64 +- 2,83	18,78 +- 1,75	17,42 +- 2,02	14,64 +- 3,38
T 5	11,14 +-1,74	10,85 +-1,67	10,00 +- 1,11	10,00 +- 1,29
T 10	11,00 +- 0,91	11,00 +- 0,95	10,5 +- 0,76	11,00 +- 1,52
T 15	12,00 +- 1,04	13,00 +- 0,95	11,00 +- 1,00	12,00 +- 1,00
T 30	13,07 +- 0,60	19,00 +- 0,95	12,00 +- 0,57	17,00 +- 1,00
T 45	13,00 +- 0,95	19,00 +- 0,76	14,00 +- 0,57	18,07 +- 1,17
T 60	15,07 +- 0,83	19,50 +- 0,86	15,00 +- 0,57	19,07 +- 1,17
T 90	18,07 +- 0,83	20 +- 0,57	16,5 +- 0,91	19,07 +-1,17

Quando comparados T0 e T5, os valores apresentados pelos testes reduziram drasticamente em todos os animais, caracterizando a instalação do quadro crítico de olho seco, sob os pontos de vista de qualidade (TRFL) e quantidade de lágrima (STT1). Estas alterações do filme lacrimal, provavelmente se instalaram por diferentes fatores: predisposição de raça e de idade; instalação de uma epitelopatia neurotrófica e conseqüente diminuição da sensibilidade corneana e da produção lacrimal reflexa (DEWS, 2007; FRIDMAN et al. 2004); processos inflamatórios decorrentes de suturas e efeitos colaterais da anestesia (DEWS, 2007; ALMEIDA, 2006; MILJANOVIC e al., 2005; GOMES, 2007).

A doença do olho seco é acompanhada por vários graus de inflamação da superfície ocular. Evidencia-se um ciclo vicioso: a inflamação contribui para o olho seco e o olho seco ocasiona respostas imuno-inflamatórias agravando a própria situação de olho seco (DEWS, 2007; ALMEIDA, 2006; MILJANOVIC e al., 2005).

É conhecido que a recuperação da epitelopatia neurotrófica induzida, em alguns casos, ocorre sem tratamento, em decorrência apenas da ação do sistema imune do próprio animal. Porém, isto pode levar meses de dor e desconforto e até problemas secundários maiores (WOUK, 2007). Por este fato, justifica-se a busca de tratamentos para este quadro que acelerem a recuperação e diminuam os efeitos secundários.

Vários tratamentos têm sido sugeridos para o olho seco, variando com a sua etiologia, gravidade e condições individuais de cada paciente conforme já foi apresentado na revisão de literatura. Neste estudo, escolheu-se a via nutricional por ser um novo paradigma terapêutico ainda pouco explorado na Medicina Veterinária.

Dentro do paradigma terapêutico pela via nutricional, o uso de ômega três e mais recentemente, de sua associação com outros elementos antioxidantes vem sendo discutido na comunidade científica, que têm observado sua eficácia no tratamento do olho seco tanto em humanos quanto em animais (MILJANOVIC et al., 2005; HODGE et al., 2006; ESCAMILLA, 2003). Porém, ainda não está determinada a melhor fonte do Omega três e possíveis associações com outros nutracêuticos. Por este motivo, justifica-se o interesse de avaliar tais tratamentos com mais detalhes e comparativamente no caso de olho seco causado por epitelopatia neurotrófica pós-facectomia em cães.

Neste estudo clínico foram testados, como tratamento, dois nutracêuticos existentes no mercado, um contendo apenas o ácido graxo ômega três e o outro contendo além do ômega três outros componentes como vitaminas e minerais. Ambos os tratamentos tiveram início a partir do quinto dia após o procedimento cirúrgico, momento em que se constatou a instalação da epitelopatia neurotrófica e do quadro de olho seco, conforme evidenciado pelos testes de qualidade e quantidade lacrimal. Os animais foram divididos ao acaso em dois grupos, um para cada tipo de tratamento. Ambos os tratamentos tiveram sessenta dias de duração.

Como já foi detalhado no tópico referente ao delineamento experimental, a diferença de tratamento entre os dois grupos ficou delimitada aos componentes das formulações, à origem e dosagem do Omega três.

Os dois grupos, quando comparados em T0 e T5 não apresentaram diferenças estatisticamente significantes, desenvolvendo de uma maneira homogênea o quadro de olho seco e apresentando resultados clínicos e estatísticos semelhantes até o início do tratamento de ambos os grupos no quinto dia pós-operatório.

Quando avaliadas as evoluções dos quadros clínicos dos animais durante o tratamento como um todo em ambos os grupos, observou-se clinicamente nos animais do grupo G uma melhora mais rápida em quase um terço do tempo levado pelo grupo OMG. Com o objetivo de testar se os tratamentos tiveram ou não efeitos significativos, buscaram-se algumas condições estatísticas para validar e tratar os dados coletados no período pesquisado. Estas análises confirmam o observado na clínica e estão anexadas (ANEXO II a XVI) a este trabalho.

Nas FIGURAS 6 e 7, são apresentadas as comparações entre as médias dos valores dos testes quantitativo e qualitativo (respectivamente) nos dois grupos de tratamento durante todo o período do experimento.

FIGURA 6 – GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO STT1 ENTRE OS GRUPOS NOS DIFERENTES PERÍODOS. CURITIBA, 2007

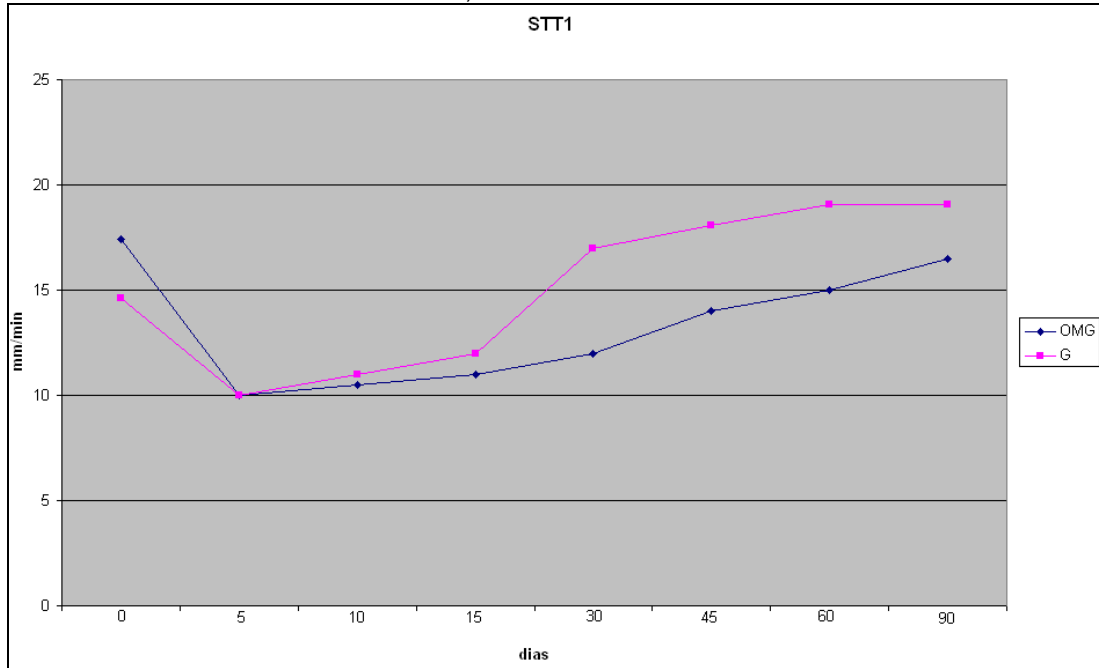
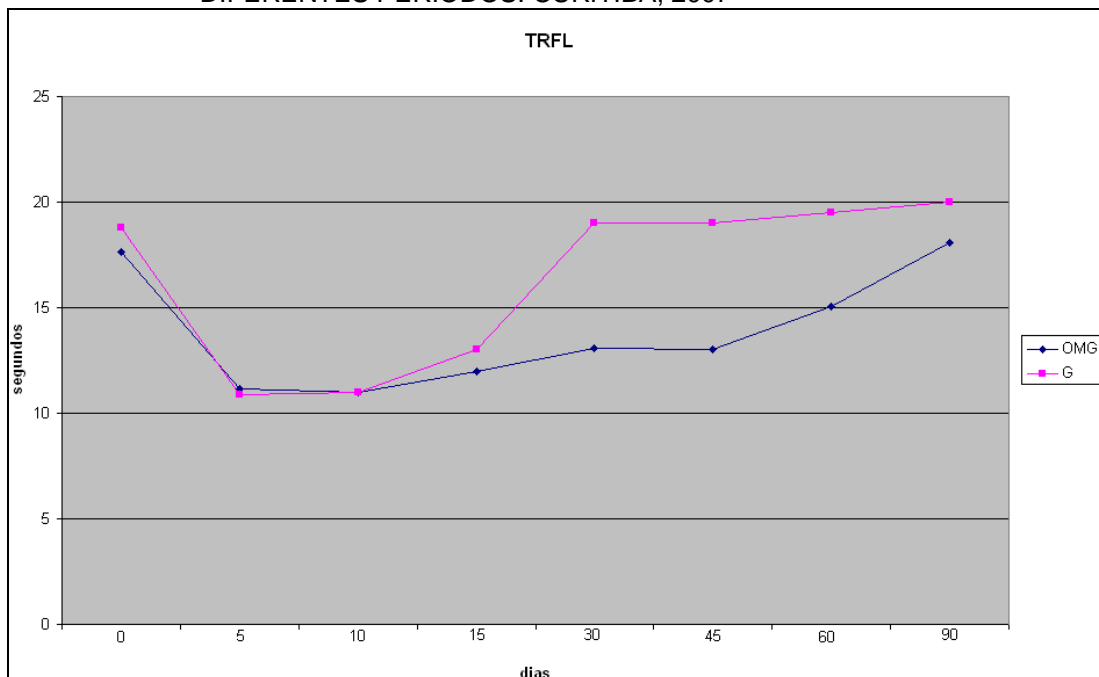


FIGURA 7 - GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO TRFL ENTRE OS GRUPOS NOS DIFERENTES PERÍODOS. CURITIBA, 2007



Pode-se observar nos gráficos que houve uma grande queda nos valores dos testes após a cirurgia quando comparados T0 e T5, evidenciando a instalação da epiteliopatia neurotrófica. Nos períodos posteriores (T10 a T90) observou-se um gradual aumento dos valores dos testes, sendo que ficam evidente as diferenças entre as curvas dos dois grupos, tanto para um teste quanto para outro, com os valores do grupo G sempre superiores e chegando com uma maior rapidez a normalidade da produção, estabilidade e qualidade do filme lacrimal.

Quando comparada a soma das médias de todos os valores dos grupos OMG e G entre T5 e T90 (ANEXO VI), as médias do grupo G se mostraram superiores sendo a diferença estatisticamente significativa tanto para o TRFL quanto para o STT1. Analisando os períodos avaliados separadamente, usando o teste T de Student com probabilidade de 99%, percebe-se que em T10 e T15 os grupos OMG e G respondem aos tratamentos de maneira bastante similar, o que pode ser notado tanto na observação dos gráficos das médias dos valores dos testes em cada grupo quanto na estatística em anexo (ANEXO VIII e IX).

A partir de T15 o tratamento atribuído ao grupo G se mostra mais efetivo tanto clínica quanto estatisticamente. A maior diferença, estatisticamente significativa, ocorre no período T30 (ANEXO X), ou seja, 25 dias após o início do tratamento. A partir de então todos os valores analisados tanto para TRFL quanto para STT1 são superiores no grupo G. Nos períodos T45, T60 e T90 (ANEXOS XI, XII E XIII respectivamente), o grupo G continua apresentando resultados de qualidade e quantidade de lágrima superiores, mas a significância estatística entre eles vai diminuindo.

O grupo OMG apresenta uma evolução do quadro mais lenta, embora constante, aproximando-se dos resultados do grupo G em T90 (ANEXOS XIV A XVII).

O grupo G apresenta um grande aumento nos valores dos testes entre T15 e T30 (10 a 25 dias de tratamento), quando então começa a estabilizar, não havendo diferença estatisticamente significativa para o STT1 quando comparados em T30 e T45 (ANEXO XVI). Isto também pode ser observado nas FIGURAS 6 e 7, onde a curva tende a se estabilizar a partir de T30, para ambos os testes, com mais destaque para o teste que avalia a produção lacrimal.

A literatura refere que 80% dos pacientes humanos com olho seco tratados com óleo de linhaça, uma outra fonte de ômega 3, têm a sua condição melhorada significativamente, dois meses após o início do tratamento (PINHEIRO Jr et al., 2007). Tal fato aqui se confirmou para o grupo que utilizou o tratamento a base de ômega três (grupo OMG).

No grupo que utilizou o Gerioox[®] (grupo G), uma grande melhora se deu entre 10 e 25 dias do uso do medicamento, com uma tendência a estabilidade e pequena evolução adicional ao longo do mês seguinte.

A associação do ômega três a outros nutracêuticos pode ter se mostrado mais efetiva devido aos efeitos antioxidativos e antiinflamatórios dos componentes (WOUK et al., 2006; GUS et al., 2006; CANGEMI, 2007) e também as interações deles entre si. Como exemplo destas interações pode-se citar o fato da vitamina E ter como uma de suas funções influenciar positivamente o metabolismo dos ácidos graxos ômega três (MEDEIROS & PAULINO, 1999). Isto pode justificar o fato de que uma formulação contendo uma dose menor de ômega três tenha promovido resultados superiores em menor tempo de tratamento.

Um outro aspecto importante a ser salientado é o fato de que no grupo G a qualidade da lágrima evidencia entre T10 e T15 uma evolução superior à evolução da quantidade da mesma. Este pode ser um fator relevante para estudos posteriores e pode estar associado aos componentes nutracêuticos da fórmula, principalmente os antioxidantes contidos no Gerioox[®], pois sabe-se que estes auxiliam na resposta inflamatória, na cicatrização corneana e mantêm a estabilidade do filme lacrimal (GUS et al., 2006).

Partindo-se do objetivo desta pesquisa de se estudar nutracêuticos como alternativas para o tratamento do olho seco secundário a técnica cirúrgica de facectomia, constatou-se que apesar de haver superioridade em uma das formulações utilizadas, ambas apresentaram eficácia e melhores resultados quando comparadas à evolução do quadro sem o uso de ácidos graxos ômega três.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos dados obtidos nesta pesquisa, afirmamos que a terapia de suplementação de ácidos graxos essenciais (ômega 3 de óleo de peixe) assim como de outros nutracêuticos em associação, como é o caso do Gerioox[®], é benéfica à recuperação do olho seco pós-cirúrgico em cães quando comparadas as observações da experiência clínica anterior a pesquisa em que os mesmos não foram utilizados.

No presente estudo uma forma terapêutica (Gerioox[®]) contendo uma dose menor de ômega 3 do que a outra fórmula testada (óleo de peixe), mas possuindo adicionalmente moléculas antioxidantes, revelou resultados superiores de STT1 e de TRFL durante o pós-operatório (particularmente no período de 30 a 45 dias). Sendo assim, cabe uma investigação mais detalhada dos componentes desta formulação em particular e seus benefícios e efeitos colaterais a longo prazo quando utilizado como tratamento para o quadro clínico de olho seco em cães.

Como metabolicamente podem haver respostas diferenciadas às diferentes fontes de ômega 3 estas devem ser pesquisadas mais detalhadamente, a fim de apontar eventuais diferenças, assim como o estabelecimento da dosagem ideal e dos eventuais efeitos colaterais em tempos de estudo mais estendidos.

Conclui-se que outros estudos formais serão necessários para definitivamente determinar as implicações terapêuticas da suplementação de ômega três e outros nutracêuticos, particularmente àquelas que favorecem a córnea e o filme lacrimal.

6 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D.E.; Expressão Gênica De Citocinas E Histopatologia Da Conjuntiva Bulbar De Cães Acometidos Por Ceratoconjuntivite Seca Decorrente De Cinomose. **Tese De Doutorado Em Cirurgia Veterinária. Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP**, Jabotical – SP. 2006.

ALVES FILHO, M. Médico Desenvolve Colírio Para A Síndrome Do Olho Seco. **Jornal Da UNICAMP – Universidade Estadual De Campinas**, 2004. Disponível Na Internet Em: http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/jornalPDF/ju254pag04.pdf Acessado em 06/09/2007.

BREWITT, H.; SISTANI, F. Dry Eye Disease: The Scale Of Problem. **Survey Of Ophthalmology**, v.45, s.2, p. 199-202, 2001.

BRIGNOLE, F.; PISELLA, P.J.; GOLDSCHILD, M.; SANT JEAN, M.de; GOGUEL, A.; BAUNDOUIN, C. Flow Cytometric Analysis Of Inflammatory Markers In Conjunctival Epithelial Cells Of Patients With Dry Eye. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.41, n.6, p. 1356-1363, 2000.

CABRAL, V.P.; LAUS, J.L.; DAGLI, M.L.Z.; PEREIRA, G.T.; TALIERI, I.C.; MONTEIRO, E.R.; MAMEDE, F.V. Canine Lacrimal And Third Eyelid Superficial Glands Macroscopic And Morphometric Characteristics. **Ciência Rural**. V.35, n.2, 2005.

CALDER, P.C. n-3 Fatty Acids, Inflammation, And Immunity - Relevance To Post surgical And Critically Ill Patients. **Lipids**. v. 39, p. 1147-61, 2004.

CANGEMI, F.E. TOZAL Study: An Open Case Control Study Of An Oral Antioxidante And Omega-3 Supplement For Dry AMD. **BMC Ophthalmology**, v.7, n.3, 2007.

CREDIE, M.G.; NISHIWAKI-DANTAS, M.C.; FELBERG, S.; AMORIM, F.; DANTAS, P.E.C.; Alterações Qualitativas do Filme Lacrimal Após Cirurgia Refrativa: Estudo

Comparativo Entre PRK e LASIK. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v.70, n.1, p. 23-30, 2007.

CULLEN, C.L.; LIM, C.; SYKEST, J.T. Tear Film Break Up Times In Young Healthy Cats Before And After Anesthesia. **Veterinary Ophthalmology**, n.8, v.3, p. 159-165, 2005.

DAVIDSON, H.J.; KUONEN, V.J. The Tear Film And Ocular Mucins (Review). **Veterinary Ophthalmology**, v.7, n. 2, p. 71-7, 2004.

ESCAMILLA, N.E.R. Omega 3 Y Su Acción Terapéutica Em El Síndrome De Ojo Seco. *Ciência Y Tecnología Para La Salud Visual Y Ocular*, v.1, n.1, p. 91-8, 2003.

ESMAELI, B.; HARVEY, J.T.; HEWLETT, B. Immunohistochemical Evidence For Estrogen Receptors In Meibomian Glands; **Ophthalmology**, v.107, n. 1, p. 180-4, 2001.

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

FOSTER, C.S. **Fibronectin**. Massachusetts Eye & Ear Infirmary Immunology Service. Capturado Em 12 De Março De 2007. Online. Disponível Na Internet <http://www.uveitis.org/medical/lab/fibro.html>

FRIDMAN, D.; FREITAG, M.M.; KLEINERT, F.; LAVINSKY, J. Olho Seco: Conceitos, História Natural E Classificações. **Arquivos Brasileiros De Oftalmologia**. V. 67, n. 1, 2004.

GERIOOX. Carlos D. Corrales. Buenos Aires: LABYES, Laboratório De Especialidades Veterinárias Em Pequenos Animais, 2005. Bula

GILGER, B.C.; ALLEN, J.B. Cyclosporine A In Veterinary Ophthalmology. **Veterinary Ophthalmology**. V.1, 181-7, 1998.

GOMES, J.A.P. Atualização No Tratamento Das Ceratoconjuntivites Cicatriciais. Capturado Em 14 De Agosto De 2007. Online. Disponível Na Internet em: <http://www.abonet.com.br/abo/atcont11.html>

GUM, G.G. Physiology Of The Eye. In: GELLAT, K.N. **Veterinary Ophthalmology**. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger. 1991. p. 124-161.

GUS, P.I.; BELLÓ-KLEIN, A.; LLESUY, S.; QUINTO, G.G.; MATOS, G.H.; BECHARA, S.J. Potencial Antioxidativo Da Lágrima De Adultos Jovens. **Arquivos Brasileiros De Oftalmologia**, v. 69, n. 4, p. 565-70, 2006.

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**, v 9, n 1, p. 53-57, 2006.

HIDA, R.Y.; NISHIWAKI-DANTAS, M.C.; HIDA, M.M.; TSUBOTA, K.; Estudo Quantitativo Da Lágrima Pelo Teste De Fenol Vermelho Na População Brasileira. **Arquivos Brasileiros De Oftalmologia**, v. 68, n. 4, p. 433-7,

HODGE, W.G.; SCHACHTER, H.M.; BARNES, D.; PAN, Y.; LOWCOCK, E.C.; ZHANG, L.; SAMPSON, M.; MORRISON, A.; TRAN, K.; MIGUELEZ, M. LEWIN, G. Efficacy Of W-3 Fatty Acids In Preventing Age-Related Macular Degeneration – A Systematic Review. **Ophthalmology**, v. 113, n. 7, 2006.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Órgãos dos Sentidos. In: _____. **Histologia Básica**. 9^a ed. Rio de Janeiro – RJ: Editora Guanabara Koogan S.A., 1999, p.389-413.

KOEHLER, H.S. Manual Simplificado Do Uso Do Programa MSTATC Curitiba. UFPR/SCA. Departamento de Fitotecnia e Fissanitarismo. 38P. 1996.

MARTIN, C.A.; ALMEIDA, V.V.; RUIZ, M.R.; VISENTAINER, J.E.L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V. Ácidos Graxos Poliinsaturados Ômega-3 E Ômega-6: Importância E Ocorrência Em Alimentos. **Revista de Nutrição**. v. 19, n.6, 2006.

McCULLEY, J.P.; UCHIYAMA, E.; ARONOWICZ, J.D.; BUTOVICH, I.A. Impact Of Evaporation On Aqueous Tear Loss. **Transaction Of The American Ophthalmological Society**, v. 104, 2006.

MEDEIROS, R.M.T.de; PAULINO, C.A. Vitaminas. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIAC, S.L.; BERNARDI, M.M. Vitaminas. **Farmacologia Aplicada À Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro – RJ. Editora Guanabara Koogan, 1999. p. 540-554

MILJANOVIC, B.; TRIVEDI, K.A.; DANA, M.R.; GILBARD, J.P.; BURING, J.E.; SCHAUMBERG, D.A. The Relationship Between Dietary N-3 And N-6 Fatty Acids And Clinically Diagnosed Dry Eye Syndrome In Women. **American Journal Of Clinical Nutrition**. n.82, v.4, p.887-93, 2005.

MULLER, G. Comparação De Dois Tratamentos Tópicos Na Cicatrização De Úlceras Corneanas Produzidas E Infectadas Experimentalmente Por Pseudomonas Aeruginosas Em Coelho. Curitiba, 2004. 84f. **Dissertação Na Área De Patologia Veterinária**. Pós-Graduação Em Ciências Veterinárias. Setor De Ciências Agrárias. Universidade Federal D Paraná.

OLLIVIER, F.J.; GILGER, B.C.; BARRIE, K.P.; KALLBERG, M.E.; PLUMMER, C.E.; O'REILLY, S.O.; GELLAT, K.; BROOKS, D.E. Proteinases Of The Córnea And Preocular Tear Film (Invited Review). **Veterinary Ophthalmology**. N. 10, v. 4, p. 199-206, 2007.

ORTOLANI, E. L. Macro- e Microelementos. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIAC, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada À Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro – RJ. Editora Guanabara Koogan, 1999. p. 554-565

PIGATTO, J.A.T.; PEREIRA, F.Q.; ALMEIDA, A.C.V.R.; REDAELI, R.; FAGANELLO, C.S.; FRAZEN, A.A. Ceratoconjuntivite Seca Em Cães E Gatos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, s. 2, p.250-1, 2007.

PINHEIRO Jr, M.N.; SANTOS, P.C.dos; SANTOS, R.C.R.dos; BARROS, J.N.; PASSOS, L.F.; NETO, J.C. Uso Oral Do Óleo De Linhaça (*Linum Usitatissimum*) No Tratamento Do Olho Seco De Pacientes Portadores Da Síndrome De Sjogren. **Arquivos Brasileiros de oftalmologia**, n.70, v.4, p. 649-55, 2007.

ROBERTS, C.W.; ELLIE, E.R. Dry Eye Symptoms Following Cataract Surgery. **The Journal Of The American Society Of Ophthalmic Registered Nurses**. V.32, n. 1, p.14-23, 2007.

SAAD filho, R.; SAAD, F.G.L.; FREITAS, L.L. Custo Da Facoemulsificação No Projeto Catarata Em Itápolis, SP. **Arquivos Brasileiros De Oftalmologia**, n. 68, v. 1, p. 55-9, 2005.

SAITO, A.; KOTANI, T. Estimation Of Lacrimal Level And Testing Methods On Normal Beagles. **Veterinary Ophthalmology**, n.4, p. 7-11, 2001.

SAMUELSON, D.A.; Ophthalmic Embryology And Anatomy. In: GELATT, K.N. **Veterinary Ophtalmology**. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger. 1991. p.3-123.

SCHIFFMAN, R.M.; WALT, J.G.; JACOBSEN, G.; DOYLE, J.J.; LEOVICS, G.; SUMMER, W. Utility Assessment Among Patients With Dry Eye Disease. **Ophthalmology**. V.110, n.7, p.1412-9, 2003.

SLATTER, D. Córnea E Esclera. In: _____. **Fundamentos De Oftalmologia Veterinária**. 3^a ed. São Paulo: Roca, 2005, p.283-338.

SOARES, E.J.C.; FRANÇA, V.P.; Transplante De Glândulas Salivares Labiais No Tratamento Do Olho Seco Grave. **Arquivos Brasileiros De Oftalmologia**, v. 69, n. 4, p. 481-9, 2005.

SPENCER, W.H. Cornea. In: _____. **Ophthalmic Pathology and Atlas Textbook**. 4th ed. Philadelphia: Saunders. 1996. p. 157-333, v1

SUÁREZ-MAHECHA, H.; FRANCISCO, A.de; BEIRÃO, L.H.; BLOCK, J.M.; SACCOL, A.; PARDO-CARRASCO, S. Importância De Ácidos Graxos Poliinsaturados Presentes Em Peixes De Cultivo E De Ambiente Natural Para A Nutrição Humana. **Boletim Do Instituto De Pesca**, São Paulo, v.28, n.1, p.101-110, 2002.

THE AMERICAN SPANIEL CLUB INC. Health News – **Guidelines for breeding and Purchasing Cocker Spaniels**. Disponível na internet em: <http://www.asc-cockerspaniel.org/health/news05.asp> acessado em 05/12/2007.

WILSON, S.E. Laser In Situ Keratomeliosis-Induced (Presumed) Neurotrophic Epitheliopathy. **Ophthalmology**, v. 108, n. 6, p. 1082-7, 2001.

WILSON, S.E.; PERRY, H.D. Long-Term Resolution Of Chronic Dry Eye Symptoms And Signs After Topical Cyclosporine Treatment. **Ophthalmology**. V.114, n.1, p.76-9, 2007.

WOUK, A.F.P.F. **Comunicação pessoal concedida pelo Professor Doutor Titular e Livre-Docente da Universidade Federal do Paraná**. Curitiba, 18 set. 2007.

WOUK, A.F.P.F.; ZULIAN, I. MULLER, G.; SOUZA, A.L.G.de; Ação Do Sulfato De Condroitina “A” Associado A Ciprofloxacina Em Úlceras De Córnea De Cavalos. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias E Ambientais**. V.4, n.4, p. 11-20, 2006.

8 ANEXOS.

GERIOOX Antioxidante
Condrotector
Omega 3

GERIATRICO
Destinado a caninos y felinos

Fórmula:

Cada comprimido contiene:

Aceite con alto contenido de ácidos grasos omega 3 (de lino, pescado, borraja o rosa de primavera)	0,200 ml
D. Glucosamina	0,140 g
Condroitín Sulfato "A"	0,150 g
Gluconato de cobre	0,003 g
Gluconato de zinc	0,020 g
Selenito de sodio	0,005 mg
Vitamina E	0,050 g
Excipientes c.s.p.	1,800 g

Acción terapéutica:

El **Zinc**, el **Cobre**, la **Vitamina E** y el **Selenio** son antioxidantes por excelencia que actúan eliminando los radicales libres, producto natural del metabolismo celular, que de no ser eliminados van dañando las células lo que acelera el envejecimiento del organismo.

El **Condroitín Sulfato "A"** se localiza en el cartilago articular y en la córnea formando una matriz. Son estructuras con alta carga aniónica y elevado peso molecular; característica que les confiere capacidad de retener agua otorgando al tejido:

Mejor elasticidad y permitiendo la llegada de nutrientes y la eliminación de residuos provenientes del metabolismo celular.

Posee además propiedades antiinflamatorias al inhibir las PGE2.

Las fibras colágenas y elásticas están entrelazadas y "contenidas" en esta matriz amorfa, tomando en conjunto una consistencia muy firme pero maleable.

El cartilago no posee inervación ni irrigación directa (es avascular). Su nutrición se realiza por difusión. Los nutrientes difunden de los vasos situados en el pericondrio a través del agua de la matriz para alimentar a las células que son las responsables de: 1) aportar glicosaminoglicanos; 2) remover y sustituir a las fibras.

Otra acción del Condroitín Sulfato "A" es mejorar la microcirculación arterial.

GERIOOX aporta y sustituye el Condroitín Sulfato "A" ya que los individuos gerontes van perdiendo la capacidad de sintetizarlo con la edad.

La **Glucosamina** estimula la formación de ácido hialurónico, principal componente del líquido sinovial articular.

Como consecuencia de ello, progresivamente los pacientes experimentan alivio en su sintomatología (efecto analgésico antiinflamatorio).

Aumenta el metabolismo del hueso y cartilago favoreciendo en el geronte un normal depósito de calcio en el hueso y ayuda a regenerar los procesos degenerativos articulares como ocurre en la osteoartritis.

La glucosamina es empleada en procesos avanzados de osteoporosis.

Los **ácidos grasos poliinsaturados (Omega 3)** colaboran en los animales gerontes en la disminución de los procesos degenerativos e inflamatorios crónicos de la piel, mejorando significativamente el pelaje del animal.

La ingestión de ácidos grasos Omega 3 en animales gerontes reduce la incidencia de enfermedades crónicas degenerativas como colitis, artritis y carcinogénesis, y mejoran la elasticidad de las arterias evitando la formación de ateromas.

La incorporación de ácidos grasos Omega 3 tiene beneficios preventivos y terapéuticos

Sigue al dorso 

USO VETERINARIO
INDUSTRIA ARGENTINA

 **LABYES**
ESPECIALIDADES VETERINARIAS

para ciertas condiciones inflamatorias.

Los ácidos grasos Omega 3 se encuentran en altas concentraciones en los aceites marinos y ciertos aceites vegetales como el de lino. La terminología de ácidos grasos no saturados está determinada por el número y ubicación de la doble ligadura. Los animales son incapaces de sintetizar los ácidos grasos n-3 o convertir un ácido graso en otro.

INDICACIONES:

Geriatrico. Indicado para mejorar el estado general de animales de elevada edad.

Por su contenido de ácidos grasos Omega 3 está indicado para mejorar la piel y el pelo en animales gerontes.

Detiene los procesos catabólicos propios del envejecimiento mejorando la actitud del animal, otorgándole una mejor calidad de vida.

Especialmente indicado para proteger las articulaciones de su desgaste natural y para adyugar en la medicación de casos específicos como:

Osteoporosis. Artrosis primaria o secundaria (artropatías degenerativas). Coxartrosis por displasia. Espondiloartrosis. Condrotorrección (uso prolongado de corticoides sistémicos). Mejora la hidrofiliia y la viscosidad del cartilago. Antioxidante.

ORIENTACION POSOLOGICA:

GERIOOX es para ser administrado a perros y gatos.

La dosis recomendada para perros de menos de 25 kilos y gatos, es de un comprimido por día (1/2 comprimido a la mañana y 1/2 comprimido por la tarde).

La dosis para perros de más de 25 kilos de peso, es de dos comprimidos por día (uno por la mañana y otro por la tarde).

La duración del tratamiento será de 60 días, pudiendo prolongarse de por vida, según la indicación del profesional actuante.

ADVERTENCIA Y CONTRAINDICACIONES:

La medicación no tiene calmantes ni analgésicos, es por ello una medicación natural y de ahí su ausencia de intolerancia.

No administrar en pacientes alérgicos o sensibles a los componentes de la fórmula.

PRESENTACION:

Estuches que contienen 20 y 120 comprimidos.

Conservar entre 5° y 25°C.


VENTA LIBRE (En establecimientos con asesoramiento profesional veterinario).

Mantener fuera del alcance de los niños y de los animales domésticos.

Centro de atención de referencia:

Centro Nacional de Intoxicaciones. Tel: 0800-333-0160

 SENASA Certificado N° 02-159

 Establecimiento elaborador N° 6804

Comercializado en: Uruguay y Paraguay.

Distribuido en Chile por: CHEMIE S.A. Av. El Totoral 601-A,

Parque Industrial Buenaventura, Quilicura, Santiago de Chile.

Fono 7386525 - Fax 7386524 S.A.G.:

En Perú: SENASA Registro N° A.03.03.I.0143

En Venezuela, Importado y distribuido por: Servicios Clínicos Alianza C.A.

MPC-SASA N° M.I.

Asesor Técnico: Nerina Alliegro Morales

LABYES S.A.

Especialidades Veterinarias

Abel Costa 833 (B1708JIO) Morón - Pcia. de Buenos Aires, Argentina

Director Técnico: Dr. Carlos D. Corrales - Médico Veterinario - Mat. Prof. N° 3015

USO VETERINARIO
INDUSTRIA ARGENTINA

 **LABYES**
ESPECIALIDADES VETERINARIAS

ANEXO III – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA OS VALORES DO TRFL

Análise estatística do experimento fatorial 2x7 com 7 repetições delineado inteiramente casualizado, usando o teste de Tukey para comparação de médias.

Data file: CATAR

Title: Experimento fatorial 2x7 com 7rep

Function: FACTOR

Experiment Model Number 1: Two Factor Completely Randomized Design

Data case no. 1 to 98.

Factorial ANOVA for the factors:

Replication (Var 2: rep) with values from 1 to 7

Factor A (Var 3: fata) with values from 1 to 2

Factor B (Var 4: fatb) with values from 1 to 7

Variable 5: But

Grand Mean = 14.694 Grand Sum = 1440.000 Total Count = 98

T A B L E O F M E A N S					
2	3	4	5	Total	

*	1	*	13.337	653.500	
*	2	*	16.051	786.500	

*	*	1	11.000	154.000	
*	*	2	11.000	154.000	
*	*	3	12.500	175.000	
*	*	4	16.036	224.500	
*	*	5	16.000	224.000	
*	*	6	17.286	242.000	
*	*	7	19.036	266.500	

*	1	1	11.143	78.000	
*	1	2	11.000	77.000	
*	1	3	12.000	84.000	
*	1	4	13.071	91.500	
*	1	5	13.000	91.000	
*	1	6	15.071	105.500	
*	1	7	18.071	126.500	
*	2	1	10.857	76.000	
*	2	2	11.000	77.000	
*	2	3	13.000	91.000	
*	2	4	19.000	133.000	
*	2	5	19.000	133.000	
*	2	6	19.500	136.500	
*	2	7	20.000	140.000	

A N A L Y S I S O F V A R I A N C E T A B L E						
K	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob

2	Factor A	1	180.500	180.500	169.6787	0.0000
4	Factor B	6	856.495	142.749	134.1910	0.0000
6	AB	6	153.964	25.661	24.1223	0.0000
-7	Error	84	89.357	1.064		

	Total	97	1280.316			

Coefficient of Variation: 7.02%

s_y for means group 2: 0.1473 Number of Observations: 49

s_y for means group 4: 0.2757 Number of Observations: 14

s_y for means group 6: 0.3898 Number of Observations: 7

s_y

ANEXO IV – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA OS VALORES DO STT1

Variable 6: STT1

Grand Mean = 13.944 Grand Sum = 1366.500 Total Count = 98

T A B L E O F M E A N S				
2	3	4	6	Total
*	1	*	12.714	623.000
*	2	*	15.173	743.500
*	*	1	10.000	140.000
*	*	2	10.750	150.500
*	*	3	11.500	161.000
*	*	4	14.500	203.000
*	*	5	16.036	224.500
*	*	6	17.036	238.500
*	*	7	17.786	249.000
*	1	1	10.000	70.000
*	1	2	10.500	73.500
*	1	3	11.000	77.000
*	1	4	12.000	84.000
*	1	5	14.000	98.000
*	1	6	15.000	105.000
*	1	7	16.500	115.500
*	2	1	10.000	70.000
*	2	2	11.000	77.000
*	2	3	12.000	84.000
*	2	4	17.000	119.000
*	2	5	18.071	126.500
*	2	6	19.071	133.500
*	2	7	19.071	133.500

A N A L Y S I S O F V A R I A N C E T A B L E						
K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	1	148.166	148.166	140.4053	0.0000
4	Factor B	6	850.245	141.707	134.2853	0.0000
6	AB	6	82.888	13.815	13.0911	0.0000
-7	Error	84	88.643	1.055		
Total		97	1169.941			

Coefficient of Variation: 7.37%

s_Y for means group 2: 0.1468 Number of Observations: 49
s_Y for means group 4: 0.2745 Number of Observations: 14
s_Y for means group 6: 0.3883 Number of Observations: 7

ANEXO V – TESTE DE TUKEY PARA COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS

Teste de Tukey para comparações de médias a nível de 99% de probabilidade
 Title : Experimento fatorial 2x7 com 7rep

Case Range : 103 - 109 **Variable 5 : But** Function : RANGE
 Error Mean Square = 1.064 Error Degrees of Freedom = 84
 No. of observations to calculate a mean = 7
 Tukey's Honestly Significant Difference Test $s_x = 0.3899$ at alpha = 0.010

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	11.00	C	Mean	7 =	19.04	A
Mean	2 =	11.00	C	Mean	6 =	17.29	AB
Mean	3 =	12.50	C	Mean	4 =	16.04	B
Mean	4 =	16.04	B	Mean	5 =	16.00	B
Mean	5 =	16.00	B	Mean	3 =	12.50	C
Mean	6 =	17.29	AB	Mean	2 =	11.00	C
Mean	7 =	19.04	A	Mean	1 =	11.00	C

Case Range : 103 - 109 **Variable 6 : STT1** Function : RANGE
 Error Mean Square = 1.055 Error Degrees of Freedom = 84
 No. of observations to calculate a mean = 7
 Tukey's Honestly Significant Difference Test $s_x = 0.3882$ at alpha = 0.010

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	10.00	C	Mean	7 =	17.79	A
Mean	2 =	10.75	C	Mean	6 =	17.04	A
Mean	3 =	11.50	C	Mean	5 =	16.04	AB
Mean	4 =	14.50	B	Mean	4 =	14.50	B
Mean	5 =	16.04	AB	Mean	3 =	11.50	C
Mean	6 =	17.04	A	Mean	2 =	10.75	C
Mean	7 =	17.79	A	Mean	1 =	10.00	C

Case Range : 112 - 118 **Variable 5 : But** Function : RANGE
 Error Mean Square = 1.064 Error Degrees of Freedom = 84
 No. of observations to calculate a mean = 7
 Tukey's Honestly Significant Difference Test $s_x = 0.3899$ at alpha = 0.010

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	11.14	CD	Mean	7 =	18.07	A
Mean	2 =	11.00	D	Mean	6 =	15.07	B
Mean	3 =	12.00	CD	Mean	4 =	13.07	C
Mean	4 =	13.07	C	Mean	5 =	13.00	C
Mean	5 =	13.00	C	Mean	3 =	12.00	CD
Mean	6 =	15.07	B	Mean	1 =	11.14	CD
Mean	7 =	18.07	A	Mean	2 =	11.00	D

Case Range : 119 - 125 **Variable 5 : But** Function : RANGE
 Error Mean Square = 1.064 Error Degrees of Freedom = 84
 No. of observations to calculate a mean = 7
 Tukey's Honestly Significant Difference Test $s_{\bar{x}} = 0.3899$ at alpha = 0.010

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	10.86	C	Mean	7 =	20.00	A
Mean	2 =	11.00	C	Mean	6 =	19.50	A
Mean	3 =	13.00	B	Mean	5 =	19.00	A
Mean	4 =	19.00	A	Mean	4 =	19.00	A
Mean	5 =	19.00	A	Mean	3 =	13.00	B
Mean	6 =	19.50	A	Mean	2 =	11.00	C
Mean	7 =	20.00	A	Mean	1 =	10.86	C

Case Range : 112 - 118 **Variable 6 : STT1** Function : RANGE
 Error Mean Square = 1.055 Error Degrees of Freedom = 84
 No. of observations to calculate a mean = 7
 Tukey's Honestly Significant Difference Test $s_{\bar{x}} = 0.3882$ at alpha = 0.010

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	10.00	D	Mean	7 =	16.50	A
Mean	2 =	10.50	CD	Mean	6 =	15.00	AB
Mean	3 =	11.00	CD	Mean	5 =	14.00	B
Mean	4 =	12.00	C	Mean	4 =	12.00	C
Mean	5 =	14.00	B	Mean	3 =	11.00	CD
Mean	6 =	15.00	AB	Mean	2 =	10.50	CD
Mean	7 =	16.50	A	Mean	1 =	10.00	D

Case Range : 119 - 125 **Variable 6 : STT1** Function : RANGE
 Error Mean Square = 1.055 Error Degrees of Freedom = 84
 No. of observations to calculate a mean = 7
 Tukey's Honestly Significant Difference Test $s_{\bar{x}} = 0.3882$ at alpha = 0.010

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	10.00	D	Mean	7 =	19.07	A
Mean	2 =	11.00	CD	Mean	6 =	19.07	A
Mean	3 =	12.00	C	Mean	5 =	18.07	AB
Mean	4 =	17.00	B	Mean	4 =	17.00	B
Mean	5 =	18.07	AB	Mean	3 =	12.00	C
Mean	6 =	19.07	A	Mean	2 =	11.00	CD
Mean	7 =	19.07	A	Mean	1 =	10.00	D

ANEXO VI - Comparação entre as médias gerais de T5 a T90 dos dois tratamentos (OMG e G) pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade).

T-TEST PARA O BUT

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
Variable 5 : But		Variable 5 : But	
Cases 1 through 49 (OMG)		Cases 50 through 98 (G)	
Mean:	13.34	Mean:	16.05
Variance:	6.45	Variance:	16.46
Standard Deviation:	2.54	Standard Deviation:	4.06
F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"			
F Value:	2.5513		
Numerator degrees of freedom:	48		
Denominator degrees of freedom:	48		
Probability:	0.0015		
Result:	Significant F - Reject the Hypothesis		
T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"			
Variance of the difference between the means:		0.4676	
Standard Deviation of the difference:		0.6838	
t' Value:		-3.9693	
Effective degrees of freedom:		80	
Probability of t':		0.0001	
Result:	Significant t - Reject the Hypothesis		
Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):	2.714 plus or minus 1.804 (0.910 through 4.519)		

T-TEST PARA O STT1

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
Variable 6 : STT1		Variable 6 : STT1	
Cases 1 through 49 (OMG)		Cases 50 through 98 (G)	
Mean:	12.71	Mean:	15.17
Variance:	5.97	Variance:	15.32
Standard Deviation:	2.44	Standard Deviation:	3.91
F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"			
F Value:	2.5664		
Numerator degrees of freedom:	48		
Denominator degrees of freedom:	48		
Probability:	0.0014		
Result:	Significant F - Reject the Hypothesis		
T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"			
Variance of the difference between the means:		0.4344	
Standard Deviation of the difference:		0.6591	
t' Value:		-3.7311	
Effective degrees of freedom:		80	
Probability of t':		0.0003	
Result:	Significant t - Reject the Hypothesis		
Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):	2.459 plus or minus 1.739 (0.720 through 4.198)		

ANEXO VII - Comparação entre as médias de T5 dos dois tratamentos (OMG e G) pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade.

T-TEST PARA BUT (Comparação entre 5 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 5 : But		Variable 5 : But	
Cases 1 through 7		Cases 50 through 56	
Mean:	11.14	Mean:	10.86
Variance:	3.06	Variance:	2.81
Standard Deviation:	1.75	Standard Deviation:	1.68

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	1.0890
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.9202

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared:	2.9345
Variance of the difference between the means:	0.8384
Standard Deviation of the difference:	0.9157
t Value:	0.3120
Degrees of freedom:	12
Probability of t:	0.7604

Result: Non-Significant t - Accept the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 0.286 plus or minus 2.797 (-2.511 through 3.083)

T-TEST PARA STT1 (Comparação entre 5 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 6 : STT1		Variable 6 : STT1	
Cases 1 through 7		Cases 50 through 56	
Mean:	10.00	Mean:	10.00
Variance:	1.25	Variance:	1.67
Standard Deviation:	1.12	Standard Deviation:	1.29

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	1.3333
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.7358

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared:	1.4583
Variance of the difference between the means:	0.4167
Standard Deviation of the difference:	0.6455
t Value:	0.0000
Degrees of freedom:	12
Probability of t:	1.0000

Result: Non-Significant t - Accept the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 0.000 plus or minus 1.972 (-1.972 through 1.972)

ANEXO VIII - Comparação entre as médias de T10 dos dois tratamentos (OMG e G) pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade.

T-TEST PARA BUT (Comparação entre 10 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 5 : But		Variable 5 : But	
Cases 8 through 14		Cases 57 through 63	
Mean:	11.00	Mean:	11.00
Variance:	0.83	Variance:	0.92
Standard Deviation:	0.91	Standard Deviation:	0.96

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	1.1000
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.9108

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared:	0.8750
Variance of the difference between the means:	0.2500
Standard Deviation of the difference:	0.5000
t Value:	0.0000
Degrees of freedom:	12
Probability of t:	1.0000

Result: Non-Significant t - Accept the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 0.000 plus or minus 1.527 (-1.527 through 1.527)

T-TEST PARA STT1 (Comparação entre 10 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 6 : STT1		Variable 6 : STT1	
Cases 8 through 14		Cases 57 through 63	
Mean:	10.50	Mean:	11.00
Variance:	0.58	Variance:	2.33
Standard Deviation:	0.76	Standard Deviation:	1.53

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	4.0000
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.1158

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared:	1.4583
Variance of the difference between the means:	0.4167
Standard Deviation of the difference:	0.6455
t Value:	-0.7746
Degrees of freedom:	12
Probability of t:	0.4536

Result: Non-Significant t - Accept the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 0.500 plus or minus 1.972 (-1.472 through 2.472)

ANEXO IX - Comparação entre as médias de T15 dos dois tratamentos (OMG e G) pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade).

T-TEST PARA BUT (Comparação entre 15 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 5 : But		Variable 5 : But	
Cases 15 through 21		Cases 64 through 70	
Mean:	12.00	Mean:	13.00
Variance:	1.08	Variance:	0.92
Standard Deviation:	1.04	Standard Deviation:	0.96

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value: 1.1818
Numerator degrees of freedom: 6
Denominator degrees of freedom: 6
Probability: 0.8445
Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared: 1.0000
Variance of the difference between the means: 0.2857
Standard Deviation of the difference: 0.5345
t Value: -1.8708
Degrees of freedom: 12
Probability of t: 0.0859
Result: Non-Significant t - Accept the Hypothesis
Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
1.000 plus or minus 1.633 (-0.633 through 2.633)

T-TEST PARA STT1 (Comparação entre 15 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 6 : STT1		Variable 6 : STT1	
Cases 15 through 21		Cases 64 through 70	
Mean:	11.00	Mean:	12.00
Variance:	1.00	Variance:	1.00
Standard Deviation:	1.00	Standard Deviation:	1.00

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value: 1.0000
Numerator degrees of freedom: 6
Denominator degrees of freedom: 6
Probability: 1.0000
Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared: 1.0000
Variance of the difference between the means: 0.2857
Standard Deviation of the difference: 0.5345
t Value: -1.8708
Degrees of freedom: 12
Probability of t: 0.0859
Result: Non-Significant t - Accept the Hypothesis
Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
1.000 plus or minus 1.633 (-0.633 through 2.633)

ANEXO X - Comparação entre as médias de T30 dos dois tratamentos (OMG e G) pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade).

T-TEST PARA BUT (Comparação entre 30 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 5 : But		Variable 5 : But	
Cases 22 through 28		Cases 71 through 77	
Mean:	13.07	Mean:	19.00
Variance:	0.37	Variance:	0.92
Standard Deviation:	0.61	Standard Deviation:	0.96
F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"			

F Value:	2.4839		
Numerator degrees of freedom:	6		
Denominator degrees of freedom:	6		
Probability:	0.2927		
Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis			
T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"			

Pooled s squared:		0.6429	
Variance of the difference between the means:		0.1837	
Standard Deviation of the difference:		0.4286	
t Value:		-13.8333	
Degrees of freedom:		12	
Probability of t:		0.0000	
Result: Significant t - Reject the Hypothesis			
Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):			
	5.929 plus or minus 1.309	(4.619 through 7.238)	

T-TEST PARA STT1 (Comparação entre 30 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 6 : STT1		Variable 6 : STT1	
Cases 22 through 28		Cases 71 through 77	
Mean:	12.00	Mean:	17.00
Variance:	0.33	Variance:	1.00
Standard Deviation:	0.58	Standard Deviation:	1.00
F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"			

F Value:	3.0000		
Numerator degrees of freedom:	6		
Denominator degrees of freedom:	6		
Probability:	0.2070		
Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis			
T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"			

Pooled s squared:		0.6667	
Variance of the difference between the means:		0.1905	
Standard Deviation of the difference:		0.4364	
t Value:		-11.4564	
Degrees of freedom:		12	
Probability of t:		0.0000	
Result: Significant t - Reject the Hypothesis			
Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):			
	5.000 plus or minus 1.333	(3.667 through 6.333)	

ANEXO XI - Comparação entre as médias de T45 dos dois tratamentos (OMG e G) pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade).

T-TEST PARA BUT (Comparação entre 45 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 5 : But		Variable 5 : But	
Cases 29 through 35		Cases 78 through 84	
Mean:	13.00	Mean:	19.00
Variance:	0.92	Variance:	0.58
Standard Deviation:	0.96	Standard Deviation:	0.76

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	1.5714
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.5968

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared:	0.7500
Variance of the difference between the means:	0.2143
Standard Deviation of the difference:	0.4629
t Value:	-12.9615
Degrees of freedom:	12
Probability of t:	0.0000

Result: Significant t - Reject the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 6.000 plus or minus 1.414 (4.586 through 7.414)

T-TEST PARA STT1 (Comparação entre 45 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 6 : STT1		Variable 6 : STT1	
Cases 29 through 35		Cases 78 through 84	
Mean:	14.00	Mean:	18.07
Variance:	0.33	Variance:	1.37
Standard Deviation:	0.58	Standard Deviation:	1.17

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	4.1071
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.1095

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared:	0.8512
Variance of the difference between the means:	0.2432
Standard Deviation of the difference:	0.4932
t Value:	-8.2560
Degrees of freedom:	12
Probability of t:	0.0000

Result: Significant t - Reject the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 4.071 plus or minus 1.506 (2.565 through 5.578)

ANEXO XII - Comparação entre as médias de T60 dos dois tratamentos (OMG e G) pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade).

T-TEST PARA BUT (Comparação entre 60 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 5 : But		Variable 5 : But	
Cases 36 through 42		Cases 85 through 91	
Mean:	15.07	Mean:	19.50
Variance:	0.70	Variance:	0.75
Standard Deviation:	0.84	Standard Deviation:	0.87

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	1.0678
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.9386

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared:	0.7262
Variance of the difference between the means:	0.2075
Standard Deviation of the difference:	0.4555
t Value:	-9.7224
Degrees of freedom:	12
Probability of t:	0.0000

Result: Significant t - Reject the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 4.429 plus or minus 1.391 (3.037 through 5.820)

T-TEST PARA STT1 (Comparação entre 60 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 6 : STT1		Variable 6 : STT1	
Cases 36 through 42		Cases 85 through 91	
Mean:	15.00	Mean:	19.07
Variance:	0.33	Variance:	1.37
Standard Deviation:	0.58	Standard Deviation:	1.17

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	4.1071
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.1095

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared:	0.8512
Variance of the difference between the means:	0.2432
Standard Deviation of the difference:	0.4932
t Value:	-8.2560
Degrees of freedom:	12
Probability of t:	0.0000

Result: Significant t - Reject the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 4.071 plus or minus 1.506 (2.565 through 5.578)

ANEXO XIII - Comparação entre as médias de T90 dos dois tratamentos (OMG e G) pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade).

T-TEST PARA BUT (Comparação entre 90 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 5 : But		Variable 5 : But	
Cases 43 through 49		Cases 92 through 98	
Mean:	18.07	Mean:	20.00
Variance:	0.70	Variance:	0.33
Standard Deviation:	0.84	Standard Deviation:	0.58

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	2.1071
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.3863

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared:	0.5179
Variance of the difference between the means:	0.1480
Standard Deviation of the difference:	0.3847
t Value:	-5.0138
Degrees of freedom:	12
Probability of t:	0.0003

Result: Significant t - Reject the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 1.929 plus or minus 1.175 (0.754 through 3.104)

T-TEST PARA STT1 (Comparação entre 90 dias)

GRUPO OMG:		GRUPO G:	
-----		-----	
Variable 6 : STT1		Variable 6 : STT1	
Cases 43 through 49		Cases 92 through 98	
Mean:	16.50	Mean:	19.07
Variance:	0.83	Variance:	1.37
Standard Deviation:	0.91	Standard Deviation:	1.17

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	1.6429
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.5616

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Pooled s squared:	1.1012
Variance of the difference between the means:	0.3146
Standard Deviation of the difference:	0.5609
t Value:	-4.5843
Degrees of freedom:	12
Probability of t:	0.0006

Result: Significant t - Reject the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 2.571 plus or minus 1.713 (0.858 through 4.285)

ANEXO XIV - Comparação entre as médias do teste de BUT E STT1 para T30 e T45 do grupo OMG pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade).

T-TEST PARA BUT GRUPO OMG (Comparação entre 30 e 45 dias)

BUT T35 OMG:		BUT T40 OMG:	
-----		-----	
Variable 5 : But		Variable 5 : But	
Cases 22 through 28		Cases 29 through 35	
Mean:	13.07	Mean:	13.00
Variance:	0.37	Variance:	0.92
Standard Deviation:	0.61	Standard Deviation:	0.96
F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"			

F Value:	2.4839		
Numerator degrees of freedom:	6		
Denominator degrees of freedom:	6		
Probability:	0.2927		
Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis			
T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"			

Variance of the difference between the means:	0.0765		
Standard Deviation of the difference:	0.2766		
t Value:	0.2582		
Effective degrees of freedom:	6		
Probability of t:	0.8049		
Result: Non-Significant t - Accept the Hypothesis			
Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):			
0.071 plus or minus 1.026 (-0.954 through 1.097)			

T-TEST PARA STT1 GRUPO OMG (Comparação entre 30 e 45 dias)

Não foi possível realizar

Para os dois intervalos propostos, usando a estimativa das medidas descritivas básicas, referindo-se a variância, está tem o mesmo valor.

Data file : CATAR
 Title : Experimento fatorial 2x7 com 7rep
 Function : STAT
 Data case no. 22 to 28 (T30 OMG)

Variable Number	No. of Cases	Minimum	Maximum	Sum
STT1 6	7	11.500	13.000	84.000

Variable Number	Mean	Variance	Standard Deviation	Standard Error
6	12.000	0.333	0.577	0.218

Data file : CATAR
 Title : Experimento fatorial 2x7 com 7rep
 Function : STAT
 Data case no. 29 to 35 (T45 OMG)

Variable Number	No. of Cases	Minimum	Maximum	Sum
STT1 6	7	13.500	15.000	98.000

Variable Number	Mean	Variance	Standard Deviation	Standard Error
6	14.000	0.333	0.577	0.218

Comparação no Stt1 entre as linhas 22 a 28 com as linhas 29 a 35.

A fórmula é $|t| = \frac{\bar{d}}{\sqrt{\frac{S^2}{N}}}$ para o caso do tzinho para dados emparelados.

Dados								Diferença média
22 a 28	12	12	11,5	13	12,5	11,5	11,5	
29 a 35	14	14	13,5	15	14,5	13,5	13,5	
d	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2

$$\text{Variância} = \frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

O numerador da variância será ZERO e Zero dividido por 6 que representa grau de liberdade do número de pares também é zero, portanto não há variação entre os dados experimentais. Fica impossível a aplicação de um teste de significância.

ANEXO XV - Comparação entre as médias do teste de BUT E STT1 para T30 e T90 do grupo OMG pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade).

T-TEST PARA BUT GRUPO OMG (Comparação entre 30 e 90 dias)

```
BUT T30:                                BUT T90:
-----                                -----
Variable 5 : But                          Variable 5 : But
Cases 22 through 28                       Cases 43 through 49
Mean:                                     Mean:                                     18.07
Variance:                                Variance:                                0.70
Standard Deviation:                       Standard Deviation:                       0.84
F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"
-----
F Value:                                  1.9032
Numerator degrees of freedom:              6
Denominator degrees of freedom:           6
Probability:                               0.4532
Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis
T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"
-----
Variance of the difference between the means:    0.0476
Standard Deviation of the difference:            0.2182
t Value:                                         -22.9129
Effective degrees of freedom:                   6
Probability of t:                               0.0000
Result: Significant t - Reject the Hypothesis
Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
      5.000 plus or minus 0.809      (4.191 through 5.809)
```

T-TEST PARA STT1 GRUPO OMG (Comparação entre 30 e 90 dias)

```
STT1 30:                                STT1 90:
-----                                -----
Variable 6 : STT1                          Variable 6 : STT1
Cases 22 through 28                       Cases 43 through 49
Mean:                                     Mean:                                     16.50
Variance:                                Variance:                                0.83
Standard Deviation:                       Standard Deviation:                       0.91
F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"
-----
F Value:                                  2.5000
Numerator degrees of freedom:              6
Denominator degrees of freedom:           6
Probability:                               0.2894
Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis
T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"
-----
Variance of the difference between the means:    0.0595
Standard Deviation of the difference:            0.2440
t Value:                                         -18.4445
Effective degrees of freedom:                   6
Probability of t:                               0.0000
Result: Significant t - Reject the Hypothesis
Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
      4.500 plus or minus 0.905      (3.595 through 5.405)
```


ANEXO XVI - Comparação entre as médias do teste de BUT E STT1 para T30 e T45 do grupo G pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade).

T-TEST PARA BUT GRUPO G (Comparação entre 30 e 45 dias)

SAMPLE ONE:		SAMPLE TWO:	
-----		-----	
Variable 5 : But		Variable 5 : But	
Cases 71 through 77		Cases 78 through 84	
Mean:	19.00	Mean:	19.00
Variance:	0.92	Variance:	0.58
Standard Deviation:	0.96	Standard Deviation:	0.76

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	1.5714
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.5968

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Variance of the difference between the means:	0.0119
Standard Deviation of the difference:	0.1091
t Value:	0.0000
Effective degrees of freedom:	6
Probability of t:	1.0000

Result: Non-Significant t - Accept the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 0.000 plus or minus 0.405 (-0.405 through 0.405)

T-TEST PARA STT1 GRUPO G (Comparação entre 30 e 45 dias)

STT1 30:		STT1 45:	
-----		-----	
Variable 6 : STT1		Variable 6 : STT1	
Cases 71 through 77		Cases 78 through 84	
Mean:	17.00	Mean:	18.07
Variance:	1.00	Variance:	1.37
Standard Deviation:	1.00	Standard Deviation:	1.17

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	1.3690
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.7126

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Variance of the difference between the means:	0.0646
Standard Deviation of the difference:	0.2542
t Value:	-4.2146
Effective degrees of freedom:	6
Probability of t:	0.0056

Result: Significant t - Reject the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 1.071 plus or minus 0.942 (0.129 through 2.014)

ANEXO XVII - Comparação entre as médias do teste de BUT E STT1 para T30 e T90 do grupo G pelo T-teste (teste de Student a 99% de probabilidade).

T-TEST PARA BUT GRUPO G (Comparação entre 30 e 90 dias)

BUT T30:		BUT T90:	
-----		-----	
Variable 5 : But		Variable 5 : But	
Cases 71 through 77		Cases 92 through 98	
Mean:	19.00	Mean:	20.00
Variance:	0.92	Variance:	0.33
Standard Deviation:	0.96	Standard Deviation:	0.58

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	2.7500
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.2437

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Variance of the difference between the means:	0.0833
Standard Deviation of the difference:	0.2887
t Value:	-3.4641
Effective degrees of freedom:	6
Probability of t:	0.0134

Result: Non-Significant t - Accept the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 1.000 plus or minus 1.070 (-0.070 through 2.070)

T-TEST PARA STT1 GRUPO G (Comparação entre 30 e 90 dias)

STT1 30:		STT1 90:	
-----		-----	
Variable 6 : STT1		Variable 6 : STT1	
Cases 71 through 77		Cases 92 through 98	
Mean:	17.00	Mean:	19.07
Variance:	1.00	Variance:	1.37
Standard Deviation:	1.00	Standard Deviation:	1.17

F-TEST FOR THE HYPOTHESIS "VARIANCE 1 = VARIANCE 2"

F Value:	1.3690
Numerator degrees of freedom:	6
Denominator degrees of freedom:	6
Probability:	0.7126

Result: Non-Significant F - Accept the Hypothesis

T-TEST FOR THE HYPOTHESIS "MEAN 1 = MEAN 2"

Variance of the difference between the means:	0.0646
Standard Deviation of the difference:	0.2542
t Value:	-8.1483
Effective degrees of freedom:	6
Probability of t:	0.0002

Result: Significant t - Reject the Hypothesis

Confidence limits for the difference of the means (for alpha=0.01):
 2.071 plus or minus 0.942 (1.129 through 3.014)