

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ELETORRETINOGRÁFIA NA MEDICINA VETERINÁRIA: ESTUDO
EXPERIMENTAL EM PEQUENOS RUMINANTES E ROTINA DE PEQUENOS
ANIMAIS

CURITIBA

2009

MARIANNA BACELLAR TEODORO DA SILVA

ELETORRETINOGRÁFIA NA MEDICINA VETERINÁRIA: ESTUDO
EXPERIMENTAL EM PEQUENOS RUMINANTES E ROTINA DE PEQUENOS

ANIMAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Paraná para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Ivan Roque de Barros Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Fabiano Montiani-Ferreira

CURITIBA

2009

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“ELETRORRETILOGRAFIA NA MEDICINA VETERINÁRIA: ESTUDO EXPERIMENTAL EM PEQUENOS RUMINANTES E ROTINA DE PEQUENOS ANIMAIS”** apresentada pela mestranda MARIANNA BACELLAR TEODORO DA SILVA, 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 APR para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 11 de novembro de 2009

Prof. Dr. Ivan Roque de Barros Filho
Presidente/Orientador

Prof. Dr. Fabiano Montiani Ferreira
Membro

Dra. Heloisa Helena Abil Russ
Membro

Dedico essa dissertação aos meus pais, mas principalmente a minha mãe que mesmo nos momentos mais difíceis da sua vida sempre apoiou e incentivou o meu sonho...

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Orientador , Prof^o Ivan Roque de Barros Filho, pela oportunidade, ajuda, ensinamentos e todas as palavras de apoio e confiança durante esta caminhada.

Agradeço também ao meu Co-orientador, Prof^o Fabiano Montiani-Ferreira, pelas inúmeras ajudas, conversas, ensinamentos, principalmente na área da Oftalmologia. Devo muito do meu amadurecimento como pessoa aos dois.

Agradeço ao Prof^o Ricardo Guilherme D´Otaviano de Castro Vilani, pela ajuda em todo trabalho, pelas palavras de conforto e todo carinho. Sem você teria sido bem mais difícil!

A Prof^a Alda Lúcia Gomes Monteiro, ao mestrando Sérgio Fernandes e ao LAPOC pela ajuda, compreensão e por ceder os animais.

Um agradecimento especial aos amigos Helber, André e Leandro por toda ajuda durante os experimentos e na confecção desta dissertação.

Também ao meu irmão Arthur que com certeza sem a sua ajuda, os gráficos não estariam tão bonitos!

À minha grande amiga Karoline Rede, que além do apoio e amizade está sempre presente me ajudando em todos os momentos mais importantes da minha vida.

Ao meu amigo Luigi Andreatta que eu sei que posso contar sempre, muito obrigada pela ajuda!

Aos meus pais e toda minha família pelo apoio e compreensão durante toda essa caminhada.

Obrigada a todos!

RESUMO

A eletrorretinografia (ERG) é um exame oftalmológico complementar que mensura a resposta da retina quando estimulada por *flashes* luminosos de diferentes intensidades. Esta dissertação é composta por seis trabalhos utilizando-se desta ferramenta, tanto na pesquisa como na rotina clínica. A história da ERG desde seu surgimento, primeiros experimentos até hoje, está descrita no primeiro artigo. Três capítulos desta dissertação envolvem estudos experimentais em pequenos ruminantes. O segundo artigo mostra a ERG como uma ferramenta para estudar o desenvolvimento da retina em cordeiros, determinando assim, parâmetros em carneiros saudáveis. O terceiro artigo compara dois métodos anestésicos diferentes em ovelhas e como eles interferem nas respostas eletrorretinográficas, e o quarto artigo faz um estudo da resposta da retina frente a uma droga antiparasitária (closantel) muito utilizada na rotina clínica que possui relatos de toxicidade na retina causando a cegueira. Sobre o uso da ERG na rotina clínica de pequenos animais, existem dois trabalhos retrospectivos do uso deste exame no auxílio ao diagnóstico de retinopatias, sendo o primeiro como exame pré-cirúrgico em catarata e o segundo sobre a degeneração súbita adquirida de retina (DSAR).

Palavras-chave: exame eletrorretinográfico, ovinos, cães, retinopatias

ABSTRACT

The electroretinogram (ERG) is an ophthalmic supplementary exam which measures the response of the retina when stimulated by light flashes of different intensities. This dissertation is composed by six studies using this tool, both in research as in clinical practice. The history of the ERG since its appearance, first experiments to today, is described in the first article. Three chapters of this work involve experimental studies in small ruminants. The second article shows the ERG as a tool to study retinal development in lambs, to establish the parameters in healthy sheep. The third article compares two different types of anesthesia in sheep and how they can interfere in electroretinographic responses, and the fourth article is a study of the retina response to a anti-parasitic drug (closantel) widely used in clinical practice that has many reports of toxicity in the retina causing blindness. About the use of ERG in clinical practice of small animals, there are two retrospective studies of the use of this test in the diagnosis of retinopathies, the first as a pre-cataract surgery exam and the second on the sudden acquired retinal degeneration (SARD).

Keywords: electroretinogram exam, sheep, dogs, retinopathies

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

2.1	Ragnar Granit.....	9
2.2	Exames eletrorretinográficos em várias espécies de animais. (A) Exame sendo realizado em um exemplar de orangotango (<i>Pongo pygmeus</i>) empregando o aparelho de ERG HM _s ERG da marca RetVet (Columbia, MO); (B) Detalhe da localização do eletrodo monopolar do tipo “ERG-jet lens” e do eletrodo referência (próximo ao blefarostato) durante o exame em um exemplar de Pingüim-de-Magalhães (<i>Spheniscus magellanicus</i>); (C) Detalhe de um estimulador de campo inteiro (Ganzfeld) da marca LKC (Gaithersburg, EUA) durante o exame em um cão (<i>Canis familiaris</i>) da raça Cardigan Welsh Corgi; (D) Detalhe da localização do eletrodo bipolar do tipo Burian-Allen no mesmo cão. Note os fios de sutura fixando o eletrodo na posição correta. (E) Ovelha (<i>Ovis aries</i>) da raça Suffolk durante exame empregando um HM _s ERG (RetVet Corp., Columbia, MO).....	12
2.3	Traçado esquemático de eletrorretinograma. (A) potenciais de ação, ou componentes PI, PII e PIII.....	14
2.4	Traçados reais de eletrorretinograma dispostos como respostas a uma série de flashes de intensidade crescente. As respostas para os flashes de menores intensidades estão mais acima, passando para os de maior intensidade abaixo da figura. A) Note a resposta normal de um cão adulto da raça Cardigan Welsh Corgi. B) Série de respostas em um cão de mesma idade e raça sofrendo de atrofia de retina progressiva. Note o aspecto achatado, sem ondas “a” ou “b”.....	15
3.1	Valores de amplitude das ondas “a” e “b” observados nos testes escotópicos de ERG nos tempos 30, 37, 60 e 300 dias de idade, nas intensidades de 10, 3.000 e 10.000 mcd.s/m ²	24
3.2	Valores de tempo implícito das ondas “a” e “b” observados nos testes escotópicos de ERG nos tempos 30,37, 60 e 300 dias de idade, nas intensidades de 10, 3.000 e 10.000 mcd.s/m ²	25
3.3	Traçados eletrorretinográficos representativos dos animais com: (a) 30 dias, (b) 37 dias, (c) 60 dias e (d) 300 dias, na intensidade de luz de 10.000 mcd.s/m ²	26
3.4	Valores de amplitude da onda “a” e “b” nos testes fotópicos nos tempos 30, 37, 60 e 300 dias de idade com intensidades de luz de 3.000 e 10.000 mcd.s/m ²	27
3.5	Valores de tempo implícito das ondas “a” e “b” nos testes fotópicos nos tempos 30, 37, 60 e 300 dias, nas intensidades de	

	3.000 e 10.000 mcd.s/m ²	28
4.1	Amplitude das ondas “a” e “b” do exame eletroretinográfico de ovelhas anestesiadas com cetamina S(+) (GC) ou pela associação de propofol + cetamina S(+) (GPC). A) Após adaptação ao escuro de 20 minutos, resultados das 3 intensidades de <i>flash</i> – 10, 3.000 e 10.000 mcd.s/m ² ; B) Resultados pós- adaptação ao claro de 10 minutos com intensidade de 30.000 mcd, intensidade dos <i>flashes</i> de 3.000 e 10.000 mcd.s/m ² ; C) Resultados obtidos nos testes de <i>flashes</i> intermitentes (“ <i>flicker</i> ”) nas intensidades de 3.000 e 10.000 mcd.s/m ²	41
4.2	Tempo implícito das ondas “a” e “b” do exame eletroretinográfico de ovelhas anestesiadas com cetamina S(+) (GC) ou pela associação de propofol + cetamina S(+) (GPC). A) Após adaptação ao escuro de 20 minutos, resultados das 3 intensidades de <i>flash</i> – 10, 3.000 e 10.000 mcd.s/m ² ; B) Resultados pós- adaptação ao claro de 10 minutos com intensidade de 30.000 mcd, intensidade dos <i>flashes</i> de 3.000 e 10.000 mcd.s/m ² ; C) Resultados obtidos nos testes de <i>flashes</i> intermitentes (“ <i>flicker</i> ”) nas intensidades de 3.000 e 10.000 mcd.s/m ²	42
4.3	Exemplo de traçado eletroretinográfico do exame realizado em ovelhas anestesiadas com cetamina S(+) (GC) ou pela associação de propofol + cetamina S(+) (GPC), evidenciando maior interferência no traçado da onda “b” no grupo GC.....	43
5.1	Fotografia da lâmina de histopatologia de um animal utilizando a objetiva de 10x, mostrando as medidas realizadas na retina (camadas) em milímetros, onde L1= camada de fibras nervosas; L2= camada de células ganglionares; L3= camada plexiforme interna; L4= camada nuclear interna; L5= camada plexiforme externa; L6= camada nuclear externa; L7= camada de fotorreceptores e L8= epitélio pigmentar da retina(EPR).....	59
5.2	Traçados eletroretinográficos obtidos no teste escotópico de intensidade máxima (10.000 mcd.s/m ²), (a) 30 dias de idade- 1ª ERG, (b) 37 dias de idade- 2ª ERG, (c) 60 dias de idade – 3ª ERG; (A) grupo controle e (B) grupo tratado com closantel.....	60
5.3	Fotomicrografia do centro do nervo óptico na objetiva de 40x, nervo óptico corado com Hematoxilina e Eosina. (A) Grupo tratado com closantel e (B) Grupo controle.....	61
6.1	A) Traçado de uma resposta de retina satisfatória, quando estimulada com um <i>flash</i> de 10.000 mcd.s/m ² (paciente de nome Sakura) e B) olho com a retina não responsiva a um <i>flash</i> de 10.000 mcd.s/m ² , com diagnóstico de atrofia progressiva de retina (“ <i>flat</i> ” ERG; paciente de nome Toby).....	72
6.2	Gráfico de regressão simples das amplitudes de ondas a e b da eletroretinografia em cães. Foram selecionadas e dispostas no gráfico somente as raças com pelo menos dois pacientes examinados.....	74

7.1	Fundo de olho de três dos quatro casos atendidos e diagnosticados como DSAR (Hawk eye, Dioptrix, L'Union, França). Na fundoscopia tais animais não apresentaram qualquer lesão que indicasse perda da funcionalidade da retina. Todavia, em todos eles não havia qualquer resposta aos estímulos de flashes luminosos, indicando perda da funcionalidade da retina ("flat" ERG) – indicando DSAR. A) cão da raça Poodle, 7 anos, fêmea; B) cão da raça Cocker Spaniel, 5 anos, fêmea; e C) cão da raça Lhasa Apso, 3 anos fêmea.	90
7.2	Resultados dos ERGs dos quatro casos confirmados de DSAR sobrepostos sobre um mesmo eixo. Nota-se que não há respostas compatíveis com relação ao tempo implícito e amplitude de onda "a" ou onda "b".....	91

LISTA DE TABELAS

3.1	Valores médios das amplitudes e tempo implícito de ondas “a” e “b” com desvio padrão nas idades de 30, 37, 60 e 300 dias, resposta escotópica num <i>flash</i> de intensidade de 10,000 mcd.s/m ²	26
3.2	Coeficiente de variação das amplitudes e tempo implícito das ondas “a” e “b”, nos testes em que houve diferença significativa (escotópico – 10 e 10.000 mcd.s/m ² e fotópica 3.000 e 10.000 mcd.s/m ²	29
4.1	Valores médios e desvio padrão de frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (T °C), saturação parcial de oxigênio na hemoglobina (SpO ₂) e pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) em ovelhas anestesiadas com cetamina S(+) (GC) ou pela associação de propofol e cetamina S(+) (GPC) para exame eletrorretinográfico...	43
6.1	Média da amplitude e do tempo implícito das ondas a e b da ERG com <i>flash</i> de 10.000 mcd.s/m ² de acordo com a raça. Foram selecionadas e dispostas na tabela somente àquelas raças com pelo menos dois pacientes examinados.....	73
6.2	Coeficiente de variação das amplitudes e tempo implícito das ondas a e b. Foram selecionadas e dispostas na tabela somente às raças com pelo menos dois pacientes examinados.....	75
7.1	Pacientes encaminhados ao Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR com queixa de perda súbita de visão durante o período de um ano.....	87

LISTA DE ABREVIações

APR – atrofia progressiva de retina

DSAR ou SARD – degeneração súbita adquirida de retina

ERG – eletrorretinografia

EPR – epitélio pigmentar da retina

mg/ kg – miligramas por quilograma

cm – centímetros

mm - milímetros

ISCEV – Sociedade Internacional de Eletrofisiologia Visual Clínica

UFPR – Universidade Federal do Paraná

mg/ mL – miligramas por mililitros

SP –São Paulo

HE- Hematoxilina e Eosina

µV- microvolts

mseg – milisegundos

mcd.s/m² – milicandelas segundos por metros quadrados

IM – intramuscular

IV- intravenoso

O₂ - oxigênio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	OBJETIVOS GERAIS.....	2
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
2	HISTÓRIA DA ELETORRETINOGRRAFIA.....	4
2.1	History of Electroretinography.....	4
2.2	Introdução.....	5
2.3	Desenvolvimento.....	6
2.3.1	A oftalmologia antes e após a invenção do oftalmoscópio	6
2.4	A Eletorretinografia.....	7
2.4.1	<i>Primeiros avanços no desenvolvimento do método</i>	7
2.4.2	<i>Primeiros eletorretinogramas</i>	8
2.4.3	<i>Ragnar Granit</i>	9
2.4.4	<i>ERG hoje</i>	11
2.5	Considerações finais.....	14
2.6	Referências.....	15
3	RESPOSTAS ELETORRETINOGRÁFICAS NORMAIS EM CARNEIROS SAUDÁVEIS.....	19
3.1	Normal electroretinographic responses in healthy sheep.....	20
3.2	Introdução.....	21
3.3	Material e Métodos.....	22
3.4	Resultados.....	23
3.5	Discussão.....	29
3.6	Referências.....	31
4	ASSOCIAÇÃO DE PROPOFOL E CETAMINA S(+) PARA ELETORRETINOGRRAFIA EM OVELHAS ADULTAS.....	33
4.1	Association Of Propofol And (S) Ketamine For Electroretinography In Adult Sheep.....	34
4.2	Introdução.....	36
4.3	Material e Métodos.....	37
4.4	Resultados.....	40
4.5	Discussão.....	44
4.6	Referências.....	48
5	ACHADOS OFTÁLMICOS EM CARNEIROS TRATADOS COM CLOSANTEL.....	52
5.1	Ophthalmic Findings In Sheep Treated With Closantel.....	53
5.2	Introdução.....	55
5.3	Material e Métodos.....	56
5.4	Resultados.....	59
5.5	Discussão.....	61
5.6	Referências.....	63
6	ELETORRETINOGRRAFIA EM CÃES COMO EXAME PRÉ-OPERATÓRIO DE CATARATA MATURA E HIPERMATURA – UM ESTUDO RETROSPECTIVO.....	66
6.1	Electroretinography As A Pre-Operative Exam In Dogs With Mature And Hypermature Cataracts - A Retrospective Study.....	67
6.2	Introdução.....	68
6.3	Material e Métodos.....	70
6.4	Resultados.....	72

6.5	Discussão.....	75
6.6	Referências.....	77
7	OBSERVAÇÕES CLÍNICAS E ELETORRETINOGRÁFICAS EM CÃES COM PERDA SÚBITA DE VISÃO.....	81
7.1	Electroretinographic And Clinical Observations In Dogs With Sudden Vision Loss.....	82
7.2	Introdução.....	83
7.2.1	<i>Causas de cegueira súbita</i>	84
7.2.2	<i>Etiologia da degeneração súbita adquirida de retina (DSAR)</i>	84
7.2.3	Histórico e sinais clínicos da DSAR.....	85
7.2.4	Eletrorretinografia da DSAR.....	85
7.2.5	Objetivos do estudo.....	86
7.3	Material e Métodos.....	86
7.4	Resultados.....	87
7.5	Discussão.....	91
7.6	Referências.....	93
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
9	ANEXO.....	98
	Aprovação no Comitê de Ética do Setor de Ciências Agrárias da UFPR.....	99
10	VITA.....	100

1 INTRODUÇÃO

As doenças oculares bem como as manifestações oftálmicas de doenças sistêmicas em pequenos ruminantes são comuns, existindo neste contexto doenças congênitas, genéticas e adquiridas.

O exame oftálmico nos animais de fazenda ainda é pouco utilizado pelos clínicos veterinários, principalmente quando se trata de um quadro no qual a retina é afetada. No caso das doenças adquiridas, as retinopatias de origem tóxica são relativamente pouco diagnosticadas. As intoxicações iatrogênicas na prática médica de pequenos ruminantes são mais comuns do que se imagina. Algumas intoxicações podem causar danos a vários órgãos alterando suas funções, mais comumente o fígado, rins, coração, cérebro e, por fim, os olhos.

Os antiparasitários são medicamentos utilizados com freqüência no tratamento de pequenos ruminantes, fazendo com que alguns parasitos como *Haemonchus spp.*, *Fasciola hepatica* e *Oestrus ovis*, adquiram resistência a eles.

O closantel é um dos antiparasitários que vem sendo empregado nas três últimas décadas, na busca por drogas alternativas para o tratamento de helmintoses. Este medicamento pertence ao grupo dos salicilanilidas, assim como a rafoxanida e a clioxanida, e possui grande eficácia no combate de várias espécies de trematódeos, nematódeos e artrópodos, principalmente aos parasitas já citados que apresentaram resistência aos outros fármacos.

Um dos exames complementares para o diagnóstico de lesões generalizadas da retina é a eletrorretinografia (ERG). Tal exame pode avaliar a fototransdução, um processo de conversão da energia luminosa em energia elétrica para o nervo óptico, de forma rápida e não-invasiva, por meio de

estímulos luminosos rápidos (*flashes*) que incidem diretamente no olho do animal, trazendo, desta forma informações sobre a funcionalidade da retina.

Na rotina clínica de pequenos animais, a eletrorretinografia é utilizada com certa frequência, para auxiliar em diagnósticos de doenças como atrofia progressiva de retina (APR) e degeneração súbita adquirida de retina (DSAR) e para avaliação da função geral da retina antes de cirurgias de catarata.

Estas duas retinopatias (APR e DSAR) são doenças que acometem a retina, levando o animal à cegueira, sendo comuns na clínica de pequenos animais, sendo algumas vezes diagnosticadas de forma errada.

1.1 OBJETIVOS GERAIS

Esta dissertação pretende demonstrar o uso deste exame em estudos experimentais em carneiros e na rotina de pequenos animais.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar e relatar a história da ERG;
- Determinar parâmetros eletrorretinográficos durante o crescimento de cordeiros com quatro idades diferentes;
- Comparar o efeito da combinação de propofol e cetamina S(+) com a cetamina S(+) isolada em carneiros pré-medicados com morfina e midazolam na formação de ondas e nas demais exigências para a realização da ERG;
- Verificar a existência de alterações eletrorretinográficas e histopatológicas da retina e nervo óptico em cordeiros tratados com closantel;

- Realizar um estudo retrospectivo dos resultados dos eletrorretinogramas feitos em cães com catarata matura e hipergrafia referidos ao Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR;
- Relatar a prevalência dos casos de cegueira súbita, particularmente de DSAR, atendidos na casuística do Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR.

2 HISTÓRIA DA ELETRORRETINOGRÁFIA

Resumo

O olho juntamente com suas doenças vem sendo estudado desde o Egito antigo, sendo a oftalmologia, portanto, considerada como uma das primeiras especialidades médicas a existir. Com a invenção do oftalmoscópio no século XIX bem como de outros métodos de exames diagnósticos no século XX, iniciou-se a observação e o estudo da retina, tecido nervoso que realiza fototransdução e faz a passagem do estímulo elétrico para o cérebro, formando a imagem. A eletrorretinografia é um capítulo peculiar na história da oftalmologia. Trata-se de um exame oftálmico funcional que capta a resposta elétrica produzida pelas células da retina quando estimuladas. Tornou-se uma excelente ferramenta para estudar a funcionalidade da retina de animais e seres humanos, porém seu uso ainda encontra-se pouco difundido na Medicina Veterinária brasileira. O trabalho presente tem o objetivo de revisar a história deste valioso método de diagnóstico.

Palavras-chave: oftalmologia, Ragnar Granit, retina, eletrofisiologia, ERG

2.1 History of Electroretinography

Abstract

The eye and its diseases have been studied since the time of the ancient Egypt; therefore, ophthalmology is recognized as one of the first medical specialties to ever exist. Along the years many advances in this area occurred, as the invention of the ophthalmoscope during the 19th Century and other ancillary methods in the 20th Century. After the invention of the ophthalmoscope, the observation and study of the retina, the anatomic part of the eye that transforms light energy into electric energy (phototransduction) stimulating the brain to form an image.

Electroretinography is an ophthalmic examination that captures this electrical response generated by cells of the retina when stimulated by light. This is an excellent tool for studying the function of the retina, yet it is still a modestly widespread practice in the Brazilian veterinary medicine scenario. This paper aims to review the history of this valuable method of diagnosis.

Key-words: ophthalmology, Ragnar Granit, retina, electrophysiology, ERG

2.2 Introdução

A retina é formada por várias camadas celulares, sendo estas responsáveis pelo fenômeno chamado de fototransdução, que é a transformação do estímulo luminoso em energia elétrica, estudado por fisiologistas e oftalmologistas (eletrofisiologia ocular).

A eletrorretinografia, como o próprio nome já diz, é um exame oftálmico que capta a resposta elétrica produzida pelas células da retina quando estimuladas pela luz. Trata-se de uma excelente ferramenta para estudar a função da retina, sendo um exame não invasivo e de fácil realização, permitindo assim um manejo seguro, mesmo nos casos em que se faz necessário a realização de anestesia (Heckenlively and Arden, 2006).

Na medicina, a eletrofisiologia diagnóstica da visão pode ser estudada com o suporte dos exames de eletrorretinografia, eletrooculografia e o potencial visual evocado, importantes recursos na avaliação do nervo e vias ópticas, possibilitando o diagnóstico das doenças hereditárias e das alterações isquêmicas da retina (Ávila, 2003).

Na Medicina Veterinária estes recursos e aparelhos são relativamente novos, ou pouco difundidos, necessitando de mais estudos e desenvolvimento de protocolos específicos às espécies domésticas. Este trabalho visa relatar a história da eletrorretinografia.

2.3 Desenvolvimento

2.3.1 A oftalmologia antes e após a invenção do oftalmoscópio

Em 1851, a invenção do oftalmoscópio monocular direto por Hermann von Helmholtz, hoje considerado pai da oftalmoscopia, ajudou na observação de problemas da retina por meio da observação do fundo ocular. Antes disto, na chamada era pré-oftalmoscópica, pouco se sabia a respeito da retina e suas funções. Foram feitos relatos de várias experiências sobre o fundo ocular, destacando-se a descrição de Jean Mèry, que em 1704, para estudar os movimentos da pupila, mergulhou um gato em um lago. Entrando em hipóxia, o olho do animal sofreu considerável dilatação pupilar. O poder dióptrico da córnea foi então neutralizado pela presença da lâmina d'água, favorecendo assim a observação e descrição, pela primeira vez, dos vasos da retina (Ávila, 2003). Dez anos após a invenção do oftalmoscópio monocular direto Girard Teulon em 1861 introduziu o oftalmoscópio binocular indireto, que utilizava, por meio de espelhos, o reflexo da luz solar sobre a retina. Somente em 1885 foi introduzido o uso da luz elétrica na realização do exame (Ávila, 2003).

Novos métodos de exames foram sendo desenvolvidos nos anos seguintes sendo que muitos deles, como gonioscopia, tonometria,

eletrorretinografia, ultrassonografia ocular, angiografia fluoresceínica e tomografia de coerência óptica, são utilizados até hoje.

2.4 A Eletrorretinografia

2.4.1 Primeiros avanços no desenvolvimento do método

O alemão Emil Heinrich Du Bois-Reymond (1818-1896), considerado o fundador da eletrofisiologia moderna, nasceu na Prússia e viveu grande parte de sua vida em Berlim. Foi um dos fundadores da Sociedade de Física Alemã, sendo o sucessor de Johannes Muller como professor de Fisiologia na Universidade de Berlim, em 1858. Em seus trabalhos estudava as espécies de peixes capazes de produzir correntes elétricas. Foi o primeiro pesquisador a observar um potencial elétrico vindo do olho de um peixe em 1849, quando colocou um eletrodo na superfície da córnea (semelhante aos eletrodos usados hoje em dia).

Já em 1865, o sueco Holmgren descobriu que existe resposta elétrica no olho após um estímulo luminoso, estudando sapos. Em 1880, retirando o segmento anterior do olho e colocando um eletrodo diretamente na superfície da retina, afirmou que esta estrutura de tecido nervoso era a responsável pela resposta elétrica gerada no olho (Rouck, 2006).

Na mesma época, outro pesquisador chamado Dewar relatou descobertas similares às de Holmgren. Ele mostrou que após estímulo luminoso incidindo sobre o eixo pupilar ocorria um pequeno movimento observado num galvanômetro, sugerindo que tal impulso elétrico positivo era produzido pela retina (Perlman, 2008). O galvanômetro é um instrumento que pode medir correntes

elétricas de baixa intensidade, ou a diferença de potencial elétrico entre dois pontos.

2.4.2 Primeiros eletrorretinogramas

Em 1877, Dewar registrou o primeiro eletrorretinograma (ERG) no homem, mas não houve publicação do trabalho (Dantas, 1995). Gotch, em 1903, foi o primeiro a separar o resultado da ERG em duas ondas (Perlman, 2008). Em 1908, Einthoven e Jolly obtiveram excelentes dados detalhados do eletrorretinograma de um olho de sapo, utilizando novamente um galvanômetro. Foram os primeiros a classificar as diferentes porções do ERG usando letras: onda "a", primeiro segmento de onda negativo; a onda "b", segmento de onda grande positivo posterior a onda anterior; e onda "c", a outra porção positiva e um pouco menor (Einthoven and Jolly, 1908).

A primeira publicação de um ERG foi feita por Kahn e Lowenstein em 1924. A idéia era que o exame fizesse parte dos exames clínicos oftálmicos da rotina, mas os autores concluíram que existiam algumas dificuldades para execução do método. No mesmo período, Hartline desenvolveu outra maneira de colocar os eletrodos, aplicando um pedaço de algodão na superfície do olho para fixar o eletrodo e posicionando o eletrodo de referência na boca do paciente (Rouck, 2006).

Em 1929, Sachs mostrou que o ERG humano era dependente do sistema escotópico visual da retina. Em 1933, Cooper e associados acoplaram um amplificador no galvanômetro e obtiveram ondas com maior qualidade (Rouck, 2006).

2.4.3 Ragnar Granit

Ragnar Arthur Granit (1900-1991) foi um cientista que nasceu na Finlândia (Figura 2.1). Estudou medicina com ênfase na parte de psicologia. Durante seus estudos chegou à conclusão que a fisiologia seria melhor do que a psicologia para explicar o aparelho visual. Em 1926 aceitou o posto de assistente no Instituto de Fisiologia na Universidade de Helsinki, oferecido a ele pelo Professor Carl Tigerstedt. Granit formou-se em 1927, sendo convidado por vários institutos de pesquisa para trabalhar. Permaneceu meio ano em Oxford mudando-se na seqüência para a Pensilvânia. Voltou para a Finlândia em 1935 e assumiu a cadeira de professor de fisiologia. Durante a Guerra de inverno entre a Finlândia e a Rússia, Granit se refugiou na Suécia, permanecendo por lá como cientista.

Ganhou inúmeros prêmios e, em 1967, junto com Haldan Keffler Hartline and George Wald recebeu o prêmio Nobel em Medicina por seus estudos focados na eletrofisiologia.



Figura 2.1 – Ragnar Granit

Fonte - Site Prêmio Nobel

Em 1933, utilizando gatos em estado de narcose induzida por éter e diferentes graus de oclusão da artéria carótida, conseguiu desdobrar os

componentes do ERG (Porto, 2004). Observou a presença de três potenciais, os quais nomeou: PI, PII e PIII, de acordo com o desaparecimento deles durante a anestesia e hipóxia. O componente corneal negativo PIII correspondia à onda "a"; o potencial corneal PII, que era inclusive maior e dependente do primeiro, correspondia à onda "b"; e quando PII diminuía, formava-se de forma devagar o componente PI correspondente à onda "c" (Rouck, 2006).

No ano de 1935, Granit estudou o ERG de diferentes animais e dividiu em dois tipos de retina: retina do tipo E (excitatória) e retina do tipo I (inibitória). No tipo E, predominam as respostas originadas dos bastonetes, revelam uma ampla onda "b" ao estímulo luminoso, tendo como exemplo a retina humana; e no tipo I, as respostas dos cones, com a predominância do traçado negativo (onda "a"), retina de pombo (Dantas, 1995).

No passar dos anos, mais estudos sobre os componentes do ERG ocorreram e pôde ser observada a relação das porções da retina com as ondas do ERG. Noell (1952) por meio de um estudo, concluiu que o epitélio pigmentado da retina (EPR) que produzia a onda "c" e o potencial transretiniano (Rouck, 2006), neste mesmo ano, alguns trabalhos, *Armington, Jonhson e Riggs*, assim como em 1945, *Adrian* relatou, confirmaram a existência de componentes fotópicos (difásicos, com presença de uma onda negativa seguida de uma positiva) produzidos por luz branca ou qualquer luz monocromática, exceto a azul e componentes escotópicos, monofásicos, produzidos por todas as cores exceto a vermelha (Dantas, 1995).

Outro estudo demonstrou que a onda "b" é gerada pela camada de células que se encontra entre a membrana limitante interna e a externa. Esta descoberta

foi detalhada primeiramente em 1969 por Faber. Steinberg e colegas (1970) investigaram as respostas produzidas pelo EPR e provaram que a origem da onda “c” é devido a uma redução na concentração de íons de potássio no espaço sub-retiniano, causando polarização da EPR (Rouck, 2006).

2.4.4 ERG hoje

Por meio de estudos e do melhor entendimento sobre os componentes do ERG, este exame foi aperfeiçoado e introduzido na rotina da oftalmologia clínica. Com o tempo tornou-se o método diagnóstico mais preciso para a avaliação da retina (Komaromy et al, 1998), porém não pode assegurar que o paciente realmente tenha visão.

Na medicina, a ERG é usada tanto para diagnosticar como para avaliar a progressão de degenerações da retina, intoxicações e, no caso de pacientes diabéticos, para diagnosticar e acompanhar a retinopatia proliferativa e não proliferativa (Ofri et al, 1993). Na veterinária, além de servir para diagnóstico de várias retinopatias e como exame pré-cirúrgico para a realização da cirurgia de correção de catarata nas diferentes espécies de animais (Figura 2.2), o exame serve como importante modelo biológico para estudo das degenerações de retina que acometem o homem (Petersen-Jones et al, 2006). Com o avanço da tecnologia, particularmente dos microprocessadores e diminuição do tamanho dos amplificadores de sinal elétrico os modelos foram se tornando cada vez mais complexos e compactos.

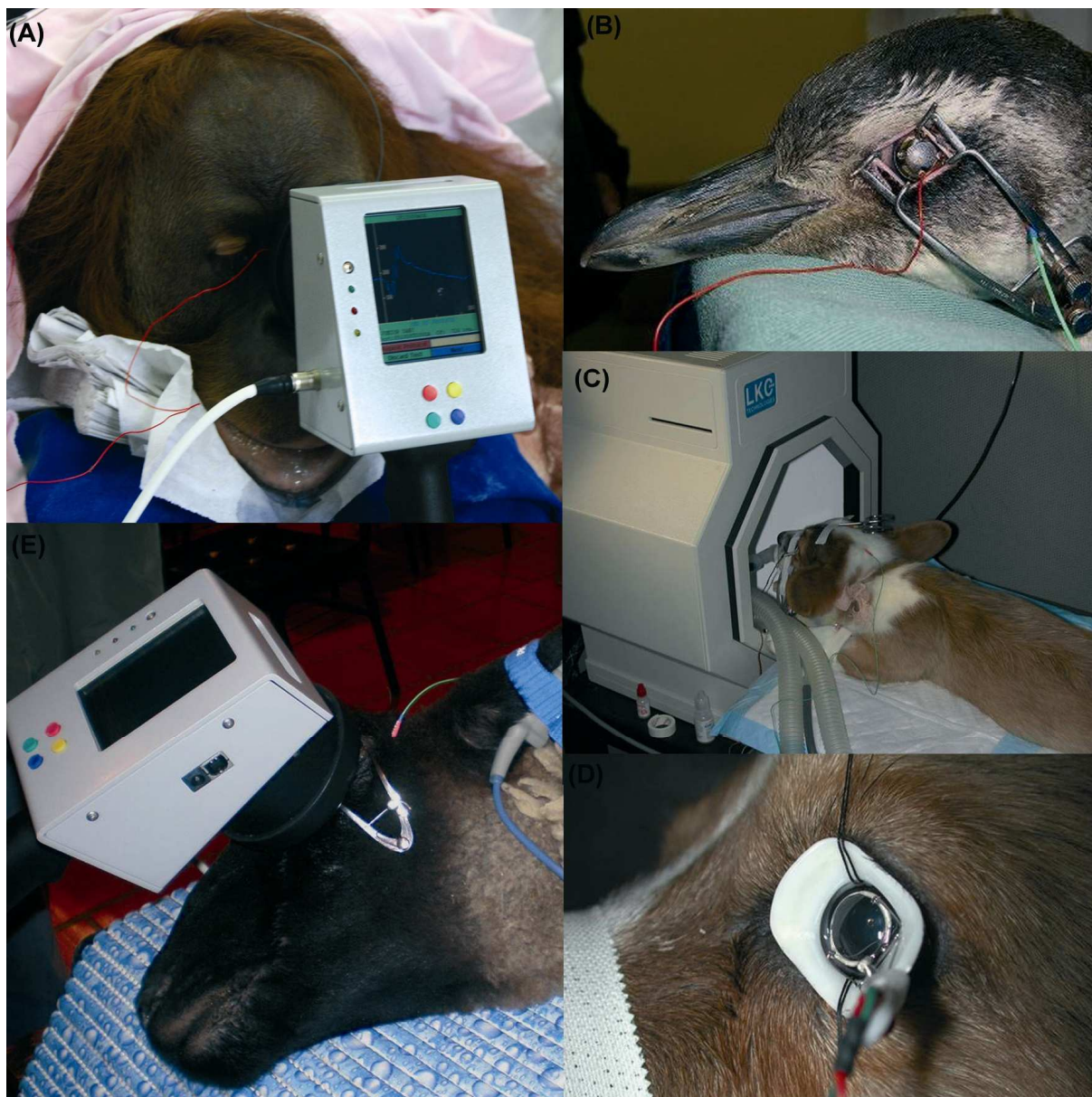


Figura 2.2- Exames eletrorretinográficos em várias espécies de animais. (A) Exame sendo realizado em um exemplar de orangotango (*Pongo pygmaeus*) empregando o aparelho de ERG HM sERG da marca RetVet (Columbia, MO); (B) Detalhe da localização do eletrodo monopolar do tipo “ERG-jet lens” e do eletrodo referência (próximo ao blefarostato) durante o exame em um exemplar de Pingüim-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*); (C) Detalhe de um estimulador de campo inteiro (Ganzfeld) da marca LKC (Gaithersburg, EUA) durante o exame em um cão (*Canis familiaris*) da raça Cardigan Welsh Corgi; (D) Detalhe da localização do eletrodo bipolar do tipo Burian-Allen no mesmo cão. Note os fios de sutura fixando o eletrodo na posição correta. (E) Ovelha (*Ovis aries*) da raça Suffolk durante exame empregando um HM sERG (RetVet Corp., Columbia, MO).

Segundo Miyake (2008), o eletrorretinógrafo é formado pelos eletrodos, a fonte de estímulo luminoso e o aparelho que capta e registra o estímulo. São três

eletrodos principais: o eletrodo que capta a resposta (“*recording electrode*”), o eletrodo referência (“*reference electrode*”) e o eletrodo “terra” (“*ground electrode*”). O primeiro fica localizado em contato com a córnea ou próximo à conjuntiva bulbar, sendo que o modelo mais utilizado é a lente de contato que possui um círculo de ouro para a condução do estímulo (ERG-jet lens). O eletrodo referência pode estar incorporado a lente de contato (no caso dos eletrodos bipolares) ou não (no caso dos eletrodos monopolares). Quando sozinho, deve estar localizado próximo a órbita, na região temporal, cerca de 3 a 5 cm do canto temporal do olho sendo examinado (Mentzer *et al.*, 2005). O eletrodo “terra” pode estar localizado em qualquer parte do corpo, sendo que normalmente é posicionado na orelha ou na região occipital.

O traçado do eletrorretinograma é composto por três ondas básicas (Figura 2.3). A onda “a” (onda inicial negativa), formada pelas correntes iônicas extracelulares geradas pelos fotorreceptores (cones e bastonetes). A onda “b” (onda positiva maior mais lenta) reflete principalmente a atividade das células bipolares da retina, que se encontram entre os fotorreceptores e as células ganglionares, transmitindo os sinais dos fotorreceptores para as células ganglionares (Heckenlively e Arden, 2006). A onda “c” (onda positiva de aparecimento bem mais tardio) está relacionada com a polarização do epitélio pigmentar da retina (EPR) (Gum, 1980) e pode ser observada quando é feito um tipo especial de ERG, o ERG de longos flashes. Enquanto as ondas “a” e “b” aparecem na escala de milisegundos, a onda “c” aparece na escala de segundos. O aparecimento da onda “c” no epitélio pigmentar da retina depende do fluxo de potássio das outras camadas da retina. Só que o fluxo extracelular de potássio depende da fototransdução. Portanto, a onda “c” pode nos dar um panorama da

fototransdução como um todo, da integridade do epitélio pigmentar da retina e da interação do EPR e do resto da retina. A pesquisa da onda “c” não é rotineira, geralmente só é pesquisada quando já se sabe que há algo errado com o ERG de flash-padrão e, conseqüentemente, com a retina.

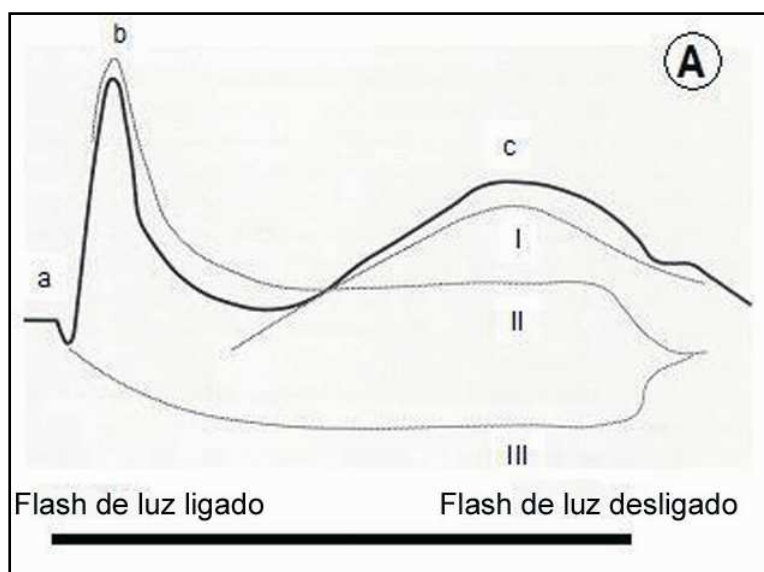


Figura 2.3 – Traçado esquemático de eletrorretinograma.
(A) potenciais de ação, ou componentes PI, PII e PIII.

2.5 Considerações Finais

Na Medicina Veterinária, o ERG é utilizado principalmente como exame pré-cirúrgico para a avaliação da retina em pacientes com catarata. Na oftalmologia de pequenos animais, também é útil para classificar e diagnosticar precocemente a atrofia progressiva de retina (PRA) (Figura 2.4), além de diferenciar a degeneração súbita adquirida de retina (SARD) da neurite óptica (Liapis, 2004)

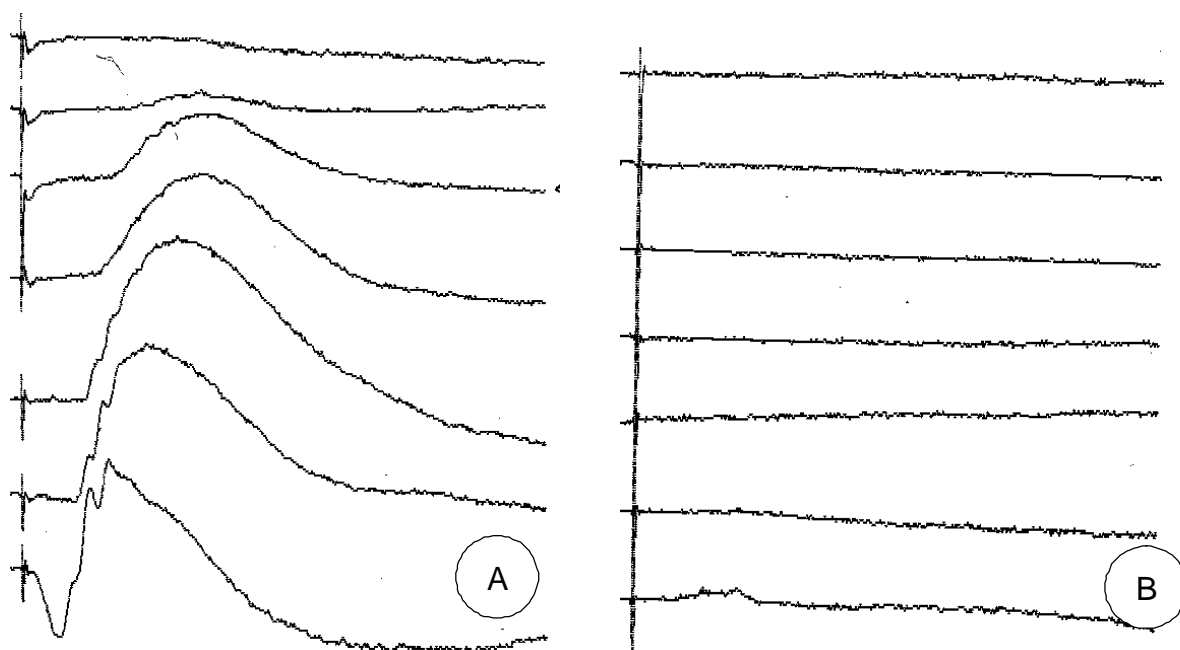


Figura 2.4- Traçados reais de eletrorretinograma dispostos como respostas a uma série de flashes de intensidade crescente. As respostas para os flashes de menores intensidades estão mais acima, passando para os de maior intensidade abaixo da figura. A) Note a resposta normal de um cão adulto da raça Cardigan Welsh Corgi. B) Série de respostas em um cão de mesma idade e raça sofrendo de atrofia de retina progressiva. Note o aspecto achatado, sem ondas “a” ou “b”.

No Brasil, o uso do eletrorretinógrafo na Medicina Veterinária ainda é recente, mas em amplo crescimento, visando principalmente o estudo das doenças da retina, vislumbrando ainda o estudo comparado entre animais e o homem.

2.6 Referências

ÁVILA, M. A Retina no Século XXI. In: **XXXII Congresso Brasileiro de Oftalmologia**. 2003, Salvador, BA.

Biografia Ragnar Arthur Granit. Nobel Prize. Disponível em:
http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1967/granit-bio.html.

Acesso em: 01/09/2008.

Biografia Emil Heinrich Du Bois Reymond. Enciclopédia Britannica Online.
Disponível em: www.britannica.com/EBchecked/topic/430067/ophthalmology.

Acesso em: 01/09/2008.

DANTAS, A.M. Eletrorretinografia. In: DANTAS,A.M; COSTA,J.G.C.;NETO,L.P.;
YAMANE,R.; ELIAS,C.A. **Eletrofisiologia Ocular**.1.ed. Rio de Janeiro: Editora
Cultura Médica, 1995. p.141-225.

EINTHOVEN, W.; JOLLY, W.A. Form And Magnitude Of The Electrical Response
Of The Eye To Stimulation By Light At Various Intensities. **Quarterly Journal of
Experimental Physiology**, n. 1, p.373-416, 1908.

GUM, G.G. Electrophysiology in veterinary ophthalmology. **Veterinary Clinics of
North America: Small Animal Practice**, v.10, p.437-454, 1980.

HECKENLIVELY, J.R. and ARDEN,G.B. **Principles and Practice of Clinical
Electrophysiology of Vision**. 2.ed. Massachusetts: MIT, 2006

KOMAROMY, A.M.; SMITH, P.J.; BROOKS, D.E. Electroretinography in dogs and
cats. Part I. Retinal morphology and physiology. **The Compendium on
Continuing Education**, v.20, p.343-354, 1998a.

KOMAROMY, A.M.; SMITH, P.J.; BROOKS, D.E. Electroretinography in dogs and
cats. Part II. Technique, interpretation and indications . **The Compendium on
Continuing Education**, v.20, p.355-366, 1998b.

LIAPIS,I.C. Electroretinography in Small Animal Practice. In: **29th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association**. 2004, Rhodes, Greece.

MENTZER, A. ; EIFLER, D. ; MONTIANI-FERREIRA, F. ; TUNTIVANICH, N. ; FORCIER, J.; PETERSEN-JONES, S. Influence Of Recording Electrode Type And Reference Electrode Position On The Canine Electroretinogram (erg). **Documenta Ophthalmologica**, v. 111, n. 111, p. 95-106, 2005.

MIYAKE, Y.; BRIGELL, M.; FULTON, A.; HOLDER, G. E.; MARMOR, M. Standard for clinical electroretinography (2008 update). In: **The ISCEV XLVI Annual Symposium**. 2008, Morgantown, USA.

OFRI,R; DAWSON,W.W; FOLI,K; GELLAT,K.N. Chronic ocular hypertension alters local retinal responsiveness. **British Journal of Ophthalmology**, v. 77, p. 502-508, 1993

PERLMAN, I. The Electroretinogram: ERG. Webvision. 2008. Disponível em: <http://webvision.med.utah.edu/ERG.html>. Acesso em: 04/09/2008.

PETERSEN-JONES, S.; TUNTIVANICH,N.; MONTIANI-FERREIRA, F.; KHAN,N. Electroretinograms of dog and chicken. In: HECKENLIVELY,J.R and ARDEN,G.B. **Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision**. 2.ed. Massachusetts: MIT, 2006, p.911-921.

PORTO,F.B.O. **Eletroretinografia Multifocal na Retinose Pigmentaria**. Belo Horizonte, 2004.174p. Dissertação (Doutorado em Medicina), Curso de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

ROUCK, A.F. History of Electroretinogram. In: HECKENLIVELY, J.R. and ARDEN, G.B. **Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision**. 2.ed. Massachusetts: MIT, 2006, p.3-10.

TROMPOUKIS, C; KOURKOUTAS, D. Greek mythology: the eye, ophthalmology, eye disease and blindness. **Canadian Journal of Ophthalmology**, v.42, p. 455-459, 2007.

WHEELER, J.R. History of ophthalmology through the ages. **British Journal of Ophthalmology**, v.30, n.5, p. 264–275, 1946.

3 RESPOSTAS ELETRORRETINOGRÁFICAS NORMAIS EM CARNEIROS SAUDÁVEIS

Resumo

A eletrorretinografia (ERG) é uma ferramenta para mensurar a função da retina e reflete indiretamente seu desenvolvimento. O objetivo deste estudo foi determinar parâmetros eletrorretinográficos em carneiros com quatro idades diferentes. Os exames foram realizados em 18 carneiros da raça Suffolk, sendo um grupo com 6 animais com 300 dias de idade e outro grupo com 12 animais de 30 dias de idade. Foram realizadas 4 ERGs (uma no primeiro grupo e três no segundo – 30, 37 e 60 dias de idade). Para o exame, os animais foram pré-medificados com diazepam e morfina intravenosa e 20 minutos após (adaptação ao escuro) anestesiados com a associação de propofol com cetamina intravenoso. O protocolo de ERG utilizado foi o ISCEV e os resultados analisados pelo teste ANOVA com teste *post hoc* de Fisher e coeficiente de variação. Nos testes escotópicos, não foram observadas diferenças nas amplitudes de onda “a” e “b”, mas a média do tempo implícito aumentou de $18,96 \pm 8,29$ para $28,66 \pm 8,93$ mseg na onda “a” e de $75,95 \pm 7,11$ para $84,05 \pm 8,55$ mseg na onda “b”, comparando entre 30 e 300 dias de idade num estímulo de 10 mcd s/m². Com um estímulo luminoso maior (10.000 mcd.s/m²), o tempo implícito da onda “b” aumentou de $35,08 \pm 5,14$ para $49,15 \pm 7,81$ comparando entre 30 e 300 dias de idade. Nos testes fotópicos houve uma diminuição da amplitude da onda “b” de $386 \pm 91,6$ para $266,66 \pm 86,77$ μ V, no tempo implícito da onda “a” de $11,76 \pm 0,72$ para $11,12 \pm 0,6$ mseg e da onda “b” de $29,85 \pm 2,61$ para $28,11 \pm 0,98$, comparando entre 30 e 60 dias de idade, assim como um aumento da razão b/a

de 5,39 para 6,14. Concluindo que o crescimento do cordeiro promoveu um desenvolvimento do traçado eletrorretinográfico com diminuição da amplitude e aumento do tempo implícito das ondas.

Palavras-chave: eletroretinografia, desenvolvimento da retina, ovinos, cordeiro

3.1 NORMAL ELECTRORETINOGRAPHIC RESPONSES IN HEALTH SHEEP.

Abstract

The electroretinogram (ERG) is a tool to measure the function of the retina and reflects, indirectly, its development. The purpose of this study was defining electroretinographic parameters in sheep with four different ages. Eighteen Suffolk sheep were examined and split into a group of 6 animals with 300 days of age and another group with 12 animals with 30 days old. Four ERGs were held (one in the first group and three in the second - 30, 37 and 60 days old). For the test, the animals were premedicated with diazepam and morphine intravenously and 20 minutes after (dark adaptation) anesthetized with the association of propofol and ketamine, intravenous. The ISCEV protocol was used and the results analyzed by ANOVA with *post hoc* Fisher and coefficient of variation. In the scotopic tests, there was no difference between a- and b-wave amplitudes, but the average implicit time increased from 18.96 ± 8.29 to 28.66 ± 8.93 msec in the a-wave and from 75.95 ± 7.11 to 84.05 ± 8.55 msec in b-wave, comparing between 30 and 300 days of age in a stimulus of 10 mcd.s/m^2 . When use the light stimulus of $10,000 \text{ mcd.s/m}^2$, the implicit time of the b-wave increased from 35.08 ± 5.14 to 49.15 ± 7.81 compared between 30 and 300 days of age. In the photopic tests, there was a decrease in amplitude of b-wave from 386 ± 91.6 to $266.66 \pm 86.77 \mu\text{V}$, the

implicit time of a-wave from 11.76 ± 0.72 to 11.12 ± 0.6 msec and b-wave from 29.85 ± 2.61 to 28.11 ± 0.98 , comparing between 30 and 60 days of age, as well as, an increase in the b / a ratio from 5.39 to 6.14. Concluding, that the growth of the lamb promoted a development of the electroretinogram with decreased amplitude and increased implicit time of the waves.

Key words: electroretinography, retinal development, ovine, sheep

3.2 Introdução

Em várias espécies, por exemplo, em seres humanos, o sistema visual é anatomicamente e funcionalmente imaturo (Saszik et al, 1999) antes do nascimento.

A eletrorretinografia (ERG) é uma ferramenta útil e não-invasiva para mensurar a função da retina (Strain et al, 1991; Komaromy et al, 1998; Heckenlively e Arden, 2006). Sabe-se que a maturação do ERG reflete, indiretamente, o desenvolvimento da retina (Hamilton et al, 2005).

Em ovelhas, a ERG é normalmente utilizada em experimentos científicos, mas existe apenas um trabalho publicado investigando ERG de carneiros saudáveis (Strain et al., 1991), não havendo, portanto, dados suficientes para o entendimento e comparação destas mensurações. O objetivo deste estudo foi determinar parâmetros eletrorretinograficos durante o crescimento de cordeiros em quatro idades diferentes.

3.3 Material e Métodos

As eletrorretinografias foram realizadas em dezoito carneiros da raça Suffolk. O primeiro grupo foi composto por seis animais de dez meses de idade (300 dias) e o segundo, doze cordeiros lactentes. Foram realizados quatro ERGs: uma no primeiro grupo e três no segundo grupo aos 30, 37 e 60 dias de idade.

Para o exame, os animais foram pré-medicados com diazepam na dose de 0,5 mg/kg (Compaz[®], Cristália, São Paulo, Brasil) e morfina na dose de 0,5 mg/kg (Dimorf[®], Cristália, São Paulo, Brasil), por via intravenosa e depois de anestesiados com propofol na dose de 3 mg/kg (Propovan[®], Cristália, São Paulo, Brasil) e cetamina (S+) na dose de 1 mg/kg (Ketamin-S(+)[®], Cristália, São Paulo, Brasil), também por via intravenosa. Para manter o nível anestésico adequado, um quarto da dose total de indução anestésica foi administrado aos 8 e 14 minutos após a mesma ser realizada.

Antes da indução anestésica, os animais receberam uma gota do colírio de tropicamida a 1% (Mydriacyl[®], Alcon, São Paulo, SP) no olho esquerdo, e em seguida, foram colocados o blefarostato e os eletrodos. Os eletrodos “terra” e “referência” (FD-E2-24, Grass Technologies, Astro-Medical, Inc., West Warwick, RI) foram posicionados na região axilar e a 2,5 cm do canto lateral do olho, respectivamente, e o eletrodo de contato (ERG-*jet*, Nicolet Instruments, Madison, WI) na superfície da córnea do olho esquerdo.

O protocolo de ERG utilizado foi o ISCEV (HM_sERG, RetVetCorp, Inc., Missouri, USA), constituído por:

- a) Tempo de adaptação ao escuro de 20 minutos para testes escotópicos;
- b) Tempo de adaptação ao claro (intensidade da adaptação de 30.000 mcd) de 10 minutos para testes escotópicos;

- c) As intensidades de *flashes* nos testes escotópicos foram: 10, 3.000 e 10.000 mcd.s/m²;
- d) As intensidades de *flashes* para os testes fotópicos e 30 Hz-flicker: 3.000 e 10.000 mcd.s/m².

Após todas as avaliações eletrorretinográficas os dados foram mensurados usando o programa ERGVIEWER, 2.1.1.0 (RetVetCorp, Inc., Missouri, EUA) e a análise estatística comparando as respostas obtidas na ERG foi realizada pelo teste ANOVA com *post hoc* de Fisher, considerando valores de $P < 0,05$ como significativos, utilizando o *software* Statview (SAS Institute Inc. Copyright © 1992-1998), e o coeficiente de variação.

3.4 Resultados

Todos os exames foram feitos sem nenhuma complicação anestésica. Não foram observadas diferenças nas amplitudes de onda “a” e “b” em nenhum dos testes escotópicos (Fig. 3.1 e 3.3), entretanto, a média do tempo implícito da onda “a” escotópica aumentou quando comparados os tempos 30 e 300 dias de idade (de $18,96 \pm 8,29$ para $28,66 \pm 8,93$ mseg) e também houve aumento da média do tempo implícito da onda “b” entre 30 e 300 dias (de $75,95 \pm 7,11$ para $84,05 \pm 8,55$ mseg) e de 60 e 300 (de $75,24 \pm 4,22$ para $84,05 \pm 8,55$ mseg), quando utilizado estímulo de 10 mcd s/m² (Fig. 3.2 e 3.3).

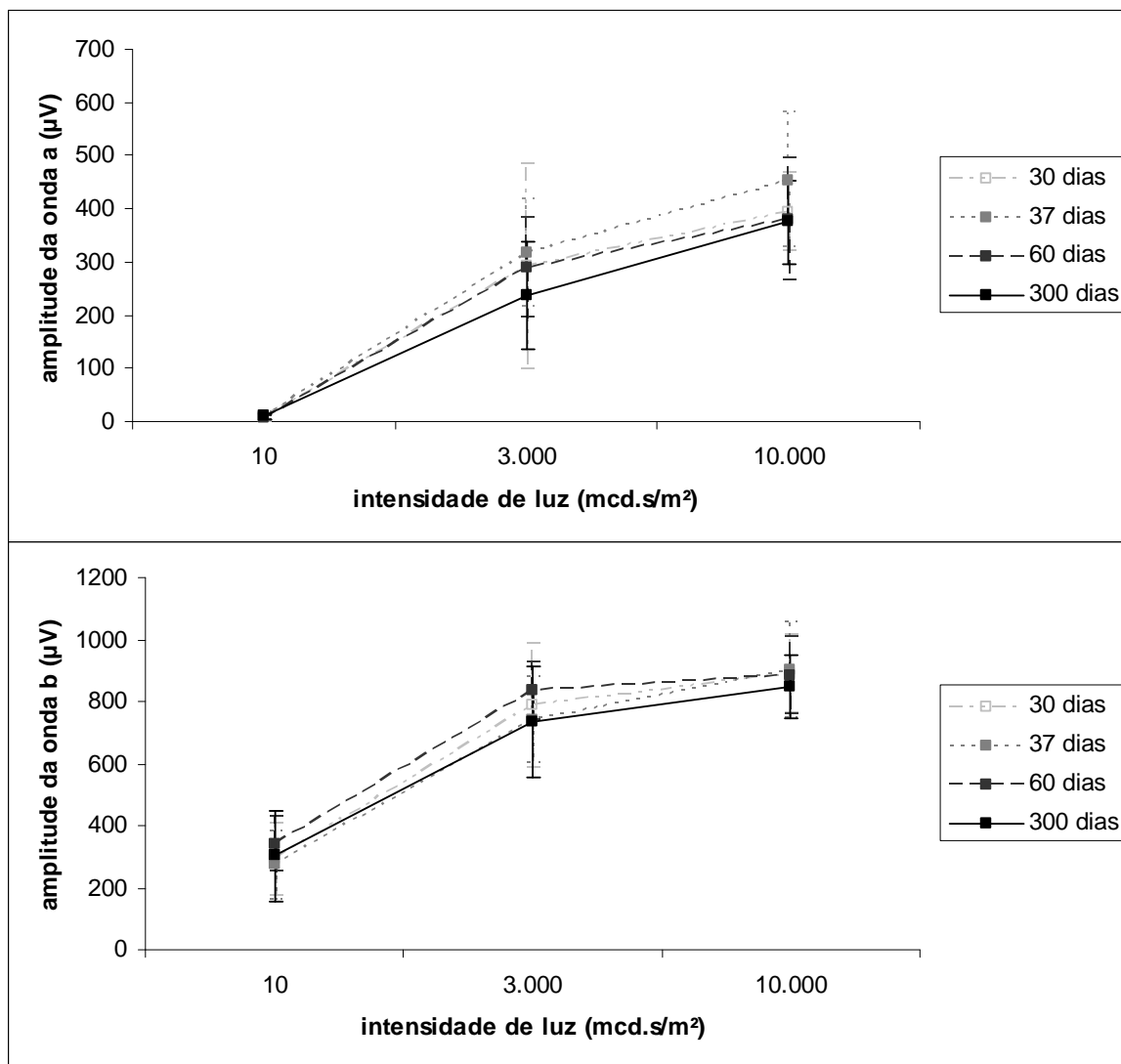


Figura 3.1- Valores de amplitude das ondas “a” e “b” observados nos testes escotópicos de ERG nos tempos 30,37, 60 e 300 dias de idade, nas intensidades de 10, 3.000 e 10.000 mcd.s/m².

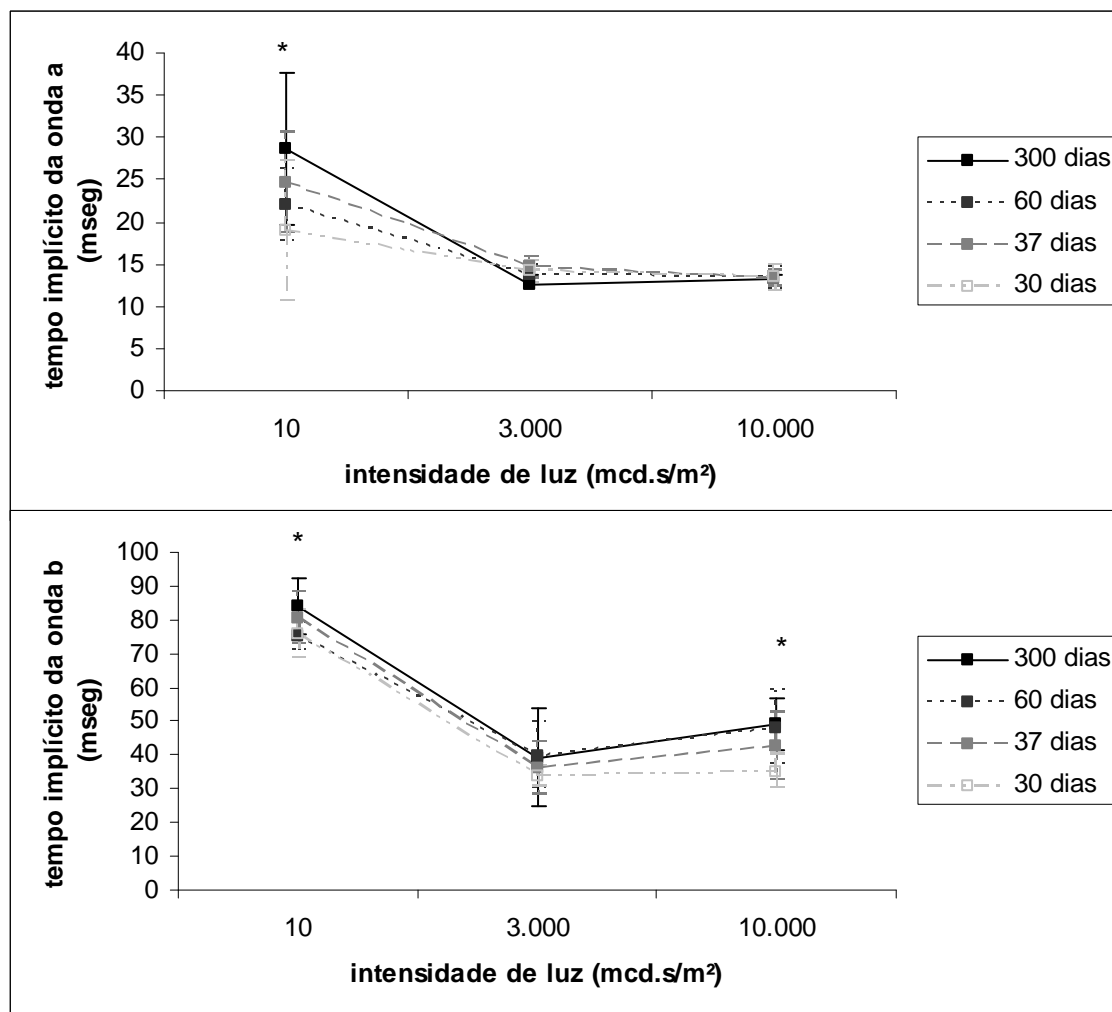


Figura 3.2- Valores de tempo implícito das ondas “a” e “b” observados nos testes escotópicos de ERG nos tempos 30,37, 60 e 300 dias de idade, nas intensidades de 10, 3.000 e 10.000 mcd.s/m².

* Valores com diferença estatística significante. ($P < 0,05$)

Com o estímulo luminoso de 10.000 mcd.s/m², as médias escotópicas do tempo implícito da onda “b” aumentaram nas idades 30 para 37, 30 para 60 e também 30 para 300 (de $35,08 \pm 5,14$ para $42,59 \pm 10,09$; $35,08 \pm 5,14$ para $48,18 \pm 11,02$ e $35,08 \pm 5,14$ para $49,15 \pm 7,81$ msec, respectivamente) (Fig. 3.2 e 3.3). Do mesmo modo, a razão b/a mostrou um aumento quando comparados as idades 37 e 60 (de 2,042 para 2,457). É possível observar na tabela 3.1, os

valores médios de amplitude, tempo implícito e a razão b/a encontrados na intensidade de *flash* de 10.000 mcd.s/m².

Tabela 3.1- Valores médios das amplitudes e tempo implícito de ondas “a” e “b” com desvio padrão nas idades de 30, 37, 60 e 300 dias, resposta escotópica num *flash* de intensidade de 10,000 mcd.s/m².

Idade (dias)	Média da Amplitude da onda a (µV)+ DP	Média do tempo implícito Da onda a (mS) + DP	Média da Amplitude da onda b (µV)+ DP	Média do tempo implícito da onda b (mS) + DP	Média da razão b/a
30	394,33±72,21	13,42±1,58	889,75±126,08	35,08± 5,14	2,29±0,31
37	454,27±126,67	13,33±0,94	900,45±154,37	42,59±10,09*	2,04±0,35
60	379,4±115,44	13,47±1,32	883±123,30	48,18±11,02*	2,45±0,5*
300	374,66±77,61	13,28± 0,44	847,17±103,5	49,15±7,81*	2,3±0,39

*Valores com diferença estatística significativa. ($P<0,05$).

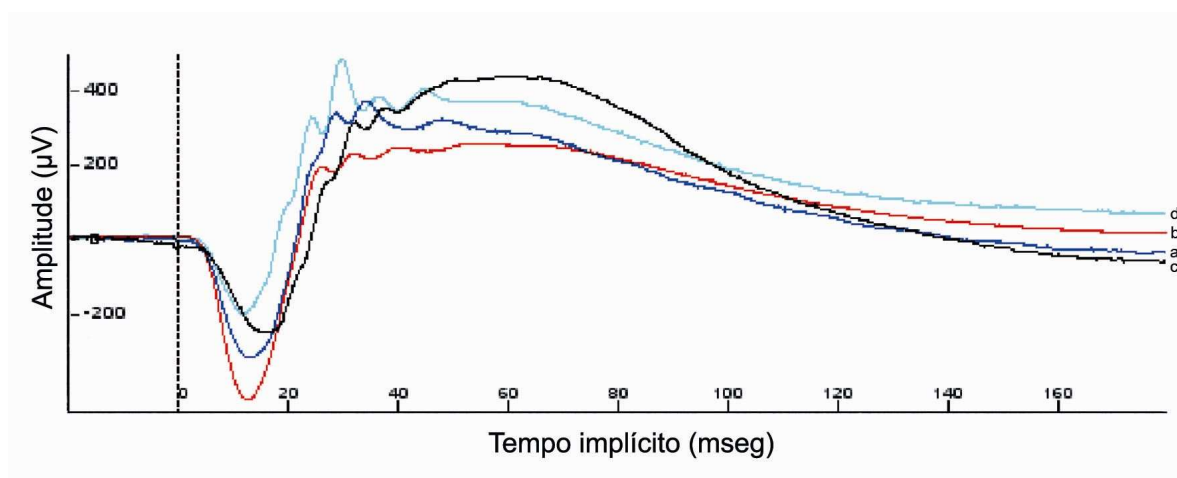


Figura 3.3- Traçados eletrorretinográficos representativos dos animais com: (a) 30 dias, (b) 37 dias, (c) 60 dias e (d) 300 dias, na intensidade de luz de 10.000 mcd.s/m².

Sobre a resposta fotópica, não houve diferenças nos valores de amplitude da onda “a”, mas foi encontrada uma diminuição da média da amplitude de onda “b” de 60 a 300 dias de idade (de $386 \pm 91,6$ para $266,66 \pm 86,77$ µV) (Fig. 3.4), assim como uma diminuição da média do tempo implícito da onda a de 30 a 60

dias de idade ($11,76 \pm 0,72$ para $11,12 \pm 0,6$ mseg) (Fig. 3.5) e a razão b/a de 60 para 300 dias de idade (5,39 para 5,29), com flash de 3.000 mcd.s/m^2 . Neste mesmo estímulo, houve aumento da média da razão b/a de 30 para 60 dias (5,39 to 6,14).

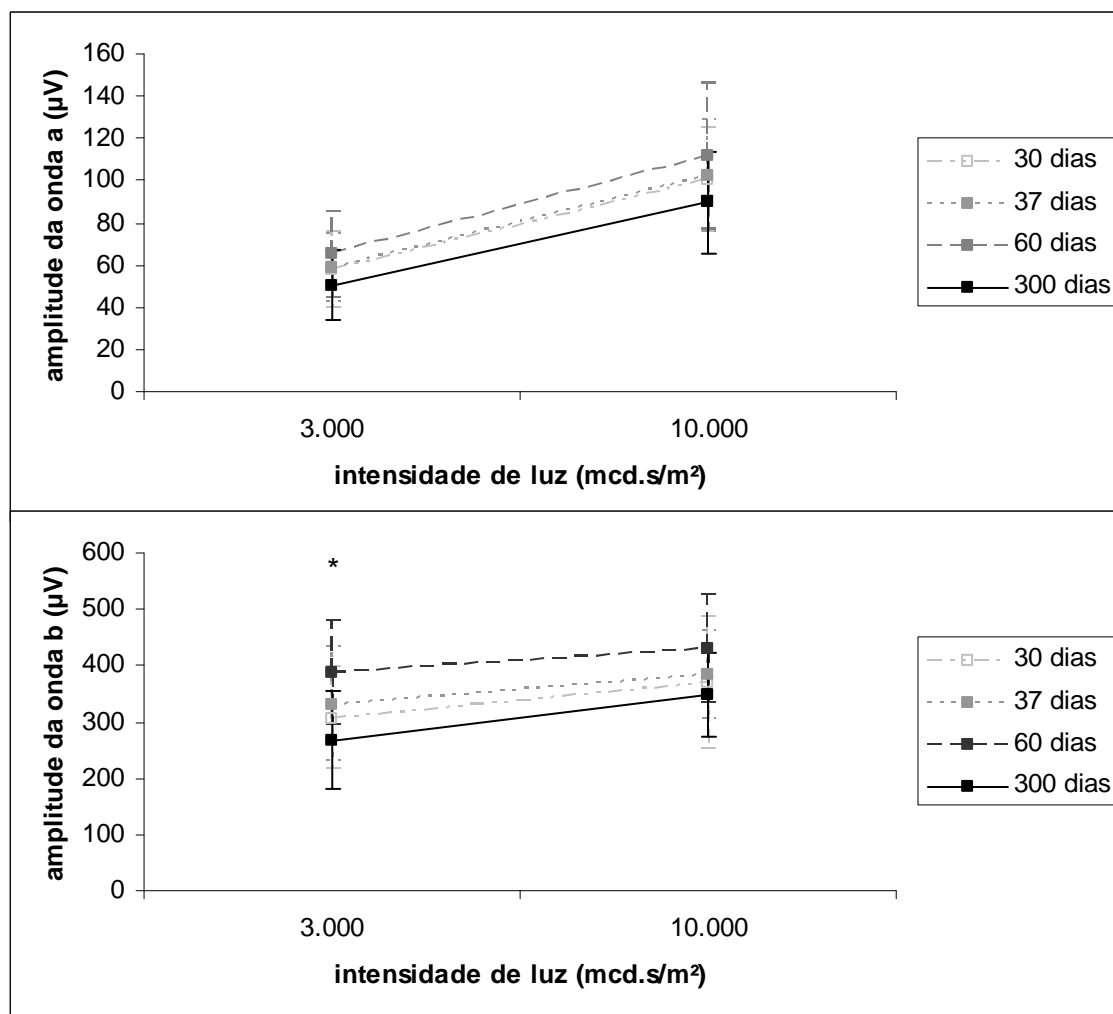


Figura 3.4- Valores de amplitude da onda “a” e “b” nos testes fotópicos nos tempos 30, 37, 60 e 300 dias de idade com intensidades de luz de 3.000 e 10.000 mcd.s/m^2 .

* Valores com diferença estatística significativa ($P < 0,05$).

Outro decréscimo significativo apareceu na média do tempo implícito fotópico da onda “b” quando comparados os dias 30 e 60 (de $29,85 \pm 2,61$ para $28,11 \pm 0,98$ mseg) (Fig. 3.5).

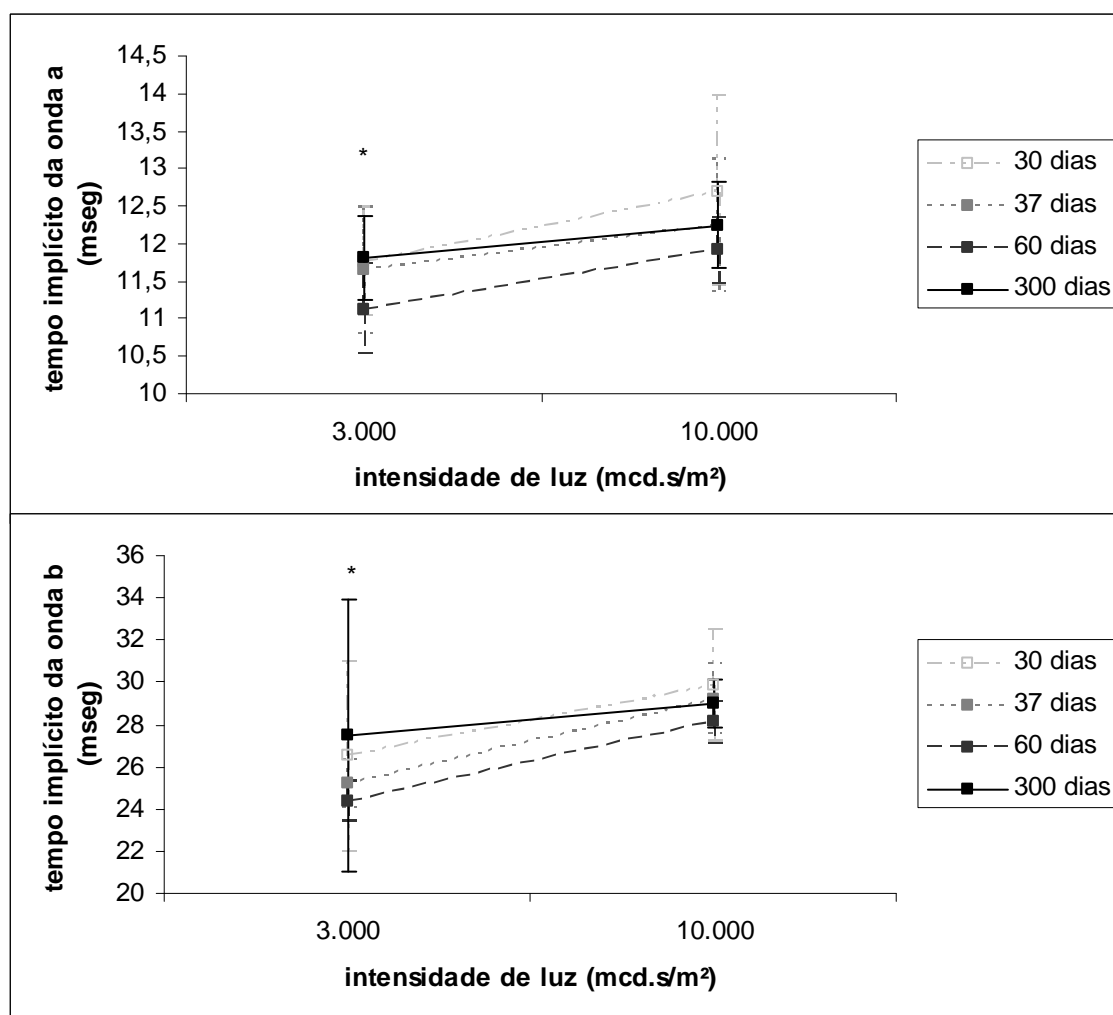


Figura 3.5- Valores de tempo implícito das ondas “a” e “b” nos testes fotópicos nos tempos 30, 37, 60 e 300 dias, nas intensidades de 3.000 e 10.000 mcd.s/m².

* Valores com diferença estatística significativa ($P < 0,05$).

Houve grande variação da amplitude e tempo implícito para a onda “a”, quando a intensidade de luz de 10 mcd.s/m² foi empregada. Houve também maior variação do tempo implícito da onda “b” comparativamente a “a”. Assim como maior variação na amplitude da onda “a” quando comparada com a onda “b”, nos testes escotópicos (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 - Coeficiente de variação das amplitudes e tempo implícito das ondas “a” e “b”, nos testes em que houve diferença significativa (escotópico – 10 e 10.000 mcd.s/m² e fotópica 3.000 e 10.000 mcd.s/m²).

tipo de Teste	intensidade de luz (mcd.s/m ²)	Coeficiente de variação			
		amplitude da onda a	tempo implícito da onda a	amplitude da onda b	tempo implícito da onda b
Escotópico	10	0,65	0,32	0,38	0,09
Escotópico	3.000	0,43	0,05	0,2	0,12
Escotópico	10.000	0,24	0,08	0,14	0,19
Fotópico	3.000	0,3	0,05	0,29	0,06
Fotópico	10.000	0,27	0,12	0,24	0,05

3.5 Discussão

Todos os achados eletrorretinográficos deste experimento podem ser considerados normais no desenvolvimento da ERG em carneiros em futuras investigações com protocolos anestésicos similares, somando-se aos demais trabalhos com ERG em carneiros saudáveis (Strain et al., 1991).

No presente estudo foram utilizados animais em quatro idades diferentes, desde um até dez meses. O sistema visual de ovinos, para a maioria das medidas, é maduro ao nascimento. O desenvolvimento histológico do córtex de ungulados é completo ao nascer e já possuem resposta à ameaça em uma ou duas semanas depois (Strain et al., 1991).

O resultado obtido por Strain et al (1991) com relação ao tempo implícito da onda “a” foi bem similar ao obtido neste estudo quando houve o estímulo com *flash* de 10.000 mcd.s/m², pós adaptação ao escuro. Naquele estudo, porém, foram utilizados dois *flashes* de luz com intensidade de 19.000 mcd e filtros para oscilações de 1 e 100 Hz e no presente estudo foram utilizados três diferentes intensidades mais baixas de luz (10, 3.000 e 10.000 mcd.s/m²). Mesmo assim as

amplitudes médias obtidas para as ondas “a” e “b” no presente estudo foram mais altas que as encontradas por Strain et al (1991).

Sabe-se que as respostas de ERG são dependentes do estímulo luminoso utilizado. Se aumentar o estímulo, a amplitude das ondas tende a aumentar e o tempo implícito tende a diminuir (Perlman, 2008).

Em seres humanos, o ERG de crianças é bem parecido com um ERG maduro (adulto). A tendência é a amplitude diminuir com o tempo de vida e o tempo implícito ter um pequeno aumento ou nenhuma mudança (Creel, 2009), como o observado nos carneiros deste experimento (Fig. 3.3), com a diminuição da amplitude da onda “b” nos carneiros adultos e o aumento no tempo implícito no menor e maior estímulo luminoso escotópico durante o crescimento dos animais.

O aumento no tempo implícito mostra que o processo de fototransdução acontece mais rápido em animais jovens, e com o passar do tempo o processo demora um pouco mais para acontecer. Já a amplitude das ondas eletrorretinográficas tende a diminuir, provavelmente pelo fato de que com o desenvolvimento do animal pode-se vir a ter mais “barreiras” entre a entrada da luz até a sua chegada na retina, tais como esclerose do cristalino, catarata, opacificações de córnea, fazendo com que a resposta de amplitude captada seja menor do que em animais mais jovens.

A comparação de coeficientes de variação das amplitudes e tempos implícitos das ondas “a” e “b” é bastante eficaz para facilitar a compreensão dos resultados obtidos (Tabela 3.2), uma vez que essa não tem dimensão (unidade). O coeficiente de variação não precisa do mesmo contexto das médias dos dados e, assim sendo, variações provenientes de dados não similares tais como amplitude e tempo implícito podem ser diretamente comparadas.

O grande coeficiente de variação do tempo implícito da onda “a” no teste escotópico de intensidade mais baixa (10 mcd.s/m²), deve-se ao fato da demora da adaptação da retina aos *flashes* e sendo eles de baixa intensidade as variações se tornam normais. O que não se observa nos testes fotópicos que são feitos com intensidades maiores de luz, pois quanto maior a intensidade, menor a variação existente.

Sumariamente, o crescimento de cordeiros promove um desenvolvimento do traçado eletrorretinográfico com a diminuição da amplitude e aumento do tempo implícito. Tais parâmetros poderão ser de grande valia em novas pesquisas ou até mesmo na rotina oftalmológica em carneiros.

3.6 Referências

- CREEL,D. The Electroretinogram: Clinical Applications. **Webvision**. 2009. Disponível em: <http://webvision.med.utah.edu/ERG.html>. Acesso em: 01/08/2009.
- HAMILTON,R.; DUDGEON,J.; BRADNAM,M.S.; MACTIER,H. Development of the electroretinogram between 30 and 50 weeks after conception. **Early Human Development**. v.81, n.5, p.461-464, 2005.
- HECKENLIVELY, J.R. e ARDEN,G.B. **Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision**. 2.ed. Massachusetts: MIT, 2006. 977p.
- KOMAROMY, A.M.; SMITH, P.J.; BROOKS, D.E. Electroretinography in dogs and cats. Part I. Retinal morphology and physiology. **The Compendium on Continuing Education**, v.20, p.343-354, 1998.
- PERLMAN, I. The Electroretinogram: ERG. **Webvision**. 2008. Disponível em: <http://webvision.med.utah.edu/ERG.html>. Acesso em: 04/09/2008.

SASZIK,S.; BILOTTA,J.; GIVIN,C.M. ERG assessment of zebrafish retinal development. **Visual Neuroscience**. v.16, p.881-888,1999.

STRAIN, G.M.; CLAXTON, M.S.; PRESCOTT-MATHEWS, J.S.; LAPHAND,D.J. Electroretinogram and Visual-evoked potencial measurements in sheep. **Canadian Journal of Veterinary Research**. v.55, p.1-4, 1991.

4 ASSOCIAÇÃO DE PROPOFOL E CETAMINA S(+) PARA ELETORRETINOGRRAFIA EM OVELHAS ADULTAS

Resumo:

O objetivo deste estudo foi investigar o uso da associação de propofol e cetamina S(+) como agente anestésico para ERG em ovinos. As ERGs foram realizadas em doze carneiros, utilizando o protocolo ISCEV, sendo 20 minutos de adaptação ao escuro seguido por 3 testes (escotópicos), 10 minutos de adaptação à luz seguido de 4 testes (fotópicos) com intensidades de luz variando de 10, 3.000 e 10.000 mcd.s/m². Os carneiros foram pré-medicados por via intravenosa com 0,5 mg/kg de diazepam e 0,5 mg/kg de morfina e 20 minutos após foi induzida à anestesia com 5 mg/kg de cetamina S (+) (GC - 6 animais) ou com a associação de 3 mg/kg de propofol e 1 mg/kg cetamina S(+) (GPC - 6 animais). Metade da dose de indução no GC e um quarto no GPC foram administrados após 10 minutos para manter o nível anestésico. Os parâmetros fisiológicos avaliados foram: temperatura retal, frequência respiratória, frequência cardíaca, pressão arterial não-invasiva, saturação de oxigênio no sangue. A sensibilidade corneana foi mensurada usando um estesiômetro de Couchet-Bounnet (Luneau Ophtalmologie, FRA). As análises estatísticas para comparar as respostas das ERGs e todos os parâmetros fisiológicos foram realizados utilizando o teste *t* e ANOVA e para a estesiometria o teste de Fisher. Todos os carneiros do GPC e nenhum do GC apresentaram acinesia e centralização do globo. Os animais GC necessitaram de sutura para fixar o globo ocular durante a realização da ERG. Embora os valores de amplitude escotópica no GPC sejam superiores na onda "a" (374,67 x 267,5 µV) e na onda "b" (847,17 x 742,83 µV) usando um estímulo de 10.000 mcd.s/m², não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em nenhum teste da ERG. Não houve diferenças significativas na sensibilidade

da córnea, a temperatura retal, frequência cardíaca, frequência respiratória, SpO₂ e pressão arterial média. Observou-se valores superiores de pressões sistólica e diastólica arterial imediatamente após a indução anestésica em GPC comparado com GC (P <0,05), mas, exceto pelo aumento da pressão arterial diastólica, imediatamente após a indução anestésica em GPC (P <0,05), não foi observada diferença significativa em nenhum dos parâmetros da anestesia comparada com o momento antes do procedimento nos dois grupos. A associação das doses propostas de propofol e cetamina promoveu acinesia e centralização do globo, facilitando o exame ERG, sem importantes alterações eletrorretinográficas e fisiológicas.

Palavras-chave: onda “b”, ovinos, dissociativa, anestesia

4.1 Association Of Propofol And (S) Ketamine For Electroretinography In Adult Sheep.

Abstract

The purpose of this study is investigating the use of the combination of (S) ketamine and propofol as anesthetic agents for ERGs in sheep. ERGs were performed in twelve sheep using the ISCEV protocol (HM_sERG, RetVetCorp, Inc., Columbia, Missouri), 20 minutes of dark adaption followed by 3 tests than 10 minutes of light adaption followed by 4 tests (intensities varying 10, 3000 and 10000 mcd.s/m²). The sheep were premedicated intravenously with 0.5 mg/kg of diazepam and 0.5 mg/kg of morphine and after 20 minutes the anesthesia was induced with S(+)-ketamine (GC – 6 animals) or with the combination of 3 mg/kg of propofol and 1 mg/kg of (S) ketamine (GPC – 6 animals). Half of induction dose in GC, and a quarter in GPC, was administered after 10 minutes to maintain the

anesthetic level. The following physiologic parameters were evaluated: rectal temperature, respiratory rate, cardiac rate, non-invasive arterial blood pressure, blood oxygen saturation. Corneal sensitivity was measured using a Couchet-Bounnet (Luneau Ophtalmologie, FRA) esthesiometer. Statistical analyses to compare ERG responses and all the physiologic parameters were performed using *t* test and ANOVA, and the Fisher test for esthesiometry. All sheep of GPC and none of GC presented akinesia and centralization of the globe. The GC animals needed to have the globe fixed to perform the ERG. Although the slight superior values in GPC of scotopic a-wave (374.67 x 267.5 μ V) and b-wave (847.17 x 742.83 μ V) amplitude using a stimulus of 10,000 mcd.s/m², was not observed significant differences between the groups in any ERG test. No significant differences in corneal sensitivity, rectal temperature, cardiac rate, respiratory rate, SpO₂ and mean arterial pressure were found. Was observed superior values in diastolic and systolic arterial pressures immediately after the anesthetic induction in GPC compared with GC ($P < 0.05$), but except by the increase in diastolic arterial pressure immediately after the anesthetic induction in GPC ($P < 0.05$), was not observed significant statistic difference in any anesthetic parameters compared with the moment before the procedure in both groups. The association of the purposed doses of propofol and ketamine promote akinesia and centralization of the globe, facilitating the ERG exam, without important electroretinographic and physiologic alterations.

Key-words: b-wave, ovine, dissociative, anesthesia

4.2 Introdução

A eletrorretinografia (ERG) é um método rápido e não-invasivo de avaliar a função da retina, usado na rotina clínica como exame pré-cirúrgico de catarata além de auxiliar em diagnósticos de algumas doenças retinianas e centrais (Narfström et al., 2002).

Animais, normalmente, devem ser sedados ou anestesiados para permitir a colocação dos eletrodos e prevenir movimento, porém, diversos estudos mostram que agentes anestésicos podem interferir nos resultados do exame de ERG (Tanskanen et al.; 1996; Yanase et al, 1997; Chaudhary et al, 2003; Kommonen et al, 2007; Woodward et al, 2007; Lin et al, 2009). Estudos eletrorretinográficos quantitativos precisos, podem ser comparados apenas quando os protocolos anestésicos são similares (Woodward et al, 2007). O estabelecimento de um protocolo anestésico para cada espécie, que associe segurança, praticidade, indução e despertar rápidos, acinesia palpebral e ocular e pouca alteração na amplitude e tempo das ondas do traçado do ERG é desejável tanto para procedimentos de rotina como para pesquisas comparativas.

O propofol (2,6 di-isopropilfenol), amplamente utilizado na rotina clínico-cirúrgica, é um anestésico geral injetável de curta duração que potencializa o ácido gama-aminobutírico (GABA), nos receptores GABA_A (Bali & Akabas, 2004) existentes inclusive na retina (Wässle et al., 1998) e promove um significativo aumento da amplitude das ondas “b” escotópicas no ERG de cães (Kommonen et al, 2007). Em carneiros não existem estudos sobre a ação do propofol no ERG, mas de maneira similar a outras espécies, o propofol possibilita uma anestesia com boa estabilidade cardiovascular e curto período de recuperação (Lin et al., 1997), porém podendo causar depressão respiratória (Smith et al., 1994).

A cetamina é um anestésico dissociativo utilizado na rotina clínica de carneiros, porém está associada a movimentos palpebrais involuntários e reflexo corneal (Nowrouzian et al., 1981). Em cães a associação de cetamina com xilazina ou detomidina não deprime a resposta elétrica da retina como o halotano ou o sevoflurano (Yanase & Ogawa, 1997; Lee et al., 2009), porém pode promover rotação do bulbo ocular, necessitando assim de suturas para seu posicionamento (Kommonen & Raitta, 1987). A cetamina S(+) possui uma potência de duas a quatro vezes maior que a mistura racêmica, reduzindo a dose, o tempo de recuperação e as reações adversas (Intelisano et al., 2008; Duque et al., 2008).

A associação de cetamina e propofol possui melhor estabilidade cardiovascular e um tempo de recuperação mais curto que a cetamina isolada (Green, 2007), devido aos efeitos hemodinâmicos e respiratórios, os quais são antagônicos entre as duas drogas (Willman et al., 2007). Em carneiros, esta associação promoveu melhores padrões respiratórios que o propofol isolado (Correia et al., 1996). Esta associação pode atender as exigências do ERG em carneiros. Desta maneira, o objetivo do presente estudo foi comparar o efeito da combinação de propofol e cetamina S(+) com a cetamina S(+) isolada em carneiros pré-medicados com morfina e midazolam na formação de ondas e nas demais exigências mencionadas para o ERG.

4.3 Material e Métodos

Doze ovelhas Suffolk, com idade entre 10 e 12 meses, peso entre 42,5 e 58 kg e livres de sinais clínicos de doenças foram anestesiados para realização de ERG após passarem por restrição hídrico-alimentar de 24 horas. Os animais

foram pré-medicados com diazepam (Compaz®, Cristália, São Paulo) a 0,5 mg/kg e cloridrato de morfina (Dimorf®, Cristália, São Paulo) a 0,5 mg/kg, por via intravenosa e adaptados em sala escura durante 20 minutos, em decúbito lateral direito sobre uma mesa emborrachada, instilando 2 gotas de colírio de tropicamida 1% (Mydriacyl®, Alcon, São Paulo, SP) no olho esquerdo. Os carneiros do grupo C (GC – n=6) foram anestesiados com cetamina S(+) e os do grupo PC (GPC – n=6) com propofol e cetamina S(+).

Depois dos 20 minutos de adaptação ao escuro, a anestesia foi induzida nos animais do GC com cloridrato de S(+) cetamina (Ketamin-S(+))®, Cristália, São Paulo) intravenoso a 5 mg/kg administrado durante 60 segundos, e *bolus* suplementar de 2,5 mg/kg foi injetado 10 minutos após a indução. No GPC, propofol (Propovan®, Cristália, São Paulo) a 3 mg/kg e cloridrato de S(+) cetamina (Ketamin-S(+))®, Cristália, São Paulo) a 1mg/kg foram misturados na mesma seringa e administrados intravenosamente durante 60 segundos. *Bolus* intravenoso de propofol (0,75 mg/kg) e cetamina S(+) (0,25 mg/kg), foi administrados após 10 minutos. As doses e necessidade de repetições foram determinadas em estudo piloto com o objetivo de proporcionar acinesia palpebral suficiente para suportar o blefarostato e promover a contenção pelo período de 15 a 20 minutos correspondente a duração do ERG.

Não foi ofertado suporte ventilatório e os animais permaneceram sob respiração espontânea ao ar atmosférico. Avaliação estesiométrica do olho esquerdo, utilizando estesiômetro corneal de Couchet-Bonnet (Luneau Ophthalmologie, FRA) foi realizada imediatamente após a indução anestésica, para avaliar a sensibilidade da córnea e permitir o posicionamento do eletrodo. A distribuição dos valores do teste estesiométrico são expressos de maneira não

paramétrica a cada 0,5 pontos, variando de 0 (sem sensibilidade corneal) até 6 (máxima sensibilidade corneal).

Foram mensuradas as frequências cardíaca e respiratória, a pressão arterial não-invasiva oscilométrica, com manguito pediátrico posicionado ao redor da tíbia esquerda e a saturação parcial de oxigênio na hemoglobina, usando um monitor multiparamétrico IntelliVue MP40 (Phillips Healthcare, ALE), em intervalos de 5 minutos, até o término do procedimento.

Quando ocorria a rotação do globo ocular, o mesmo era tracionado e centralizado com nylon 3-0 na região superior da esclera. O eletrodo “terra” (*Ground*) e o eletrodo referência (FD-E2-24, Grass Technologies, Astro-Medical, Inc., West Warwick, RI) foram alocados subdermais logo abaixo da axila esquerda e a 2,5 cm do canto lateral do olho esquerdo, respectivamente. Foi utilizado o eletrodo de córnea modelo ERG jet (Nicolet Instruments, Madison, WI), posicionado com o auxílio de blefarostato.

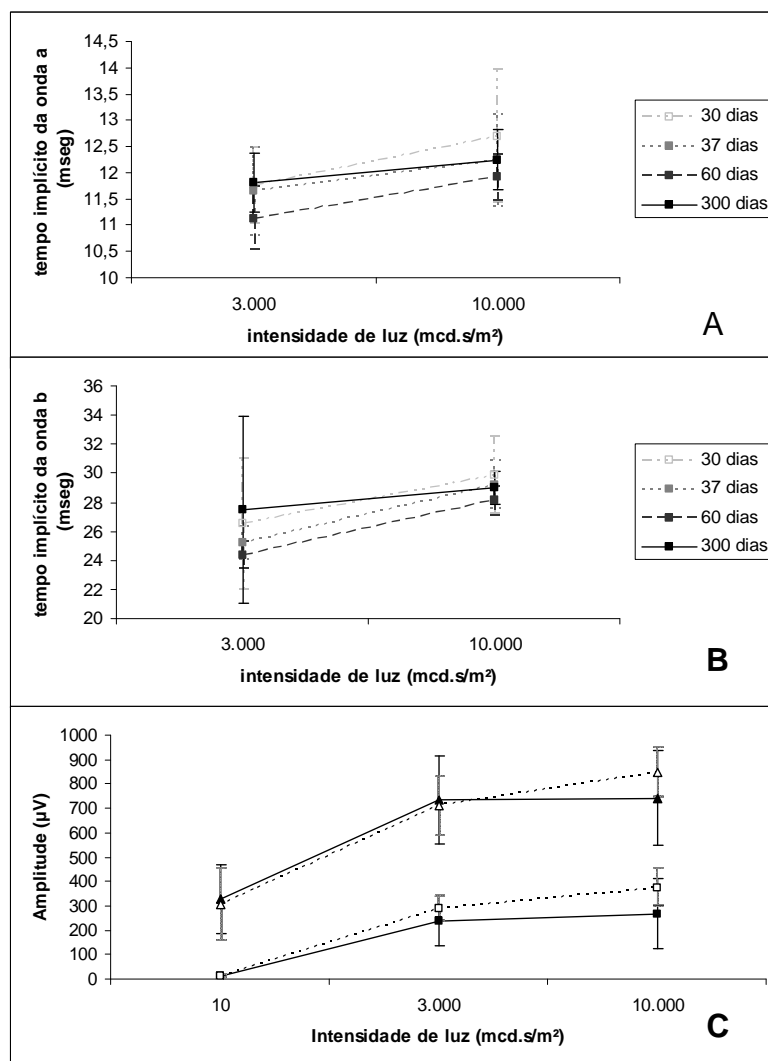
A ERG foi realizada por meio do eletrorretinógrafo portátil HMsERG (RetVetCorp Inc., Missouri, EUA) com protocolo ISCEV, calibrado pela empresa fabricante. O protocolo é realizado em 7 etapas, sendo que os três primeiros testes após a adaptação ao escuro (20 minutos) e os quatro subseqüentes após adaptação ao claro - iluminação própria do aparelho - (10 minutos). A intensidade da luz diferiu conforme o teste realizado, utilizando-se 10 mcd.s/m², 3000 mcd.s/m² ou 10000 mcd.s/m². A adaptação a claro teve a intensidade de luz de 30000 mcd. Os traçados eletrorretinográficos foram processados utilizando o *software* ERGVIEWER, Versão 2.1.1.0 (RetVetCorp, Inc., Missouri, EUA).

O despertar anestésico foi considerado o momento em que os carneiros eram capazes de espontaneamente manter a cabeça levantada. A indução anestésica foi considerada como tempo 0 para todas as mensurações.

Os resultados encontrados no ERG e os parâmetros fisiológicos foram analisados estatisticamente como o *software* Statview, versão 5.0.1 (SAS Institute Inc., EUA) empregando-se o teste T não pareado para comparação entre grupos e ANOVA para comparação entre momentos em cada grupo, com avaliação *post-hoc* pelo método de Tukey. Os dados não paramétricos de estesiometria foram estudados pelo teste de Fischer. Foi considerado significativo $P < 0,05$.

4.4 Resultados

Após a medicação pré-anestésica, as ovelhas permaneceram espontaneamente deitadas em decúbito lateral direito durante a adaptação ao escuro. O ERG durou entre 36 e 39 minutos (tempo total do exame desde a adaptação ao escuro) e o plano anestésico foi adequado para a realização do exame em todas as ovelhas. Os seis animais do GC apresentaram rotação do bulbo e tiveram seus olhos posicionados mecanicamente. Não ocorreu rotação do bulbo no GPC. A sensibilidade corneal após a indução anestésica variou entre 0,5 e 1, não sendo observada diferença entre os grupos.



Não foi evidenciada diferença significativa na amplitude (Figura 4.1) e tempo implícito (Figura 4.2) das ondas “a” ou “b” após adaptação ao escuro e ao claro e na onda “b” do teste *flicker* entre os dois grupos nos traçados

eletroretinográficos estudados, porém uma menor interferência elétrica foi percebida no GPC (Figura 4.3).

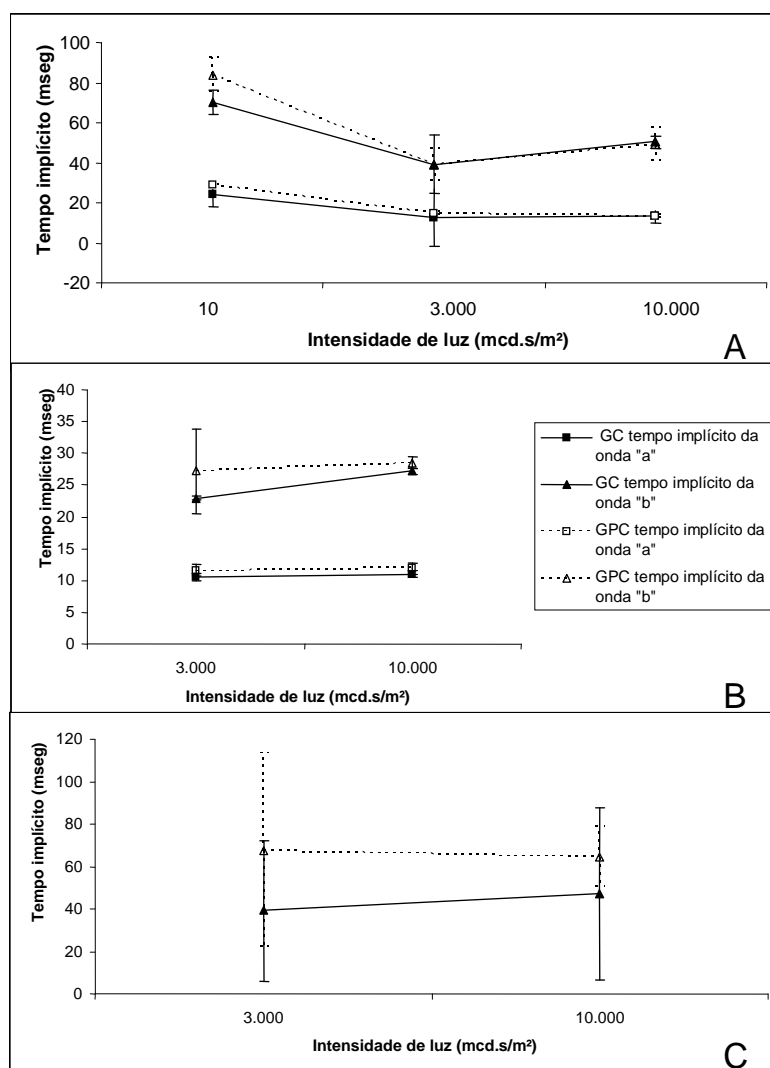


Figura 4.2 – Tempo implícito das ondas “a” e “b” do exame eletroretinográfico de ovelhas anestesiadas com cetamina S(+) (GC) ou pela associação de propofol + cetamina S(+) (GPC). A) Após adaptação ao escuro de 20 minutos, resultados das 3 intensidades de *flash* – 10, 3.000 e 10.000 mcd.s/m²; B) Resultados pós- adaptação ao claro de 10 minutos com intensidade de 30.000 mcd, intensidade dos *flashes* de 3.000 e 10.000 mcd.s/m²; C) Resultados obtidos nos testes de *flashes* intermitentes (“flicker”) nas intensidades de 3.000 e 10.000 mcd.s/m².

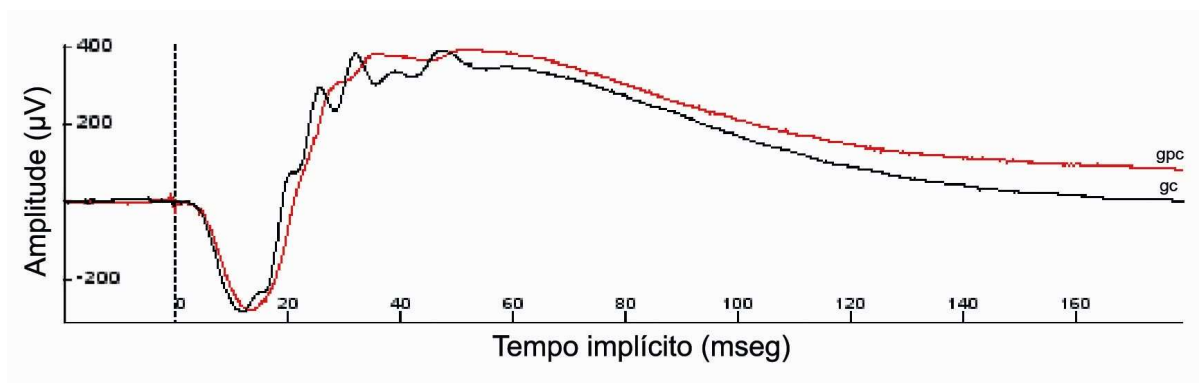


Figura 4.3 – Exemplo de traçado eletroretinográfico do exame realizado em ovelhas anestesiadas com cetamina S(+) (GC) ou pela associação de propofol + cetamina S(+) (GPC), evidenciando maior interferência no traçado da onda “b” no grupo GC.

Tabela 4.1- Valores médios e desvio padrão de frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (T °C), saturação parcial de oxigênio na hemoglobina (SpO₂) e pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) em ovelhas anestesiadas com cetamina S(+) (GC) ou pela associação de propofol e cetamina S(+) (GPC) para exame eletroretinográfico.

		FC	FR	T °C	SpO ₂	PÁS	PAM	PAD
GC	MPA	99,33 ± 33,34	24,67 ± 13,66	39,50 ± 0,63	97,67 ± 4,80	114,67 ± 15,12	61,00 ± 3,35	45,67 ± 2,58
	Indução	93,33 ± 14,29	29,00 ± 9,78	39,55 ± 0,67	94,00 ± 4,19	106,67 ± 9,35	66,83 ± 19,29	50,67 ± 15,32
	5 min	89,67 ± 15,04	28,00 ± 6,45	39,57 ± 0,70	92,50 ± 4,37	104,50 ± 11,69	66,83 ± 18,50	52,00 ± 12,65
	10 min	91,00 ± 17,74	25,83 ± 7,11	39,60 ± 0,70	92,50 ± 5,79	104,00 ± 10,49	67,83 ± 8,75	55,67 ± 9,14
	15 min	96,33 ± 16,75	24,67 ± 6,53	39,58 ± 0,70	94,33 ± 3,67	101,00 ± 12,05	68,83 ± 6,08	51,84 ± 10,48
	20 min	107,83 ± 21,11	26,33 ± 10,54	39,62 ± 0,64	94,33 ± 4,27	102,00 ± 13,04	70,83 ± 6,40	58,83 ± 12,50
GPC	MPA	101,00 ± 11,15	23,67 ± 4,27	39,38 ± 0,51	93,83 ± 3,74	109,17 ± 12,06	67,83 ± 70,30	53,00 ± 9,25
	Indução	98,50 ± 11,27	24,33 ± 2,94	39,23 ± 0,54	93,17 ± 4,49	122,17 ± 13,63*	70,83 ± 20,34	79,33 ± 12,45#
	5 min	100,33 ± 15,09	25,50 ± 6,06	39,11 ± 0,55	93,83 ± 3,82	112,83 ± 15,51	78,67 ± 13,28	68,17 ± 12,02
	10 min	97,00 ± 11,78	23,33 ± 4,13	39,13 ± 0,49	94,17 ± 4,45	110,17 ± 15,06	76,67 ± 13,47	64,50 ± 14,11
	15 min	98,00 ± 10,28	22,67 ± 3,27	39,06 ± 0,48	93,17 ± 5,11	113,00 ± 9,49	72,17 ± 9,28	60,00 ± 9,82
	20 min	101,00 ± 13,84	25,67 ± 3,88	39,08 ± 0,50	92,33 ± 4,27	112,83 ± 9,24	69,33 ± 14,07	63,33 ± 12,18

NOTA: * Valores com diferença estatística significativa entre os grupos no mesmo momento. # Valores com diferença estatística significativa dentro do mesmo grupo com o resultado imediatamente após a MPA.

Em nenhum momento foi observada diferença significativa entre os grupos nas frequências respiratória e cardíaca, temperatura retal, saturação parcial de oxigênio na hemoglobina e pressão arterial média (Tabela 4.1). Imediatamente após a indução anestésica as pressões arteriais sistólica e diastólica foram significativamente superiores no GPC ($P < 0.05$). Não foram observados em

qualquer um dos grupos alteração destes parâmetros quando comparados com o momento imediatamente após a pré-medicação, exceto por um aumento na pressão arterial diastólica no GPC ($53 \pm 9,25$ mmHg versus $79,33 \pm 12,45$ mmHg) após a indução anestésica.

O despertar anestésico ocorreu $24,17 \pm 2,04$ minutos após a indução da anestesia no GC e $25,0 \pm 5,47$ minutos no GPC, sem diferença significativa.

4.5 Discussão

A influência do anestésico no traçado eletrorretinográfico torna inviável a comparação entre pacientes desde que não sejam submetidos à mesma condição anestésica durante o exame. Além de diferentes drogas terem ações antagônicas na condução nervosa retinal, a profundidade anestésica dentro de um mesmo protocolo já permite essa alteração.

Em carneiros já havia sido observado que crescentes doses de tiopental, um barbitúrico de curta ação, poderiam aumentar a amplitude das ondas “a” e “b” até um certo ponto, quando então era percebida uma depressão progressiva da onda “b” (Klave e Persson, 1974). Esse incremento na amplitude de onda “b” também já havia sido percebido com a infusão contínua de progressivas doses de propofol em cães (Kommonen et al., 2007).

O fato de neste experimento não ter sido observada qualquer diferença no tempo implícito e na amplitude de ondas nos dois protocolos estudados pode ter sido obtido devido ao fato de todos os pacientes terem sido submetidos à mesma profundidade anestésica demonstrada em nosso estudo piloto. Assim como o propofol, anestésicos dissociativos caracteristicamente são responsáveis por

induzir a formação de ondas grandes no ERG (Chaudhary et al, 2003; Lin et al, 2009).

Mesmo não se sabendo ao certo esse mecanismo (Chaudhary et al, 2003; Kommonen et al., 2007), a compreensão da ação dos anestésicos sobre o ERG depende do conhecimento das respostas celulares da retina ao estímulo luminoso. Os fotorreceptores cones e bastonetes liberam constantemente o neurotransmissor glutamato quando relativamente despolarizados no escuro. Um estímulo luminoso promove uma resposta de hiperpolarização dos cones e bastonetes, desta maneira reduzindo a liberação do neurotransmissor glutamato para as células pós-sinápticas horizontais e bipolares, na camada plexiforme externa. As respostas dos fotorreceptores geram a onda “a” negativa do ERG (Falk e Shiells, 2006).

As células bipolares respondem por duas vias ao estímulo luminoso. As células bipolares OFF podem ser despolarizadas pelo glutamato liberado na sinapse com os fotorreceptores. Como a luz reduz a liberação de glutamato, receptores ionotrópicos do glutamato (iGluRs) não são ativados e elas tendem a permanecer hiperpolarizadas no claro. Esses iGluRs são dos subtipos ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico (AMPA) e kainato (KA) (Yang, 2004; Falk e Shiells, 2006). As células bipolares ON possuem um singular receptor metabotrópico do glutamato (mGluR6) que responde inibitoriamente ao glutamato por meio da hidrólise do GMP cíclico (cGMP) pela fosfodiesterase (PDE), fechando canais ativados pelo cGMP permeáveis a Na^+ , K^+ e Ca^{2+} e hiperpolarizando a célula. Portanto, a redução do glutamato promovida pelo estímulo luminoso despolariza as células bipolares ON e permite o estímulo dessas células (Falk e Shiells, 2006; Kolb, 2006).

As células horizontais são hiperpolarizadas pelo estímulo luminoso, devido à redução da liberação do glutamato dos fotorreceptores, e fazem um contato sináptico com as células bipolares, promovendo uma resposta oposta envolta da área estimulada, por meio da liberação do GABA (Falk e Shiells, 2006).

Células bipolares também liberam glutamato como neurotransmissor na sinapse com as células amácrinas (receptores NMDA e AMPA) e ganglionares (receptores KA, AMPA e NMDA) na camada plexiforme interna (Yang, 2004; Falk e Shiells, 2006). As células amácrinas possuem uma função semelhante às células horizontais, promovendo um entorno antagonista, por meio da liberação de GABA (células ganglionares centro-ON) e glicina (células ganglionares centro-OFF), mas também fazem sinapses recíprocas, suprimindo informação aos terminais sinápticos das células bipolares. As células ganglionares continuam os caminhos ON e OFF iniciados nas células bipolares e seus prolongamentos axonais formam a camada de fibras nervosas que converge em direção ao polo posterior do bulbo ocular para formar o nervo óptico. As células interplexiformes apresentam processos que se estendem nas direções de ambas as camadas plexiformes da retina, conduzindo informações da camada plexiforme interna para a camada plexiforme externa (Costa e Dantas, 1995).

A principal teoria para a formação da onda “b” do eletrorretinograma é que ela é o resultado da queda da voltagem no meio extracelular como resultado do fluxo de corrente radial através da membrana das células bipolares ON (Falk e Shiells, 2006). Uma vez que são encontrados apenas receptores NMDA após as células bipolares e os receptores GABA das células bipolares resumem-se ao caminho OFF (Yang, 2004; Falk e Shiells, 2006), presume-se que estas respostas ocorram pelos efeitos de *feedback* da camada plexiforme interna para a camada

externa, sob influência das células interplexiformes, células amácrinas e possivelmente células horizontais (Kommonen et al, 2007).

Sugere-se, porém, para estudos quantitativos eletrorretinográficos em animais anestesiados, uma adequada avaliação da profundidade anestésica e do nível de consciência dos modelos experimentais, uma vez que a depressão da condutividade celular pela alta concentração anestésica, assim como alterações nas taxas de oxigenação e pressão arterial podem ocorrer em níveis desiguais decorrentes de diferenças individuais na farmacodinâmica das drogas.

Ademais a semelhança no traçado eletrorretinográfico, em todos os parâmetros avaliados, os dois protocolos estudados demonstraram grande segurança, mesmo trabalhando com animais não intubados e sob respiração espontânea do ar ambiente, além da rápida velocidade no retorno anestésico. Porém, outras prerrogativas do protocolo anestésico indicam fortemente a associação de propofol e cetamina S(+) para o ERG na espécie ovina, como a capacidade de promover centralização do bulbo, o que permite a imediata realização do exame, sem a necessidade de fixação do bulbo com reparos cirúrgicos. Em cães, observa-se uma centralização do bulbo com tiletamina-zolazepam, protocolo análogo ao do GC (Lin, 2009), porém a cetamina apresenta resultados controversos conforme a raça (Kommonen e Raitta, 1987; Lee et al, 2009). Outro fator determinante é a menor interferência das ondas, provavelmente em decorrência de maior relaxamento muscular periorbital promovido pelo propofol.

De maneira geral, tanto a cetamina S(+) quanto a sua associação com o propofol foram eficazes para promover contenção, segurança e praticidade para o ERG, permitindo a captação adequada das ondas eletrorretinográficas, porém,

quando o propofol foi associado, ocorreu uma centralização do bulbo e menor interferência no traçado.

4.6 Referências

BALI,M.; AKABAS,M.H. Defining the propofol binding site location on the GABA_A receptor. **Molecular Pharmacology**. v.65, n.1, p.68-76, 2004.

CHAUDHARY,V.; HANSEN, R.; LINDGREN, H.; FULTON, A. Effects of telazol and nembutal on retinal responses. **Documenta Ophthalmologica**. v.107, p. 45-51, 2003.

CORREIA,D.; NOLAN,A.M.; REID,J. Pharmacokinetics of propofol infusions, either alone or with ketamine, in sheep premedicated with acepromazine and papaveretum. **Research in Veterinary Science**. v.60, p. 213-217, 1996.

COSTA,J.G.C.; DANTAS,A.M. Dados histofisiológicos. In: DANTAS,A.M.; COSTA,J.G.C.; NETO,L.P.; YAMANE,R.; ELIAS,C.A. **Oftalmologia**. Rio de Janeiro: Cultura Médica. 1995. p.1-55.

DUQUE,J.C.; OLESKOVICZ,N.; GUIRRO,E.C.; VALADÃO,C.A.; SOARES,V.E. Relative potency of ketamine and S(+) ketamine in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v.31, n.4, p.344-348, 2008.

FALK,G; SHIELLS,R. Synaptic Transmission: Sensitivity Control Mechanisms. In: HECKENLIVELY, J.R. and ARDEN,G.B. **Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision**. 2.ed. Massachusetts: MIT, 2006. p.79-91.

GREEN, S.M. Research Advances in Procedural Sedation and Analgesia. **Annals Of Emergency Medicine**. v.49, p.31-36, 2007.

INTELISANO,T.R.; KITHARA,F.R.; OTSUKI,D.A.; FANTONI,D.T.; AULER JUNIOR,J.O.C.; CORTOPASSI,S.R.G. Anestesia total intravenosa com propofolquetamina racêmica e propofol-quetamina-S: estudo comparativo e avaliação hemodinâmica em cães submetidos à ovariohisterectomia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.28,n.4, p.216-222, 2008.

KNAVE,B.; PERSSON,H.E. The effect of Barbiturate on Retinal Functions. I . Effects on the Conventional Electroretinogram of the Sheep Eye. **Acta Physiologica Scandinava**. v. 91, p. 53-60, 1974.

KOLB,H. Functional Organization of the Retina. In: HECKENLIVELY, J.R. and ARDEN,G.B. **Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision**. 2.ed. Massachusetts: MIT, 2006. p.47-64.

KOMMONEN,B.; HYVÄTTI,E.; DAWSON,W.W. Propofol modulates inner retina function in Beagles. **Veterinary Ophthalmology**. v.10, n.2, p.76-80, 2007.

KOMMONEN,B.; RAITTA,C. Electroretinography in Labrador Retrievers given ketamine-xylazine anesthesia. **American Journal of Veterinary Research**. v.48, p.1325-1331, 1987.

LEE,J.; KIM,K.; JANG,H.; LEE,B.; KIM,J.Y.; JEONG,S. The normal electroretinogram in adult healthy Shih Tzu dogs using the HMsERG. **Journal of Veterinary Science**. v. 10, n.3, p.233-238, 2009.

LIN,S.L.; SHIU,W.C.; LIU,P.C.; CHENG,F.P.; LIN,Y.C.; WANG,W.S. The effects of different anesthetic agents on short electroretinography protocol in dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**. v. 71, n.6, p.763-768, 2009.

NARFSTRÖM,K.; EKESTEN,B.; ROSOLEN,S.G.; SPIESS,B.M.; PERCICOT,C.L.; OFRI, R. Guidelines for Clinical Electroretinography in the dog. **Documenta Ophthalmologica**. v.105, p. 83-92, 2002.

NOWROUZIAN,I.; SCHELS,H.F.; GHODSIAN,I.; KARIMI,H. Evaluation of the anaesthetic properties of ketamine and ketamine/xylazine/ atropine combination in sheep. **Veterinary Record**. v.108, p.354-356,1981.

SMITH,I.; WHITE,P.F.; NATHANSON,..; GOULDSON,R. Propofol. An update on its clinical use. **Anesthesiology**. v.81, p.1005-1043, 1994.

TANSKANEN,P.; KYLMA,T.; KOMMONEN, B.; KARHUNEN,U. Propofol influences the electroretinogram to a lesser degree than thiopentone. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**. v. 40, p.480-485, 1996.

WÄSSLE,H.; KOULEN,P.; BRANDSTÄTTER,J.H.; FLETCHER,E.L.; BECKER,C.M. Glycine and GABA receptors in the mammalian retina. **Vision Research**. v.38, p.1411-1430, 1998.

WILLMAN, E.V.; ANDOLFATTO,G.A. A Prospective Evaluation of "Ketofol" (Ketamine/Propofol Combination) for Procedural Sedation and Analgesia in the Emergency Department. **Annals of Emergency Medicine**. v. 49, n.1, p.23-30, 2007.

WOODWARD,W.R.; CHOI,D.; GROSE,J.; MALMIN,B.; HURST, S.; PANG, J.; WELEBER,R.G.; PILLERS,D.A.M. Isoflurane is na effective alternative to ketamine/xylazine/acrepromazine as na anesthetic agent for the mouse electroretinogram. **Documenta Ophthalmologica**. v.115, P.187-201, 2007.

YANASE,J.; OGAWA,H. Effects of halothane and sevoflurano on electroretinogram of dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v.58, p.904-909, 1997.

YANG,X.L. Characterization of receptors for glutamate and GABA in retinal neurons. **Progress in Neurobiology**. v.73, p.127-150, 2004.

5 ACHADOS OFTÁLMICOS EM CORDEIROS TRATADOS COM CLOSANTEL

Resumo:

O objetivo deste trabalho é investigar as mudanças oftálmicas em cordeiros que receberam closantel. Vinte e quatro cordeiros da raça Sulffolk com 30 dias de idade foram divididos em: grupo controle (12 animais) e grupo closantel (12 animais). O último grupo recebeu por via subcutânea, 15 mg/kg de closantel imediatamente após a primeira ERG. Para a ERG, os cordeiros foram pré-medicados com 0,5 mg/kg de diazepam e 0,5 mg/kg de morfina, intravenoso e, em seguida, anestesiados com a associação de 3 mg/kg propofol e 1 mg/kg de cetamina S(+), IV. Para manter o nível anestésico adequado, um quarto da dose total de indução foi administrado em 8 e 14 minutos após a indução. O protocolo ISCEV foi usado com uma adaptação de 20 minutos para o escuro e uma adaptação ao claro de 10 minutos. As intensidades de *flashes* para ERG escotópica foram: 10, 3.000 e 10.000 mcd.s/m². Para a ERG fotópica e 30 Hz-*flicker* as intensidades de *flash* foram: 3.000 e 10.000 mcd.s/m². Este protocolo foi repetido em 7 e 30 dias. As análises estatísticas utilizadas para comparar as respostas das ERGs foram o teste-*t* e ANOVA. Três meses depois, os animais foram abatidos e os olhos juntamente com uma parte do nervo óptico foram coletados para análise histopatológica. Foram feitas fotografias da retina e do nervo óptico além de medidas das camadas da retina, estes dados foram analisados pelo teste-*t* pareado. Não foram encontradas diferenças significativas comparando o ERG entre os dois grupos. No grupo controle, houve um aumento significativo ($P < 0,05$) da média do tempo implícito escotópico da onda “b” de 0 a 30 dias e um aumento da média do tempo implícito escotópico da onda “a” de 0 a 7 dias, com o estímulo de 10.000 mcd s/m². Esse grupo também mostrou uma

diminuição na média fotópica do tempo implícito da onda “b” (de 0 a 30 dias), utilizando-se um estímulo de 10.000 mcd s/m² e uma diminuição na média fotópica do tempo implícito da onda “a” de 0 a 30 dias, utilizando um estímulo de 3.000 mcd.s/m². Essas diferenças observadas no grupo controle não foram as mesmas observadas no grupo que recebeu o closantel. No grupo que recebeu o closantel, houve um aumento significativo da média da amplitude da onda “a” escotópica de 0 a 7 dias, utilizando-se um estímulo de 10.000 mcd.s/m² e uma diminuição da média escotópica e fotópica amplitude da onda “a” (de 7 a 30 dias) utilizando a mesma intensidade de *flash*, mostrou também uma diminuição na média fotópica da amplitude da onda “b” (de 7 a 30 dias) dentro do grupo. Nenhuma diferença foi encontrada nas imagens nem nas medidas das camadas da retina. Em conclusão, como foi observado pelas respostas eletrorretinográficas e as da histopatologia, o closantel, na dose de 15 mg/kg, não afeta significativamente as estruturas da retina e do nervo óptico em cordeiros, mas os resultados eletrorretinográficos, entretanto, mostraram uma alteração na fototransdução.

Palavras-chave: eletrorretinografia, histopatologia, carneiros, closantel

5.1 Ophthalmic Findings In Sheep Treated With Closantel

Abstract:

The purpose of this work is investigate possible ERG changes in sheep that received closantel. Twenty four 30 day old Sulffolk sheep were split into Control Group (12 animals) and closantel Group (12 animals). The latter group received subcutaneously 15 mg/kg of closantel immediately after the first ERG. For ERGs the sheep were premedicated with 0.5 mg/kg of diazepam and 0.5mg/kg of

morphine IV, then anesthetized with 3 mg/kg of propofol and 1 mg/kg of (S) ketamine, IV. To maintain adequate anesthetic level, a quarter of the total induction dose was administered at 8 and 14 minutes after the induction. The ISCEV protocol was used with a 20 minute dark adaption for scotopic and a 10 minute light adaption for photopic ERG, respectively. Flash intensities for scotopic ERG were: 10, 3,000 and 10,000 mcd.s/m². For photopic ERG and 30 Hz-flicker the flash intensities used were: 3,000 and 10,000 mcd.s/m². This protocol was repeated at 7 and 30 days. Statistical analyses to compare ERG responses using *t*-test and ANOVA were performed. Three months later, the animals are euthanized and the eyes and a part of optic nerve are collected to histopathology. Fotography of retina and optic nerve were performed, and measures of the retinal layers were made and the data analysed by Paired *t*-test. No significant differences were found comparing the ERGs between two groups. Control group, showed a significant increase ($P < 0.05$) of the mean scotopic b-wave implicit time from 0 to 30 days and an increase of the mean scotopic a-wave implicit time from 0 to 7 days, with the stimulus of 10,000 mcd s/m². This group also showed a decrease in mean photopic b-wave implicit time (from 0 to 30 days), using a stimulus of 10,000 mcd s/m² and a decrease in mean photopic a-wave implicit time from 0 to 30 days, using a stimulus of 3,000 mcd s/m². These differences observed in the control group were not observed in the group which received the closantel. Closantel group, however, showed a significant increase of the mean scotopic a-wave amplitude from 0 to 7 days after closantel administration, using a stimulus of 10,000 mcd s/m² and a decrease of the mean scotopic and photopic a-wave amplitude (from 7 to 30 days) using the same flash intensity, also showed a decrease in mean photopic b-wave amplitude (from 7 to 30 days) within group. No

difference were found in pictures neither in the measures of retina layers. In conclusion, as observed by ERG responses and the histopathology, closantel, at dose of 15 mg/kg, does not significantly affect retinal and optic nerve structures in sheep but the electroretinographic results, however, showed alterations on the phototransduction.

Key words: electroretinography, histopathology, sheep, closantel

5.2 Introdução

O closantel [N-{5-cloro-4-[(4-clorofenol) cianometil]-2-metilfenol}-2-hidroxi 3,5-diiodobenzamida) é um agente antiparasitário do grupo dos salicilanilidas, muito usado em pequenos ruminantes, eficaz no tratamento de *Haemonchus contortus*, *Fasciola Hepática* e *Oestrus ovis* (Lloyd, 2000).

Este medicamento liga-se extensamente (> 99%) as proteínas plasmáticas, principalmente a albumina, de modo que prolonga o nível do closantel no plasma, protegendo, desta forma, as ovelhas contra reinfecção por até 28 dias (Hennessy et al, 1993; Reinemeyer e Courtney, 2003).

Existem diversos relatos de intoxicação por este medicamento nas espécies bovina (Pérez et al., 1988), caprina (Button et al, 1987; Ecco et al., 1999; Ecco et al., 2006; Ecco et al., 2008), ovina (Canavessi et al.,1998; Barlow et al., 2002; Cadioli et al., 2008; Furlan et al., 2009) e canina (McEntee et al., 1995), além de seres humanos (T´Hoen, 1993). Dentre os sinais clínicos relatados os principais são problemas oftálmicos levando a cegueira.

A eletroretinografia (ERG) é um exame que capta o potencial elétrico que se origina da retina após a estimulação luminosa e segundo Heckenlively e Arden (2006). É uma excelente ferramenta para estudar a função da retina por ser um

exame fácil e não-invasivo, muito usado na rotina clínica de pequenos animais, para auxiliar em diagnósticos de algumas doenças como atrofia progressiva de retina (APR) e Degeneração súbita adquirida de retina (DSAR) e na avaliação da função da retina antes da cirurgia de catarata (Narfström et al., 2002). Este exame vem sendo utilizado em inúmeras pesquisas, principalmente pesquisas com drogas que possam afetar a resposta da retina (Klave et al., 1972; Klave et al., 1974; Tanskanen et al., 1996; Chaudhary et al., 2003; Kommonen et al., 2007) causando cegueira.

O objetivo deste trabalho é verificar se existe alteração eletrorretinográfica e histopatológica da retina e nervo óptico em cordeiros tratados com closantel.

5.3 Material e Métodos

Foram utilizados 24 cordeiros da raça Suffolk, com aproximadamente 30 dias no início do experimento, os animais passaram pelo exame de fundoscopia indireta, com uso de lente de aumento de 20 dioptrias e eletrorretinografia, empregando o aparelho portátil HM_sERG (RetVetCorp, Inc., Columbia, Missouri). O protocolo eletrorretinográfico usado foi o ISCEV, já calibrado no aparelho.

Este protocolo consiste em 7 etapas (Tabela 1). Os três primeiros testes (Bastonetes – 10 mcd.s/m², Padrão de Cones e Bastonetes – 3.000 mcd.s/m² e *Hi intensity* Cones e Bastonetes -10.000 mcd.s/m²) são feitos após a adaptação ao escuro (20 minutos) e os outros quatro (Cones – 3.000 mcd.s/m², *Hi intensity* Cones – 10.000 mcd.s/m², Flicker padrão – 3.000 mcd.s/m² e *Hi intensity* Flicker – 10.000 mcd.s/m²) após adaptação ao claro (10 minutos), feita pelo próprio aparelho. A adaptação a claro tem a intensidade de luz de 30.000 mcd.

Os animais foram pré-medicados com diazepam 0,5 mg/kg (Compaz® 5 mg/ml, Cristália, São Paulo, SP) e morfina 0,5 mg/kg (Dimorf® 10 mg/ml, Cristália, São Paulo, SP), e colocados em uma sala escura durante 20 minutos, instilando 1 gota do colírio de tropicamida 1% (Mydriacil®, Alcon, São Paulo, SP) no olho esquerdo. Após, a adaptação ao escuro, os cordeiros foram induzidos a anestesia com propofol 3mg/kg (Propovan® 10 mg/ml, Cristália, São Paulo, SP) associado a 1mg/kg de cetamina S(+) (Ketamin S(+))® 50 mg/ml, Cristália, São Paulo, SP). Para a manter o nível da anestesia foram feitas duas administrações de um quarto da dose de indução destes medicamentos, a primeira aos 8 minutos e a segunda aos 14 minutos pós-indução.

Os animais foram colocados em uma mesa emborrachada, em decúbito lateral direito. Os eletrodos foram posicionados assim que os movimentos palpebrais cessaram e houve tolerância ao blefarostato. Na seqüência, foram posicionados os eletrodos do tipo subdérmicos (FD-E2-24, Grass Technologies, Astro-Medical, Inc., West Warwick, RI). O primeiro deles é denominado de “terra” e foi inserido na região axilar esquerda do animal, seguido do “referência”, este inserido a 2,5 cm do canto temporal da rima palpebral do olho a ser examinado. Com o auxílio de um blefarostato, o eletrodo de contato (ERG-je_t, Nicolet Instruments, Madison, WI) foi posicionado na córnea do animal.

Após o primeiro exame eletrorretinográfico (30 dias de idade), os cordeiros foram divididos aleatoriamente em dois grupos com 12 animais cada: a) grupo controle e b) grupo que recebeu o closantel (Zantec®, Biofarm, Jaboticabal, SP) na dose de 15 mg/kg por via subcutânea (Cadioli et al., 2008).

Foi realizada nova ERG após 1 semana (37 dias) da aplicação e após 1 mês (60 dias), utilizando o mesmo protocolo já citado anteriormente. Estes dados

foram observados pelo programa ERGVIEWER 2.1 (RetVetCorp, Inc., Columbia, Missouri) e analisados no programa Statview (SAS Institute Inc. Copyright © 1992-1998) pelo teste $-t$ pareado e ANOVA, sendo $P < 0,05$.

Os animais foram abatidos após 3 meses e os olhos e nervo óptico coletados sem o excesso de gordura periorbital, conjuntiva e pálpebras. Foi injetado 0,25 mL de Formol a 10% dentro da câmara posterior dos olhos, com agulha 13x4,5 mm e seringa de 1 mL, além de serem colocados em recipientes individuais com Formol à 10% (1:20) para exame histopatológico.

As amostras foram cortadas longitudinalmente em quatro partes e preparadas para exame histológico e coradas pela técnica Hematoxilina e Eosina (HE). Foram feitas fotos (objetiva de 40x) e medidas das camadas da retina (Fig. 5.1) sempre a 2 mm da entrada do nervo óptico e fotos do nervo óptico (objetivas de 4x, 10x e 20x), utilizando o programa Motic Images plus 2.0 (Motic China Group Co.LH 1999-2004). Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste-t pareado.

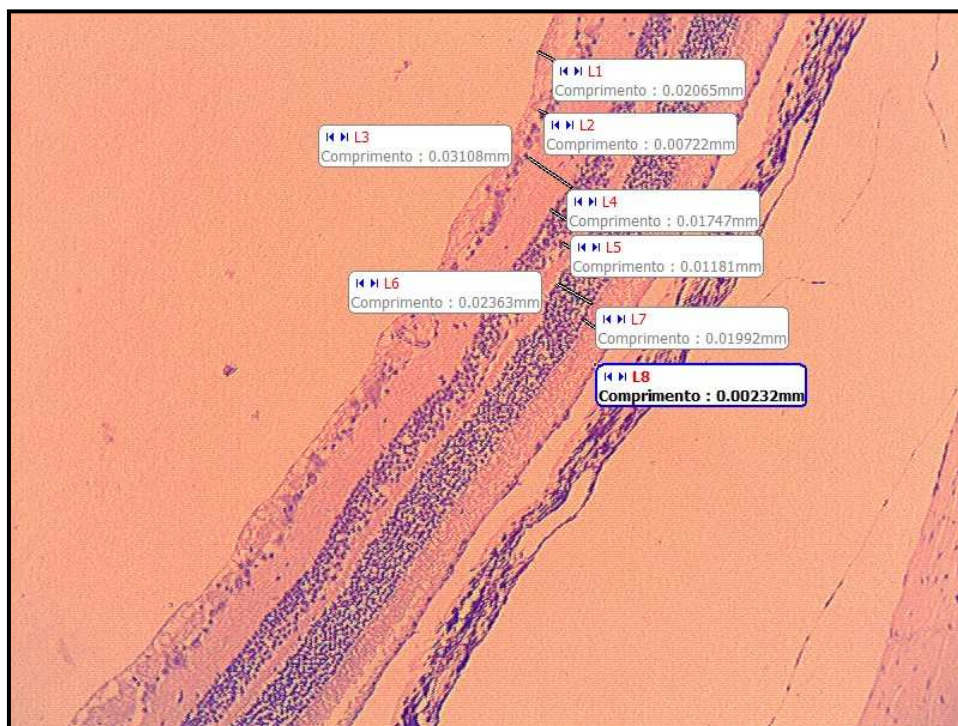


Figura 5.1 – Fotografia da lâmina de histopatologia de um animal utilizando a objetiva de 10x, mostrando as medidas realizadas na retina (camadas) em milímetros, onde L1= camada de fibras nervosas; L2= camada de células ganglionares; L3= camada plexiforme interna; L4= camada nuclear interna; L5= camada plexiforme externa; L6= camada nuclear externa; L7= camada de fotorreceptores e L8= epitélio pigmentar da retina(EPR).

5.4 Resultados

No grupo que recebeu o closantel, quando comparados os diferentes tempos de ERG, ocorreu um aumento do tempo implícito da onda “b” nos testes de Flicker (tempo 30 – $22,9 \pm 0,66$ mseg, tempo 37 – $23,39 \pm 0,39$ mseg, tempo 60 - $53,6 \pm 35,82$ mseg). Com relação ao teste escotópico de 10.000 mcd.s/m^2 , houve aumento da amplitude da onda “a” comparando tempo 37 com o 30 ($382 \pm 150,71 \mu\text{V}$; $495,54 \pm 120,48 \mu\text{V}$, respectivamente) e diminuição da amplitude da onda “a” comparando o tempo 60 ($366,41 \pm 114,93 \mu\text{V}$) com o 37 ($495,54 \pm 120,48 \mu\text{V}$). Outra variação importante foi à encontrada no teste fotópico na intensidade de 10.000

mcd.s/m², diminuição na amplitude da onda “a” e da onda “b” comparando o tempo 37 (110,72±14,45 µV; 427,72±55,02 µV) com o 60 (91,45±25,34 µV; 341±121,95µV) (Fig.2B).

No grupo controle, diferentemente do que ocorreu no grupo tratado com closantel, houve aumento do tempo implícito da onda “b” no teste escotópico de intensidade de 10.000 mcd.s/m² e diminuição do tempo implícito da onda “b” no teste fotópico na intensidade de 10.000 mcd.s/m², todos com variação comparando a última eletrorretinografia (60 dias) com a primeira (30 dias). No teste de intensidade de luz de 3.000 mcd.s/m² fotópico, o tempo implícito da onda “a” apresentou diminuição, quando comparados o tempo 60 (11,12±0,6 msec) com o 30 (11,76±0,72 msec) (fig.2A).

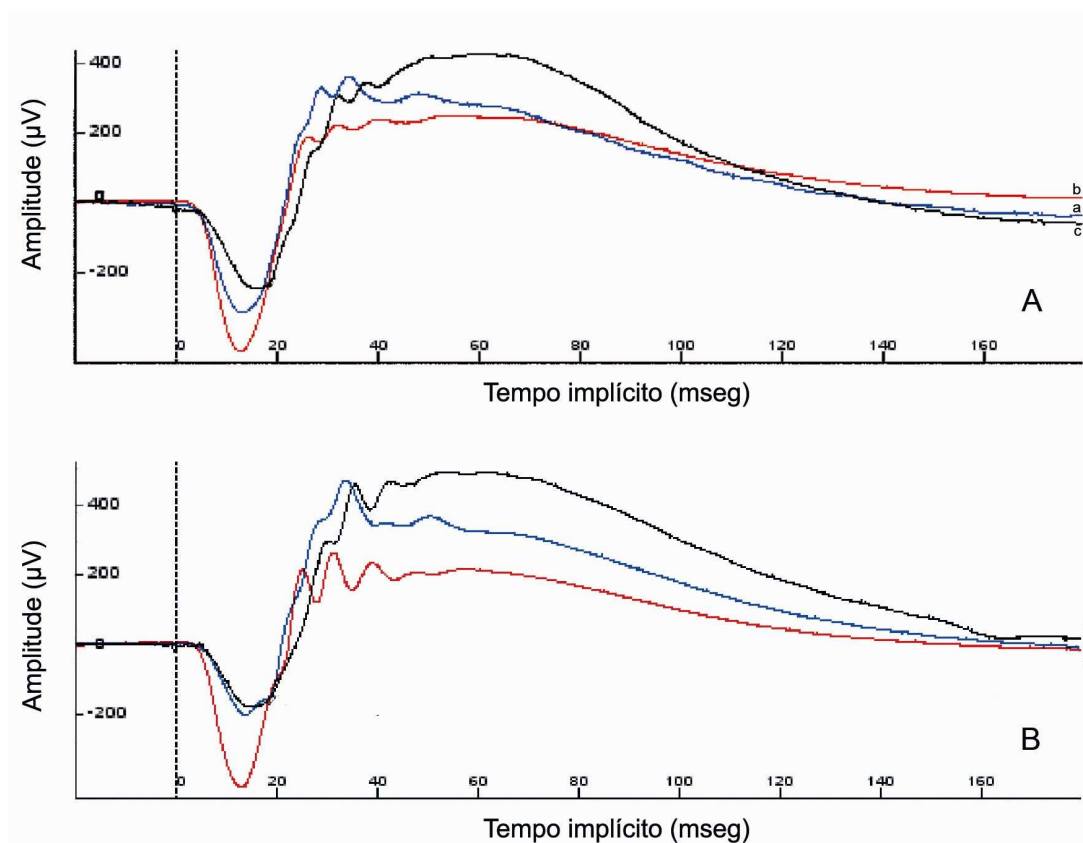


Figura 5.2 – Traçados eletrorretinográficos obtidos no teste escotópico de intensidade máxima (10.000 mcd.s/m²), (a) 30 dias de idade- 1ª ERG, (b) 37 dias de idade- 2ª ERG, (c) 60 dias de idade – 3ª ERG; (A) grupo controle e (B) grupo tratado com closantel.

Não houve diferença significativa na resposta eletrorretinográfica quando comparadas às medidas dos dois grupos em nenhum dos testes realizados.

Com relação às medidas das camadas da retina no exame histopatológico, não foi encontrada nenhuma diferença estatística significativa. Assim como na análise das fotografias do nervo óptico (fig. 5.3).

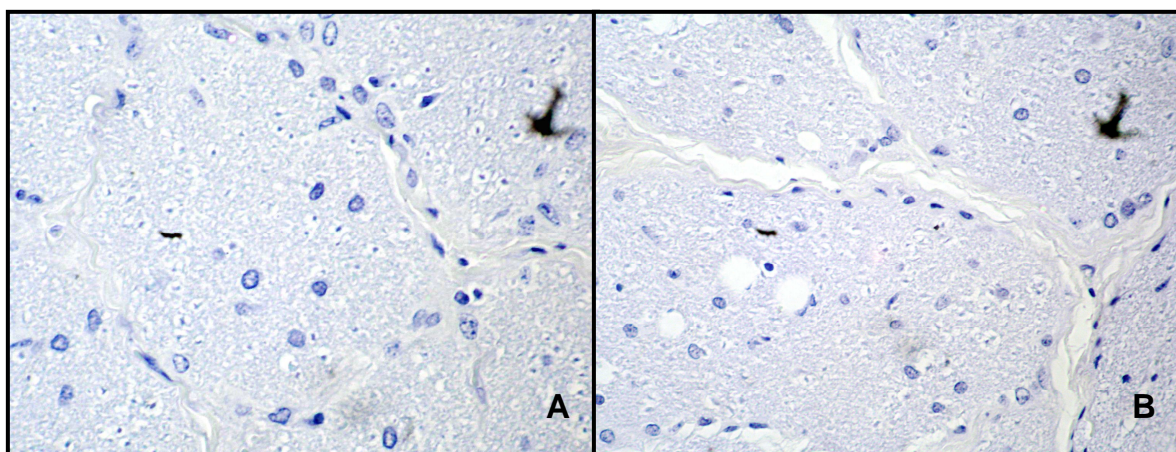


Figura 5.3- Fotomicrografia do centro do nervo óptico na objetiva de 40x, nervo óptico corado com Hematoxilina e Eosina. (A) Grupo tratado com closantel e (B) Grupo controle.

5.5 Discussão

Clinicamente, o closantel na dose de 15 mg/kg não chegou a causar cegueira em nenhum animal deste experimento. Do mesmo modo, não chegou a comprometer de maneira geral a função da retina observada pelo exame de ERG. Entretanto, causou modificações discretas na maturação da velocidade e amplitude de resposta de alguns mecanismos da fototransdução. Comparando a amplitude e o tempo implícito médio dos dois grupos, não houve variações significativas, mas comparando entre as repostas dentro dos grupos pôde-se observar que a retina do grupo tratado com closantel maturou-se de maneira

diferente da do grupo controle. Os resultados do grupo controle pode ser visto no terceiro artigo.

No grupo que recebeu closantel, os animais apresentaram algumas modificações importantes, pois são diferentes das respostas encontradas no grupo controle. A principal foi o aumento significativo que ocorreu na amplitude da onda “a”, no teste escotópico, sete dias após a aplicação do closantel. Estes resultados não necessariamente comprovam que o closantel estava agindo diretamente na retina, pois pode ter ocorrido uma ação indireta por meio de interferência no metabolismo hepático, visto que quando o medicamento já havia sido metabolizado pelo organismo na 3ª avaliação, os resultados foram similares a 1ª.

A diminuição das amplitudes de onda “a” e “b” encontradas no teste fotópico dos animais com 37 dias comparando com a ERG de 60 dias, pode ser um efeito do closantel no desenvolvimento normal dos cones o que não foi observado na evolução da resposta eletrorretinográfica do grupo controle.

Diferentemente dos achados histopatológicos de Cadioli et al (2008) e Furlan et al. (2009), não foram observadas vacuolizações centrais do nervo óptico nem áreas de hemorragia e edema na retina (fig.2A). Todavia, Furlan et al (2009) empregaram uma dose maior de closantel, justificando a presença das lesões. Cadioli et al. (2008) relataram as lesões quando acidentalmente foi administrada a dose de 15 mg/kg, idêntica a este experimento. Como não foram observadas tais lesões, acredita-se que a dose acidental foi subestimada.

Concluindo, o uso do closantel na dose de 15 mg/kg não provocou modificação permanente nas estruturas da retina e do nervo óptico e tampouco modificação clinicamente detectável na visão dos animais tratados sendo,

portanto, relativamente segura para o uso em carneiros. As modificações encontradas nos exames eletrorretinográficos, porém, sugerem que este medicamento, na dose utilizada, altera (amplitudes e tempos implícitos) transitoriamente alguns mecanismos dentro do processo de fototransdução que acontece na retina, o que parece causar cegueira em doses tóxicas.

5.6 Referências

BARLOW,A.M.; SHARPE,J.A.E.; KINCAID,E.A. Blindness in lambs due to inadvertent closantel overdose. **Veterinary Record**. v.151, p.25-26, 2002.

BUTTON,C.; JERRET,I.; ALEXANDER,P.; MIZON,W. Blindness in kids associated with overdosage of closantel. **Australian Veterinary Journal**. v.64, p.226,1987.

CADIOLI, F.A.; BOVINO, F.; ROZZA, D.B.; MENDES, L.C.N.; ARAÚJO, M.A.; FEITOSA, F.L.F.; TEODORO, P.H.M.; PEIRÓ, J.R. Intoxicação aguda por closantel em cordeiros – Relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**. v. 15, n. 2, supl. 1, p. 23, 2008.

CANAVESSI, A.M.O.; SARTOR,I.F.; ALMEIDA,C.T. Intoxicação em ovinos pelo closantel. **Veterinária Notícias**. v.4,n.1,p.121-123,1998.

CHAUDHARY,V.; HANSEN, R.; LINDGREN, H.; FULTON, A. Effects of telazol and nembutal on retinal responses. **Documenta Ophthalmologica**. v.107, p. 45-51, 2003.

ECCO,R.; BARROS,C.S.; GRAÇA,D.L. Intoxicação por closantel em caprinos – Relato de caso. In: Encontro Nacional de Patologia Veterinária, 9., 1999, Belo Horizonte. **Anais**. p.91.

ECCO,R.; BARROS,C.S.; GRAÇA,D.L.; GAVA,A. Closantel toxicosis in kid goats. **Veterinary Record**. n.159, 17.ed., p.564-566. 2006.

ECCO,R; BARROS,C.S.; GRAÇA,D.L. Alterações oftálmicas associadas à intoxicação experimental por closantel em caprinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60, n.1, p.42-50. 2008.

FURLAN, F.H.; LUCIOLI,J.; BORELLI,V.; FONTEQUE,J.H.; STOLF,L.; TRAVERSO,S.D.; GAVA,A. Intoxicação por closantel em ovinos e caprinos no Estado de Santa Catarina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.29, n.1 p.89-93, 2009...

.HECKENLIVELY, J.R. e ARDEN,G.B. **Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision**. 2.ed. Massachusetts: MIT, 2006. 977p.

HENNESSY, D.R.; SANGSTER,N.C.; STEEL,J.W.; COLLINS, G.H. Comparative pharmacokinetic disposition of closantel in sheep and goats. **Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutic**. v.16, p.254-260. 1993.

KNAVE,B.; MOLLER,A.; PERSSON,H.E. A component analysis of the electroretinogram. **Vision Research**. v.12, p.1669-168, 1972.

KNAVE,B.; PERSSON,H.E. The effect of Barbiturate on Retinal Functions. I . Effects on the Conventional Electroretinogram of the Sheep Eye. **Acta Physiologica Scandinava**. v. 91, p. 53-60, 1974.

KOMMONEN,B.; HYVÄTTI,E.; DAWSON,W.W. Propofol modulates inner retina function in Beagles. **Veterinary Ophthalmology**. v.10, n.2, p.76-80, 2007.

LLOYD, J.B.; FITZGIBBON,C.C.; BARCHIA,I. Evaluation of a laboratory test to detect resistance to closantel in *Haemonchus contortus*. **Australian Veterinary Journal**. v.78, n.10, p. 710-714, 2000.

McENTEE,K.M.; GRAUWELS,M.; CLERCX,C. Closantel intoxication in a dog. **Veterinary and Human Toxicology**. v. 37, p.234-236. 1995.

NARFSTRÖM, K.; EKENSTEN, B.; ROSOLEN, S.G.; SPIESS, B.M.; PERCICOT, C.L.; OFRI, R. Guidelines of clinical electroretinography in the dog. **Documenta Ophthalmologica**. v.105, p.83-92, 2002.

PÉREZ, O.A.; NEGRETTE, S.M.; COPPO, J.A. Evaluacion del efecto provocado por closantel en distintas dosificaciones sobre el aparato ocular del bovino. **Veterinaria Argentina**. v.5, p.700-706, 1988.

REINEMEYER,C.R.; COURTNEY,C.H. Fármacos anticestóides e antitrematóides. In. ADAMS, H.R. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 8.ed. p.819-828, 2003.

TANSKANEN,P.; KYLMA,T.; KOMMONEN, B.; KARHUNEN,U. Propofol influences the electroretinogram to a lesser degree than thiopentone. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**. v. 40, p.480-485, 1996.

T'HOEN, E.; HODGKIN,G.;MILKEVICIUS,D. Harmful human use of donated veterinary drug. **The Lancet**. v.342, p.308-309, 1993.

6 ELETRORRETINOGRRAFIA EM CÃES COMO EXAME PRÉ-OPERATÓRIO DE CATARATA MATURA E HIPERMATURA – UM ESTUDO RETROSPECTIVO

Resumo:

A eletrorretinografia é um teste diagnóstico auxiliar rápido e não invasivo, o qual vem sendo usada com maior regularidade na oftalmologia de pequenos animais. O exame é indicado para avaliar a funcionalidade da retina antes de cirurgias de catarata e para ajudar no diagnóstico de atrofia de retina por meio de protocolos mais detalhados. A proposta deste trabalho foi realizar um estudo retrospectivo dos resultados de 46 eletrorretinogramas em cães com catarata madura e hipermadura bilateral referidos ao serviço de oftalmologia comparada da UFPR. Todos os cães receberam como medicação pré-anestésica midazolam na dose de 0,5 mg/kg e morfina na dose de 0,5 mg/kg IM, 20 minutos antes do exame receberam a instilação de uma gota de tropicamida 1% em ambos os olhos. A indução anestésica foi realizada pela administração de 1,5 mg/kg/min de propofol e 0,5 mg/kg/min de cetamina-S, IV, até ausência de reflexos palpebrais. Os ERG foram realizados utilizando um eletrorretinógrafo portátil (HM_sERG 1000), a intensidade dos flashes de luz para o protocolo escolhido eram de 3.000 e 10.000 mcd.s/m². Os parâmetros de amplitude e tempo implícito foram avaliados e uma análise estatística descritiva foi então realizada. Adicionalmente um teste de regressão simples foi aplicado para analisar o resultado da amplitude tanto da onda a quanto da onda “b”. Do total de cães examinados, 34,78% não apresentaram resposta ao exame, sendo diagnosticados com APR. As raças mais afetadas pela APR neste estudo foram Poodle e Cocker Spaniel Inglês. Uma grande diversidade na opacificação da lente foi observada nestes 46 casos. As raças Poodle e Lhasa Apso foram as que mais apresentaram catarata no estudo.

O modelo de regressão simples indicou que cerca de 62% da amplitude da onda “a” pode ser predito pela amplitude da onda “b”. A comparação do coeficiente de variação da amplitude das ondas “a” e “b” mostrou pequena variação no tempo implícito e grande variação entre as amplitudes. Tendo em vista que a opacificação da lente age como um filtro para a luz, estas mudanças na magnitude da resposta são esperadas. Assim, a qualidade da resposta ao ERG não deve ser mensurada somente pela amplitude das ondas “a” e “b”. O tempo implícito no qual as ondas aparecem é um parâmetro mais fidedigno para a avaliação do ERG, refletindo a funcionalidade da retina de maneira melhor do que a amplitude das ondas.

Palavras chave: amplitude, tempo implícito, eletrorretinografia, oftalmologia, retina.

6.1 Electrorretinography as a Pre-Operative Test in Dogs With Mature And Hypermature Cataracts - A Retrospective Study

Abstract

Electrorretinography is a quick and non-invasive ancillary diagnostic test which has been used more regularly in small animal ophthalmology. The exam is indicated to evaluate the functionality of the retina before cataract surgeries and to support the diagnosis of retinal atrophy when more detailed protocols are used. The purpose of this work was to perform a retrospective study of the results of electroretinograms in 46 dogs with the diagnosis of bilateral mature or hypermature cataracts referred to the comparative ophthalmology service at UFPR. All dogs received surgical treatment for cataracts and the postoperative result was satisfactory in all of them. Dogs were pre-medicated with 0.5 mg/kg

midazolam and 0.5 mg/kg morphine IM and received one drop of tropicamide 1% in both eyes 20 minutes prior to each ERG exam. Anesthesia was induced with 1.5 mg/kg/min propofol and 0.5 mg/kg/min S-ketamine, IV, until the absence of palpebral reflexes. ERGs were performed using a portable ERG system (HMsERG 1000) and the flash light intensities chosen for the protocol were 3,000 and 10,000 mcd.s/m². Amplitude and implicit time results were measured. A descriptive statistical analysis was performed. Additionally, a regression model was used to analyze a- and b-wave amplitude results. Of the total dogs examined, 34.78% had no response to the exam, being diagnosed with PRA. The breeds most affected with PRA in this study were Poodle and English Cocker Spaniel. A great diversity of lens opacities was observed in these 46 cases. Poodle and Lhasa Apso were the two most overrepresented breeds with cataracts. A regression model indicates that about 62% of the a-wave amplitude can be predicted from b-wave amplitude. The comparison of the coefficient of variation of a- and b-waves showed a small variation in implicit times and large variation in amplitudes. Since lens opacities act as a light filter, it changes the magnitude of the responses are expected. Thus, the quality of the ERG responses should not be only measured by the amplitude of the a- and b-waves. The implicit times in which the waves appear are more solid parameters for the evaluation of the ERG and reflect retinal functionality better than the a- and b-wave amplitudes.

Key words: amplitudes, implicit times, electroretinography, ophthalmology, retina

6.2 Introdução

A eletrorretinografia é um método diagnóstico rápido e não invasivo para avaliação da funcionalidade da retina. Faz-se a avaliação das células

fotorreceptoras, responsáveis pela fototransdução, em conjunto com as outras células que transmitem a informação elétrica ao nervo óptico (Aguirre e Rubin, 1975; Aguirre et al., 1997; Oria et al., 2004; Turney et al., 2007).

É usado com frequência na rotina clínica de pequenos animais para auxiliar em diagnósticos de doenças como atrofia progressiva de retina (APR) e degeneração súbita adquirida de retina (DSAR) e para avaliação da função geral da retina antes de cirurgias de catarata (Narfström et al., 2002).

Vários tipos de protocolo podem ser estabelecidos para o exame de ERG. Existem testes simplificados, principalmente utilizados na avaliação geral (não detalhada) da retina, recomendados, por exemplo, no pré-operatório das operações de catarata. O resultado de tal teste pode indicar ou contra-indicar a correção cirúrgica. Há também protocolos mais completos, nos quais o propósito é detectar, de maneira mais detalhada, as estruturas responsáveis pelos distúrbios de funcionalidade da retina (Narfström et al., 2002). Tais testes seriam indicados para detalhar o tipo de atrofia de retina que um dado paciente pode apresentar. Por último, existem protocolos nos quais empregam-se drogas que inibem camadas celulares específicas da retina, após serem injetadas no corpo vítreo. Tal manobra permite realizar uma “dissecação farmacológica” da retina, possibilitando assim, encontrar a célula ou camada de células doentes (Shaw et al, 2005).

O traçado do eletrorretinograma é composto por três ondas básicas. A onda “a” (onda inicial negativa), formada pelas correntes iônicas extracelulares geradas pelos fotorreceptores (cones e bastonetes). A onda “b” (onda positiva maior e mais lenta) reflete principalmente a atividade das células bipolares da retina, que se encontram entre os fotorreceptores e as células ganglionares,

transmitindo os sinais dos fotorreceptores para as células ganglionares (Heckenlively e Arden, 2006), o estímulo luminoso aumenta o potássio extracelular nas camadas plexiformes da retina, isto acontece pela despolarização das células bipolares (camada plexiforme externa) e pela indução das células amácrinas e ganglionares (camada plexiforme interna). Esta mudança no potássio provoca uma mudança no potencial de membrana das células de Muller, que geram correntes elétricas vindas destas células (Perlman, 2008). Por último, a onda “c” (onda positiva de aparecimento bem mais tardio) está relacionada com a polarização do epitélio pigmentar da retina (EPR) (Gum, 1980) e pode ser observada quando é feito um tipo especial de ERG, o ERG de longos flashes.

Inúmeros fatores influenciam a resposta da retina e o padrão da onda eletrorretinográfica. A luminosidade da sala, o tempo de adaptação do paciente ao escuro, idade, raça, sexo, doenças sistêmicas, tremores musculares, rede elétrica e, até mesmo, o protocolo anestésico altera o traçado do ERG (Liapis, 2004).

6.3 Material e métodos

Todos os exames eletrorretinográficos foram feitos no período de Abril/2008 a Junho/2009, na rotina do Hospital Veterinário da UFPR. Submeteu-se ao exame pacientes com catarata bilateral ou unilateral, madura ou hipermetura, além de animais com histórico de perda progressiva da visão.

No total, 46 cães foram encaminhados por diversos colegas veterinários ao serviço de oftalmologia comparada da UFPR, com idades variando de 2 a 17 anos e peso de 1,5 a 65,5 kg. As seguintes raças caninas estavam representadas: Poodle (17), Cocker Spaniel (7), Lhasa Apso (6), Schnauzer (3), sem raça definida - SRD (4), Maltês (2), Pinscher (1), Yorkshire Terrier (1), Retriever do

Labrador (1), Spaniel Bretão (1), Bernesi Mountain (1), Shih Tzu (1) e São Bernardo (1).

O protocolo de exame (ERG) selecionado foi o “QuickRetCheck” RetVet™ Corp, o qual consiste em estímulos por flashes de luz com intensidade de de 3000 e 10000 mcd.s/m².

Antes de cada procedimento, os animais foram submetidos a um jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 6 horas. A medicação pré-anestésica, constituída por midazolam (0,5 mg/kg, Dormire[®], Cristália, São Paulo-SP, Brasil) e morfina (0,5 mg/kg, Dimorf[®], Cristália, São Paulo-SP, Brasil), IM, foi aplicada durante a adaptação ao escuro, junto com a instilação de uma gota do colírio de Tropicamida 1% (Mydriacyl[®], Alcon, São Paulo, SP) em ambos os olhos, 20 minutos antes dos animais entrarem na sala de exame. Todos os animais receberam suporte hídrico parenteral (fluidoterapia) e suplementação com oxigênio, quando necessário.

Praticou-se a indução anestésica com propofol (1,5 mg/kg/min, Propovan[®], Cristália, São Paulo-SP, Brasil) e cetamina S(+) (0,5 mg/kg/min, Ketamin-S(+)[®], Cristália, São Paulo-SP, Brasil), IV, até a perda dos reflexos palpebrais e tolerância do animal ao blefarostato. Na seqüência, eram posicionados os eletrodos do tipo subdérmicos (FD-E2-24, Grass Technologies, Astro-Medical, Inc., West Warwick, RI). O primeiro deles é denominado de “terra” e foi inserido na região lombar do animal, seguido do “referência”, este inserido a 2,5 cm do canto temporal da rima palpebral do olho a ser examinado. Com o auxílio de um blefarostato, o eletrodo de contato (ERG-jet, Nicolet Instruments, Madison, WI) foi posicionado na córnea do animal. Em seguida, deu-se início ao teste utilizando um eletrorretinógrafo portátil (HM_sERG 1000, RetVet Corp, Columbia, EUA). Após

completo o teste em um olho, era repetida a operação no olho contralateral. Os dados obtidos foram analisados utilizando o programa de computador (*software*) ERGVIEW 2.1.1.0 (RetVet Corp, Columbia, EUA) e a análise estatística foi realizada pelos testes de regressão simples e coeficiente de variação.

6.4 Resultados

Após a realização dos exames, eram emitidos laudos nos quais constavam os traçados eletrorretinográficos obtidos como apresentados na interface do programa ERGVIEW (Figura 6.1 A e B).

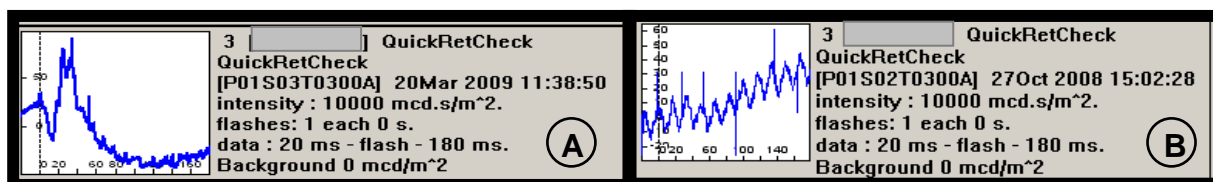


Figura 6.1. A) Traçado de uma resposta de retina satisfatória, quando estimulada com um flash de 10.000 mcd.s/m^2 e B) olho com a retina não responsiva a um *flash* de 10.000 mcd.s/m^2 , com diagnóstico de atrofia progressiva de retina (*“flat”* ERG).

Observou-se que dos 46 animais, 16 (34,78% dos casos) não apresentaram qualquer resposta ao teste, indicando perda da funcionalidade da retina (*“flat”* ERG), sendo assim, de acordo com histórico e exame oftálmico de cada um deles, diagnosticada APR. Dentro do grupo de pacientes que apresentou APR, 5 eram da raça Poodle, 5 Cocker Spaniel, 2 Lhasa Apso, 1 Yorkshire Terrier, 1 Retriever do Labrador, 1 Schnauzer e 1 SRD. A média de idade dos animais diagnosticados com APR foi de $8,75 \pm 2,2$ anos.

A média de amplitude da onda “a” dos animais que a retina funcional foi de $60,88 \pm 39,33 \mu\text{V}$, amplitude da onda “b” $145,08 \pm 60,98 \mu\text{V}$. As médias de tempo

implícito foram: onda “a” $14,9 \pm 1,85$ milisegundos e onda “b” $29,87 \pm 4,04$ milisegundos.

Os valores mínimos e máximos encontrados para a amplitude da onda “a” foram 8 e 160 μV , respectivamente. Já os valores mínimos e máximos para a amplitude da onda “b” foram 39 e 474 μV , respectivamente. As médias das principais raças examinadas podem ser observadas na tabela 1.

Todos os pacientes com retina funcional receberam indicação para realizar o procedimento cirúrgico de catarata.

Com relação ao diagnóstico de catarata, a raça que apresentou maior casuística foi também à raça Poodle, seguida da Lhasa Apso.

Tabela 6.1- Média da amplitude e do tempo implícito das ondas a e b da ERG com *flash* de 10.000 mcd.s/m² de acordo com a raça. Foram selecionadas e dispostas na tabela somente àquelas raças com pelo menos dois pacientes examinados.

Raça (n)	Amplitude média da onda a (μV) + DP	Tempo implícito médio Da onda a (mseg) + DP	Amplitude média da onda b (μV) + DP	Tempo implícito médio da onda a (mseg) + DP
Poodle (12)	85,77 \pm 55,74	14,64 \pm 1,89	149,01 \pm 108,08	30,06 \pm 3,29
Cocker Spaniel (2)	62,5 \pm 13,43	13,92 \pm 0,59	152,75 \pm 38,53	23,9 \pm 0,63
Lhasa Apso (4)	49,16 \pm 43,68	15,03 \pm 1	123,16 \pm 65,29	29,68 \pm 5,66
SRD (3)	50,7 \pm 31,77	16,21 \pm 1,29	145,41 \pm 66,59	31,78 \pm 3,82
Maltês (2)	70,75 \pm 29,34	15,17 \pm 0,6	145,55 \pm 18,73	28,52 \pm 5,33

Foi realizado também o teste de regressão simples nos dados de amplitude de ondas “a” e “b” das raças com resultados de ERG de dois ou mais pacientes (Figura 6.2). Em pacientes com catarata e sem atrofia progressiva de retina pode-se prever cerca de 62% da amplitude da onda “a” usando a amplitude da onda “b”, como na fórmula:

$$Y = 13,612 + 0,338 * X$$

Onde:

Y = valor da amplitude da onda a

X = valor da amplitude de onda b

$$R^2 = 0,616$$

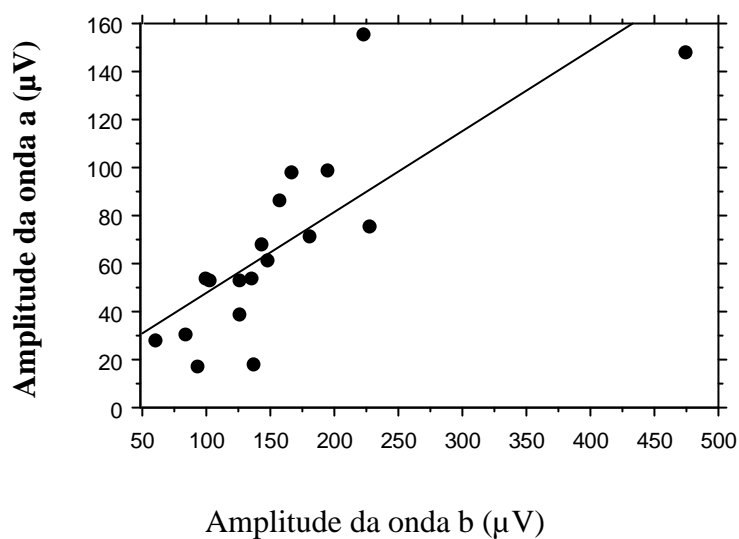


Figura 6.2 – Gráfico de regressão simples das amplitudes de ondas a e b da eletrorretinografia em cães. Foram selecionadas e dispostas no gráfico somente as raças com pelo menos dois pacientes examinados.

Como se pode observar, há grande variação das amplitudes das ondas “a” e “b”. Todavia, há pouca variação nas médias de tempo implícito das mesmas (Tabela 6.2). Os tempos implícitos médios não variam como as médias das amplitudes de onda “a” e “b”, como pode ser observado na comparação de coeficientes de variação (Tabela 6.2).

Tabela 6.2- Coeficiente de variação das amplitudes e tempo implícito das ondas a e b. Foram selecionadas e dispostas na tabela somente às raças com pelo menos dois pacientes examinados.

Coeficiente de variação			
Amplitude da onda a	Tempo implícito da onda a	Amplitude da onda b	Tempo implícito da onda b
0,581	0,087	0,571	0,128

6.5 Discussão

A ERG é hoje a melhor forma de avaliação da função da retina no animal vivo, ajudando principalmente na indicação de pacientes ao tratamento cirúrgico da catarata e na diferenciação de doenças da retina das cegueiras centrais.

A atrofia progressiva de retina (APR) é uma degeneração da retina hereditária que acomete diferentes raças de cães (Aguirre et al., 1972; Petersen-Jones, 1998).

Neste estudo, foi possível observar que as raças mais acometidas por esta doença, em concordância com Bergsjø et al. (1981) e Petersen-Jones (1998), são os Poodle e Cocker Spaniel.

A literatura (Aguirre et al., 1972; Bergsjø et al., 1981; Acland, 1988; Petersen-Jones, 1998) descreve que os primeiros sinais clínicos são nictalopia, seguida de hemeralopia progressiva, até o animal estar totalmente cego. Na consulta clínica dos animais, antes da realização da ERG, estes foram os principais dados da anamnese. Muitos proprietários não notam a perda de visão até que, além da APR, o animal apresente catarata madura ou hipermetura.

Sendo a ERG um exame qualitativo da função da retina, deve se advertir que, em animais com catarata, a resposta não deve ser mensurada pelo tamanho de onda nem pelo tempo implícito. Deve-se levar em consideração que a catarata

age como um filtro para a luz que incide na retina, alterando a magnitude da resposta (Maehara et al., 2007). Estes mesmos autores citam que o estágio de maturação da catarata, assim como a uveíte e também a ausência de lente (afacia), influencia no traçado do eletrorretinograma.

Portanto, a média dos valores de amplitude apresentada aqui deve ser encarada de maneira meramente descritiva, pois a quantidade exata de luz que estimulou a retina em cada caso não pode ser precisada devido à presença de catarata. Vale lembrar, portanto, que nos pacientes que apresentavam catarata tais valores não servem como parâmetros nem para a criação de limites mínimos para o julgamento quantitativo da funcionalidade da retina.

Outros fatores devem ser considerados na mensuração das ondas, como as diferentes raças, pesos, tamanhos, idades, tipos de anestesia utilizados, movimentos palpebrais durante o exame, dilatação da pupila, profundidade anestésica, saturação do O₂, pressão arterial, além de outras opacificações dos meios transparentes. Não esquecendo que, além destes, fatores relacionados às condições do procedimento também levam a alterações (local, aparelho, iluminação, tipos de eletrodos e distância dos eletrodos do olho) (Liapis, 2004; Mentzer, 2005).

Observamos que existe alguma relação de amplitude entre as ondas “a” e “b”. A onda “a” pode servir de variável explanatória da onda “b”, explicando cerca de 62% da variação da resposta da mesma. Todavia, observou-se grande variação de resposta de amplitude tanto na onda “a” como na onda “b”, pois há grande variação de opacificação causada pela catarata. Mesmo em dois pacientes com amplitude de onda “a” de cerca de 8 μ V tiveram ótimos resultados, com relação ao retorno à visão, após o procedimento cirúrgico de

facoemulsificação ter sido realizado. Portanto, a análise do tempo implícito é certamente mais valiosa. Para facilitar o entendimento, a comparação de coeficientes de variação das amplitudes e tempos implícitos das ondas “a” e “b” é bastante eficaz (Tabela 6.2), pois tal medida (coeficiente de variação) não tem dimensão (unidade). Diferentemente do desvio padrão, o coeficiente de variação não precisa do mesmo contexto das médias dos dados e, assim sendo, variações provenientes de dados não similares tais como amplitude e tempo implícito podem ser diretamente comparadas.

Concluindo, deste modo, mais importante do que um número mínimo (limite de corte) para as amplitudes das ondas “a” e “b” do ERG, especial atenção deve ser dada ao tempo implícito no qual a onda “a” ou “b” aparecem no traçado, uma vez que estes variam muito pouco, à forma do traçado e à presença dos demais componentes normais, tais como os potenciais oscilatórios para avaliar a funcionalidade da retina de cães por meio da eletrorretinografia antes de uma indicação cirúrgica.

6.6 Referências

ACLAND, G.M. Diagnosis and Differentiation of Retinal Diseases in Small Animals by Electrorretinography. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**. v. 3, p. 15-27, 1988.

AGUIRRE, G. D.; & RUBIN, L. F. Progressive Retinal Atrophy in the Miniature Poodle: An Electrophysiologic Study. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.160, p.191-201, 1972.

AGUIRRE, G. D.; & RUBIN, L. F. The electroretinogram in dogs with inherited cone degeneration. **Investigative Ophthalmology**. v.14, p.840- 847, 1975.

AGUIRRE, G.D.; ACLAND, G.M.; MAUDE, M.B.; ANDERSON, R.E. Diets Enriched in Docosahexaenoic Acid Fail to Correct Progressive Rod-Cone Degeneration (prcd) Phenotype. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**. v.38, p.2387-2407, 1997.

BERGSJØ,T.; OLSEN,E.;GOEBEL,H.; KOPPANG,N.; NILSSON,S.E.G.; ARMSTRONG,D. Retinal Atrophy in a Swiss Hound. **American Journal of Veterinary Research**. v.42, p.1785-1791, 1981.

CULLEN,C.R; GRAHN,B.H. Diagnostic Ophthalmology. **Canada Veterinary Journal**. v.43, p.729-730, 2002.

GUM, G.G. Electrophysiology in veterinary ophthalmology. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.10, p.437-454, 1980.

HECKENLIVELY, J.R. and ARDEN,G.B. **Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision**. 2.ed. Massachusetts: MIT, 2006. 977p.

LIAPIS,I.C. Electroretinography in Small Animal Practice. **29th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association**. 2004. Rhodes, Greece.

MAEHARA, S.; ITOH, N.; ITOH, Y.; WAKAIKI, S.; TSUZUKI, K.; IZUMISAWA, Y. The effects of cataract stage, lens-induced uveitis and cataract removal on ERG in dogs with cataract. **Veterinary Ophthalmology**. v.10, p.308-312, 2007.

MENTZER, A. ; EIFLER, D. ; MONTIANI-FERREIRA, F. ; TUNTIVANICH, N. ; FORCIER, J.; PETERSEN-JONES, S. Influence Of Recording Electrode Type And Reference Electrode Position On The Canine Electroretinogram (erg). **Documenta Ophthalmologica**, v. 111, n. 111, p. 95-106, 2005.

MONTGOMERY, K.W.; WOERDT, A.V.D.; COTTRILL, N.B. Acute Blindness in dogs: Sudden acquired retinal degeneration syndrome versus neurological disease (140 cases, 2000–2006). **Veterinary Ophthalmology**. v.11, n.5, p. 314-320, 2008.

NARFSTRÖM, K.; EKENSTEN, B.; ROSOLEN, S.G.; SPIESS, B.M.; PERCICOT, C.L.; OFRI, R. Guidelines of clinical electroretinography in the dog. **Documenta Ophthalmologica**. v.105, p.83-92, 2002.

ORIÁ, A.P.; LÁZARO-JÚNIOR, L.P.; HONSHO, C.S.; DÓREA-NETO; LAUS, J.L. Considerations about electroretinography in dogs. **Ciência Rural**. v.34, p.323-328, 2004.

PERLMAN, I. The Electroretinogram: ERG. Webvision. 2008. Disponível em: <http://webvision.med.utah.edu/ERG.html>. Acesso em: 04/09/2008.

SHAW, G.; MONTIANI-FERREIRA, F.; PETERSEN-JONES, S.M. Pharmacological Dissection of the Electroretinogram of the Retinopathy, Globe Enlarged (*rge*) Chicken. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v.46, abstract 5260, 2005.

SLATTER, D. **Fundamentos de Oftalmologia Veterinária**. 3 ed. Roca: São Paulo, SP 3. ed. 2005. 686p.

PETERSEN-JONES, S.M. A Review of Research to Elucidate the causes of the generalized Progressive Retinal Atrophies. **The Veterinary Journal**. v.155, p.5-18, 1998.

TURNEY, C.; CHONG, V.; ALEXANDER, R.A.; HOGG, R.H.; FLEMING, L.; FLACK, D.; BARNETT, K.C.; BIRD, A.C.; HOLDER, G.E. Pathological and Electrophysiological Features of a Canine Cone–Rod Dystrophy in the Miniature

Longhaired Dachshund. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**. v.48, p.4240-4249, 2007.

7 OBSERVAÇÕES CLÍNICAS E ELETRORRETINOGRÁFICAS EM CÃES COM PERDA SÚBITA DE VISÃO.

Resumo

O diagnóstico diferencial da perda súbita de visão inclui doenças neurológicas como intoxicações do sistema nervoso central, amaurose idiopática, neurite óptica retrobulbar, compressão ou neoplasia no quiasma óptico, tumores pituitários e outras cegueiras centrais de manifestação brusca. Além disso, a degeneração súbita adquirida de retina (DSAR), os descolamentos de retina e as toxicidades coriorretinianas são outras causas importantes de cegueira súbita, assim como crises de hipertensão. A DSAR é uma doença que afeta cães de meia-idade, geralmente obesos, cujo principal sinal clínico é a perda de visão associada a fundoscopia sem alterações. Para chegar ao diagnóstico preciso, há a necessidade da realização da eletrorretinografia (ERG), a fim de se avaliar a funcionalidade da retina. O objetivo do presente trabalho é relatar a prevalência dos casos de cegueira súbita, particularmente de DSAR, atendidos na casuística do Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR. Nove animais foram encaminhados ao Serviço de Oftalmologia comparada com a queixa de perda súbita da visão. Todos foram submetidos a consulta oftalmológica completa, seguida de indicação da ERG. Em três casos foi feita documentação fotográfica do fundo de olho empregando uma lâmpada de fenda com capacidade de oftalmoscopia indireta. Dos nove casos, quatro foram submetidos ao ERG pelo protocolo "QuickRetCheck", o qual consiste em estímulos por *flashes* de luz com intensidade de de 3000 e 10000 mcd.s/m². Para o exame os animais foram pré-medicados com 0,5 mg/kg midazolam e 0,5 mg/kg morfina, IM, foi instilada uma gota do colírio de Tropicamida 1% em ambos os olhos, durante a adaptação ao

escuro (20 minutos). Foram anestesiados com 1,5 mg/kg/min de propofol e 0,5 mg/kg/min cetamina S(+), IV, até a perda dos reflexos palpebrais e tolerância ao blefarostato. Dos animais avaliados, três foram considerados suspeitos de DSAR, dois foram diagnosticados com retinotoxicidade induzida por drogas (fármacos) e quatro com DSAR. Não foi detectada qualquer alteração na fundoscopia dos animais e nos exames de eletrretinografia foi observada ausência de resposta. A prevalência dos casos de DSAR na casuística total do Serviço de Oftalmologia Comparada foi de 1,18% (quatro de 339 casos) e dentro dos nove casos de cegueira abrupta foi de 44,5% (quatro de nove casos). Concluindo, para um diagnóstico preciso da DSAR é necessária a eletrretinografia, mas infelizmente, ainda se classifica a DSAR como uma doença sem cura, apesar dos animais se adaptarem com certa facilidade a vida sem visão.

Palavras-chave: retinotoxicidade, cães, prevalência, degeneração súbita adquirida de retina

7.1 ELECTRORETINOGRAPHIC AND CLINICAL OBSERVATIONS IN DOGS WITH SUDDEN VISION LOSS

Abstract

The differential diagnosis of sudden vision loss include neurological diseases such as central nervous system intoxication, optic neuritis, retrobulbar lesions, compression induced by a tumor in the optic chiasm, pituitary tumors and other sudden central blindness. Furthermore, acute hypertension, sudden acquired retinal degeneration (SARD), retinal detachment and chorioretinal toxicities are other important causes of sudden blindness. SARD is a disease that affects dogs of middle age, usually obese and the main clinical sign is the vision loss associated with normal fundus, to get to a diagnosis, there is a necessity of

electroretinography to evaluate retinal function. The purpose of this study is to report the prevalence of cases of sudden blindness, particularly SARD, seen at the Comparative Ophthalmology Service, UFPR. Nine animals were sent to the Comparative Ophthalmology Service with the complaint of sudden loss of vision. All patients were submitted to a complete ophthalmic exam, in three cases fundus photographs were taken using a slit lamp with a indirect ophthalmoscope built in, in three cases blood tests were performed. An ERG was suggested to all of them but only in four cases it was performed. The ERG protocol selected was "QuickRetCheck", which consists of stimulation by flashes of light with intensity of 3,000 and 10,000 mcd.s/m². For the test, animals were premedicated with 0.5 mg / kg midazolam and 0.5 mg / kg morphine, IM. A drop of 1% tropicamide in both eyes was applied during dark adaptation (20 minutes). They were then anesthetized with 1.5 mg / kg / min of propofol and 0.5 mg / kg / min ketamine S (+), IV, until loss of eyelid reflexes and tolerance to eyelid speculum. In all nine cases of sudden blindness, three had the presumptive diagnosis of SARD; two were diagnosed with retinal toxicity induced by drugs and four with confirmed SARD. No changes in the fundus of the animals diagnosed with SARD were found and no response in ERGs was observed also. The prevalence of SARD cases seen considering the total caseload of UFPR's Comparative Ophthalmology Service during one year was 1.18% (four out of 339 cases). Within the total of nine cases of sudden blindness a prevalence of 44.5% of confirmed SARDs was seen (four out of nine cases). In conclusion, for an exact diagnosis of SARD the electroretinography is necessary. Unfortunately, SARD still ranks as an incurable disease, despite the animals to adapt quite easily to life without vision.

Key words: retinal toxicity, dogs, prevalence, SARD.

7.2 Introdução

7.2.1 Causas de cegueira súbita

O diagnóstico diferencial da perda súbita de visão inclui doenças neurológicas como intoxicações do sistema nervoso central, amaurose idiopática, neurites ópticas, incluindo as retrobulbares (por meningoencefalite granulomatosa, por exemplo), compressão ou neoplasia no quiasma óptico, tumores pituitários e outras cegueiras centrais de manifestação brusca (Montgomery et al., 2008). Episódios agudos de hipertensão também podem causar cegueiras súbitas. Além disso, a degeneração súbita adquirida de retina (DSAR), os descolamentos de retina e as toxicidades coriorretinianas são outras causas importantes de cegueira súbita. O diagnóstico de todas estas condições baseado no histórico, sinal clínico, exame oftálmico e neurológico com especial atenção para a fundoscopia e eletrorretinografia (Keller et al., 2006).

7.2.2 Etiologia da degeneração súbita adquirida de retina (DSAR)

Pouco se sabe ainda sobre a correta etiologia e fisiopatologia da DSAR (Montgomery et al., 2008). Um estudo revela a possível relação entre a concentração elevada de glutamato no vítreo levando a toxicidade da retina, embora essa teoria tenha sido explorada, ela ainda é desconhecida (Keller et al., 2006). Alguns casos de DSAR têm mostrado uma forte relação com hepatopatia que pode cursar concomitantemente. Tais casos geralmente apresentam níveis de fosfatase alcalina sérica, aminotransferase sérica, colesterol sérico ou bilirrubina sérica elevada (Gelatt, 2003). Miller et al. (1998), sugerem que, independente da etiologia da doença, a apoptose dos fotorreceptores leve a degeneração da retina, porém é desconhecido o caminho ou distúrbio sistêmico

que leva a esse mecanismo. Entretanto, sabe-se que a apoptose é quase sempre o resultado final. Bellhorn, et al (1988) adicionalmente propuseram a possibilidade da DSAR ser imunomediada, uma vez que cinco dos cães por ele estudados apresentaram anticorpos anti-retina, levando a hipótese da DSAR ser uma retinopatia auto-imune.

7.2.3 Histórico e sinais clínicos da DSAR

A doença afeta principalmente cães de meia idade, obesos, ou que freqüentemente, obtiveram ganho de peso e sem predisposição racial, sendo caracterizada pela perda abrupta da visão (Montgomery et al., 2008). A maioria dos cães afetados apresenta moderada dilatação pupilar, reflexo pupilar presente, mas geralmente diminuído ou ausente além de leve/moderada hiperemia conjuntival em alguns casos. No início da doença o fundo ocular aparece sem alterações à fundoscopia, entretanto em estágios mais avançados atenuação de vasos da retina e aumento da reflexividade tornam-se aparentes (McLellan, 2002).

7.2.4 Eletrorretinografia da DSAR

A eletrorretinografia (ERG) é um método diagnóstico rápido e não-invasivo para avaliação da funcionalidade da retina. Com o exame é possível realizar uma avaliação geral da função das células fotorreceptoras, que são as responsáveis pela fototransdução, que, em conjunto com as outras células, transmitem a informação elétrica ao nervo óptico (Aguirre e Rubin, 1975; Aguirre et al., 1997; Turney et al., 2007). Com freqüência a ERG é usada na rotina clínica de pequenos animais para auxiliar nos diagnósticos de doenças como atrofia progressiva de retina (APR) e degeneração súbita adquirida de retina (DSAR) e

para avaliação da função geral da retina antes de cirurgias de catarata (Narfström et al., 2002). A ERG é de grande importância diagnóstica para determinar a causa da cegueira, sendo uma chave para o diagnóstico diferencial já que em animais com DSAR, a atividade elétrica da retina é ausente, e nas doenças neurológicas causadoras de cegueira súbita, a atividade elétrica da retina é presente.

7.2.5 Objetivos do estudo

Este estudo retrospectivo tem o objetivo de relatar a prevalência dos casos de cegueira súbita, particularmente de DSAR, atendidos na casuística do Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR. Adicionalmente, o estudo demonstra a importância do uso da eletrorretinografia, além de outros exames complementares, como ferramenta de auxílio ao médico veterinário ao diagnosticar a DSAR e outras cegueiras abruptas.

7.3 Material e métodos

Foram examinados 9 cães de acordo com a Tabela 7.1, encaminhados ao Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR, com a queixa principal de perda súbita de visão.

Tabela 7.1- Pacientes encaminhados ao Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR com queixa de perda súbita de visão durante o período de um ano.

Raça	Idade (anos)	Sexo	Peso (kg)	Diagnóstico
Pinscher	8	Fêmea	2,7	suspeita de DSAR
Sem raça definida	2	Fêmea	2,1	Toxicidade induzida por drogas
Dachshund	3	Fêmea	5,3	Retinotoxicidade induzida por drogas Hiperadrenocorticismo, suspeita de
Schnauzer	10	Fêmea	8,5	DSAR
Poodle	7	Fêmea	7	DSAR
Poodle	6	Macho	8	DSAR
Cocker Spaniel	5	Fêmea	10,5	DSAR
Lhasa Apso	3	Fêmea	5	DSAR
Pinscher	8	Fêmea	3,6	suspeita de DSAR

Todos os pacientes foram submetidos à consulta oftalmológica completa, em 3 casos foram feitas fotografias de fundo de olho empregando uma lâmpada de fenda com capacidade de oftalmoscopia indireta (Hawk eye, Dioptrix, L'Union, França). Quando o proprietário concordava com exames adicionais de sangue (três casos), os exames realizados foram: hemograma com contagem de plaquetas e perfil bioquímico (ALT, creatinina, fosfatase alcalina, glicose, GGT e uréia).

Houve indicação da realização da ERG para todos os casos, mas somente em quatro deles os proprietários autorizaram o exame. O protocolo de exame (ERG) selecionado foi o "QuickRetCheck" (RetVet™ Corp, Columbia, Missouri), o

qual consiste em estímulos por *flashes* de luz com intensidade de de 3000 e 10000 mcd.s/m².

Antes de cada procedimento, os animais foram submetidos a um jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 6 horas. A medicação pré-anestésica, constituída por midazolam (0,5 mg/kg, Dormire[®], Cristália, São Paulo-SP, Brasil) e morfina (0,5 mg/kg, Dimorf[®], Cristália, São Paulo-SP, Brasil), IM, foi aplicada durante a adaptação ao escuro, que durou 20 minutos, junto com a instilação de uma gota do colírio de Tropicamida 1% (Mydriacyl[®], Alcon, São Paulo, SP) em ambos os olhos. Todos os animais receberam suporte hídrico parenteral (fluidoterapia) e suplementação com oxigênio, quando necessário.

Realizou-se a indução anestésica com propofol (1,5 mg/kg/min, Propovan[®], Cristália, São Paulo-SP, Brasil) e cetamina S(+) (0,5 mg/kg/min, Ketamin-S(+)[®], Cristália, São Paulo-SP, Brasil), IV, até a perda dos reflexos palpebrais e tolerância do animal ao uso de um blefarostato. Na seqüência, eram posicionados os eletrodos do tipo subdérmicos (FD-E2-24, Grass Technologies, Astro-Medical, Inc., West Warwick, RI). O primeiro deles é denominado de “terra” e foi inserido na região lombar do animal, seguido do “referência”, este inserido a 2,5 cm do canto temporal da rima palpebral do olho a ser examinado. Com o auxílio de um blefarostato, o eletrodo de contato (ERG-*jet*, Nicolet Instruments, Madison, WI) foi posicionado sobre a córnea do animal. Em seguida, deu-se início ao teste utilizando um eletrorretinógrafo portátil (HM_sERG 1000, RetVet Corp, Columbia, EUA). Após completo o teste em um olho, era repetida a operação no olho contralateral. Os dados obtidos foram observados utilizando o programa de computador (*software*) ERGVIEW 2.1.1.0 (RetVet Corp, Columbia, EUA).

7.4 Resultados

Durante a consulta oftálmica, a queixa principal de todos os casos era que o paciente teria perdido a visão rapidamente. Nos quatro casos (dois Poodles, Lhasa Apso e Cocker Spaniel) nos quais foram realizadas as ERGs e no caso de um dos animais (da raça Pinscher), os proprietários procuraram o Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR somente com a queixa de perda abrupta de visão.

No total concluímos que dos nove casos de cegueira abrupta atendidos pelo Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR, 4 deles foram considerados como DSAR e três, como suspeitos de DSAR.

Com relação aos outros dois casos, em um deles o proprietário de um cão SRD relatou a ingestão acidental de ivermectina (comprimido de 12 mg) com queixa de vômito e perda de visão. O animal da raça Dachshund estava sendo tratado com carprofeno 25mg SID e cefalexina 50 mg por via oral e havia recebido pomada de cloranfenicol para o tratamento de uma conjuntivite, proprietário relata perda de visão abrupta dois dias antes do paciente ser trazido ao Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR. Nestes dois casos, atribuídos à toxicidade de sistema nervoso central (SNC) e retina, respectivamente, induzida por drogas (fármacos), como esperado, a visão dos pacientes voltou em aproximadamente duas semanas, não sendo considerados portadores de DSAR, a despeito das ERGs não terem sido realizadas .

Dentre os casos suspeitos de DSAR, o animal da raça Schnauzer, já estava sendo tratado para hiperadrenocorticismo quando o proprietário observou a perda da visão. Por último, um animal que o proprietário relata a perda da visão

logo após um assalto em sua casa. Foi observado também que dos nove casos somente um era macho.

Com relação aos exames sanguíneos, notou-se em três animais (dois casos e um suspeito de DSAR), um aumento na ALT e FA. Sendo que em um dos casos já havia histórico prévio de hiperadrenocorticismos.

Durante o exame, foram feitas fotografias da fundoscopia realizada, e como se pode observar na Figura 7.1, todos os animais apresentaram o fundo de olho sem alterações ou lesões detectáveis.

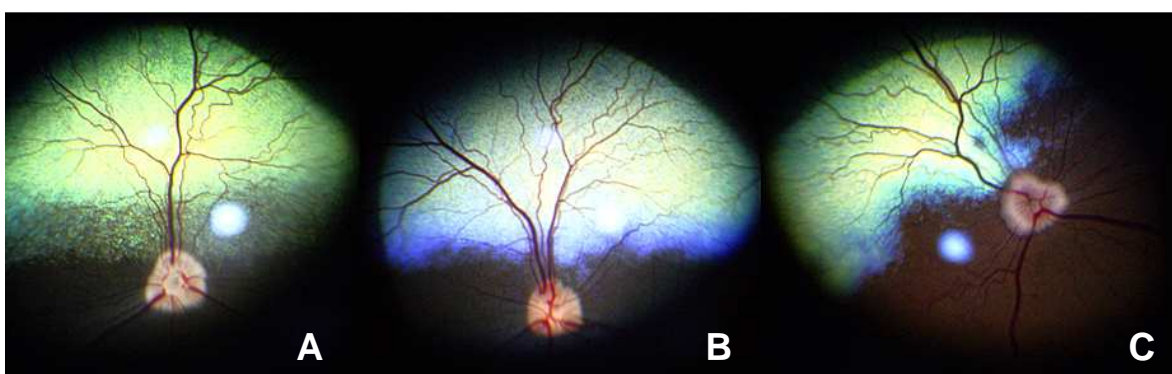


Figura 7.1. Fundo de olho de três dos quatro casos atendidos e diagnosticados como DSAR (Hawk eye, Dioptrix, L'Union, França). Na fundoscopia tais animais não apresentaram qualquer lesão que indicasse perda da funcionalidade da retina. Todavia, em todos eles não havia qualquer resposta aos estímulos de flashes luminosos, indicando perda da funcionalidade da retina ("flat" ERG) – indicando DSAR. A) cão da raça Poodle, 7 anos, fêmea; B) cão da raça Cocker Spaniel, 5 anos, fêmea; e C) cão da raça Lhasa Apso, 3 anos fêmea.

Sabe-se que o eletrorretinograma é extinto nos casos de DSAR, mas permanecem nas outras causas de cegueira abrupta que não comprometem a retina (Narfstrom, 1999). Com relação ao exame eletrorretinográfico dos quatro animais, sendo 8% dos exames de ERG no período de um ano de atendimento do Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR, todos não apresentaram qualquer resposta aos estímulos de *flashes* luminosos, indicando perda da funcionalidade

da retina (“flat” ERG) Figura 2, sendo assim, de acordo com histórico e exame oftálmico de cada um deles, foi diagnosticada a DSAR.

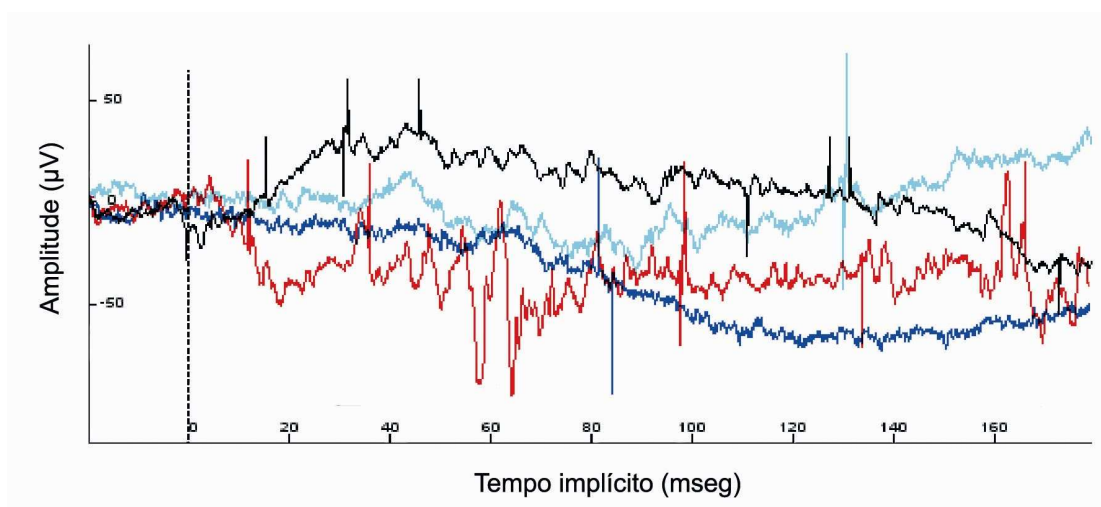


Figura 7.2- Resultados dos ERGs dos quatro casos confirmados de DSAR sobrepostos sobre um mesmo eixo. Nota-se que não há respostas compatíveis com relação ao tempo implícito e amplitude de onda “a” ou onda “b”.

A prevalência da DSAR na casuística total do Serviço de Oftalmologia Comparada da UFPR foi 1,18% (quatro de 339 casos) e a prevalência dentro dos casos de cegueira abrupta foi 44,5% (quatro de nove casos).

7.5 Discussão

A degeneração súbita adquirida de retina (DSAR), acomete animais normalmente com mais de 5 anos de idade e a perda de visão normalmente acontece num período de 24 horas até 4 semanas tendo assim uma evolução a cegueira muito rápida (Cullen e Grahn, 2002). No nosso estudo pôde-se observar que as idades acometidas pela DSAR variam consideravelmente, de modo contrário do que foi relatado pelos autores já citados, foram em alguns casos menores (2, 3 anos de idade em três dos nove casos e chegando até 10 anos de idade em um dos casos). Na literatura encontra-se a citação de que a DSAR

geralmente é acompanhada por um histórico de poliúria, polidipsia e polifagia, o que não foi observado ou relatado pelos proprietários, a não ser pelo caso de DSAR acompanhada de hiperadrenocorticismo no qual o proprietário relatou polifagia, discordando assim dos achados de Montgomery et al. (2008).

Assim como Montgomery et al. (2008), pode-se notar um aumento nas enzimas ALT e FA em 2 casos de DSAR, nos outros dois as enzimas estavam no valor limite. Foi observada também essa alteração no caso de hiperadrenocorticismo. Outras alterações relatadas não foram observadas. Um dos casos (Schnauzer) mostra uma possível associação da DSAR com o hiperadrenocorticismo, corroborando com McLellan (2002), que relata que os animais que demonstram anormalidades a estimulação com ACTH ou supressão de dexametasona em doses baixas, apresentaram a DSAR. Todavia, a DSAR pode estar associada também a outras afecções endócrinas como o hipotireoidismo e o diabetes (McLellan, 2002).

Do mesmo modo que Acland et al. (1988) todos os animais diagnosticados com DSAR não apresentaram lesões detectáveis na retina. Tal situação de achados clínicos fez com que originasse uma frase famosa para a DSAR: “Nesta doença o animal não vê nada e o médico veterinário não vê nada também”.

A eletrorretinografia é o exame utilizado para a confirmação do diagnóstico de DSAR, confirmando a perda da função das células fotorreceptoras da retina (Cullen e Grahn, 2002). Na DSAR, o exame eletrorretinográfico mostra um traçado com a ausência de ondas (*Flat* ERG). O que foi observado nos 4 casos em que foi realizado o exame (Fig. 7.2).

Resultados de testes recentes feitos em seres humanos com doenças de retina sugeriram que algumas doenças poderiam ser medicadas com vitaminas e

minerais, e que o uso dessas retardariam os sinais da DSAR (Grozdanik, 2007). Também foi relatado em 2007 por Grozdanik, o uso da imunoglobulina intravenosa (IVIg), segundo ele, o perfil molecular da DSAR, é muito semelhante ao da retinopatia imunomediada em seres humanos induzida por anticorpos, sendo isso a chave do tratamento com IVIg.; em seu trabalho foi observado cura em apenas dois casos.

Apesar das informações recentes sobre tratamento, infelizmente ainda classificamos a DSAR como doença sem cura. A retina é uma extensão do nervo óptico e especificamente do diencéfalo e dessa forma, como célula neural, não se regenera assim como os outros tecidos nervosos, fazendo com que os animais afetados permaneçam cegos (McLellan, 2002). Porém, diferentemente da cegueira nos seres humanos, muitos cães adaptam-se em algumas semanas ou em alguns meses, memorizando os obstáculos e locais da casa, assim podendo deambular com certa tranquilidade em ambientes familiares.

7.6 Referências

ACLAND, G.M. Diagnosis and Differentiation of Retinal Diseases in Small Animals by Electroretinography. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**. v. 3, p. 15-27, 1988.

AGUIRRE, G. D. & RUBIN, L. F. The electroretinogram in dogs with inherited cone degeneration. **Investigative Ophthalmology**. v.14, p.840- 847, 1975.

AGUIRRE, G.D.; ACLAND, G.M.; MAUDE, M.B.; ANDERSON, R.E. Diets Enriched in Docosahexaenoic Acid Fail to Correct Progressive Rod-Cone Degeneration (prcd) Phenotype. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**. v.38, p.2387-2407, 1997.

BELLHORN RW, MURPHY CJ, THIRKILL CE. Anti-retinal immunoglobulins in canine ocular disease. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)** . v.3, p.28-32, 1988.

CULLEN,C.R; GRAHN,B.H. Diagnostic Ophthalmology. **Canada Veterinary Journal**. v.43, p.729-730, 2002.

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

GROZDANIC,S. Researchers find cure for dogs with sudden acquired retinal degeneration syndrome.**Medical Reserach News**. 2007. Disponível em: www.news-medical.net/news. Acesso em: 18/10/2009.

KELLER, R.L.; KANIA,S.A.; HENDRIX,D.V.H.; WARD, D.A.; ABRAMS,K. Evaluation of canine serum for the presence of antiretinal autoantibodies in sudden acquired retinal degeneration syndrome. **Veterinary Ophthalmology**. v.9, n.3, p. 195-200, 2006.

MCLELLAN,G. The canine funds.In: PETERSEN-JONES, S.M. **BSVA Manual of Small Ophthalmology**. 2.ed. British Small Animal Veterinary Association: Quedgeley, Gloucester. 2002. p.238.

MILLER PE, GALBREATH EJ, KEHREN JC *ET AL*. Photoreceptor cell death by apoptosis in dogs with sudden acquired retinal degeneration syndrome. **American Journal of Veterinary Research**. v. 59, p. 149–152, 1998.

MONTGOMERY,K.W.; WOERDT,A.V.D.; COTTRILL,N.B. Acute Blindeness in dogs: Sudden acquired retinal degeneration syndrome versus neurological

disease (140 cases, 2000–2006). **Veterinary Ophthalmology**. v.11,n.5, p. 314-320, 2008.

NARFSTRÖM,K.; EKENSTEN,B.; ROSOLEN,S.G.; SPIESS,B.M.; PERCICOT,C.L.; OFRI,R. Guidelines of clinical electroretinography in the dog. **Documenta Ophthalmologica**. v.105, p.83-92, 2002.

NARFSTROM,K.; EKESTEN,B. Diseases of the canine ocular fundus. In: GELATT,K.N. **Veterinary Ophthalmology**. 3.ed, Baltimore, Lippincott: Williams and Wilkins. 1999. p. 869-933.

TURNEY, C.; CHONG, V.; ALEXANDER, R.A.; HOGG, R.H.; FLEMING, L.; FLACK, D.; BARNETT, K.C.; BIRD, A.C.; HOLDER, G.E. Pathological and Electrophysiological Features of a Canine Cone–Rod Dystrophy in the Miniature Longhaired Dachshund. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**. v.48, p.4240-4249, 2007.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A contribuição para o estudo experimental em pequenos ruminantes e a rotina em pequenos animais mostrou que o uso do eletrorretinógrafo em Medicina Veterinária no Brasil ainda é recente, mas em amplo crescimento necessitando de maiores estudos nesta área.

A pesquisa experimental em pequenos ruminantes destacou que o desenvolvimento dos cordeiros faz com que o traçado eletrorretinográfico se desenvolva com uma diminuição da amplitude e aumento do tempo implícito das ondas, além de demonstrar que tanto a cetamina S(+) quanto a sua associação com o propofol são eficazes para promover contenção, segurança e praticidade para a ERG, porém quando o propofol é associado, ocorre uma centralização do bulbo e menor interferência no traçado. Outra consideração interessante é que o closantel na dose de 15 mg/kg, não provoca modificações permanentes nas estruturas da retina e nervo óptico e tampouco modificações clinicamente detectáveis na visão dos animais tratados, sendo portanto, relativamente segura para o uso em carneiros.

No uso da ERG em pequenos animais, mais importante do que um número mínimo (limite de corte) para as amplitudes das ondas “a” e “b” do ERG, especial atenção deve ser dada ao tempo implícito no qual a onda “a” ou “b” aparecem no traçado, uma vez que estes variam muito pouco, à forma do traçado e à presença dos demais componentes normais, tais como os potenciais oscilatórios para avaliar a funcionalidade da retina de cães por meio da eletrorretinografia antes de uma indicação cirúrgica. Para um diagnóstico preciso da DSAR também é necessária a eletrorretinografia, porém ainda se classifica a DSAR como uma

doença sem cura, entretanto, os animais se adaptam com certa facilidade a vida sem visão.

9 ANEXO



Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Agrárias
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA

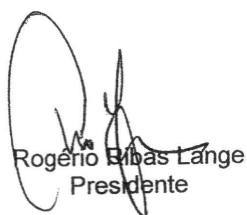
CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 030/2008, referente ao projeto “Achados Oftálmicos em ovinos tratados com Closantel”, sob a responsabilidade de Marianna Bacellar Teodoro da Silva, na forma em que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 06 de outubro de 2008. Este certificado expira em 06 de outubro de 2009.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 030/2008, regarding the project “Ophthalmic finding in Closantel treated Sheep”, in charge of Marianna Bacellar Teodoro da Silva, in the terms it was presented, was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Parana, Southern Brazil) during session on October 06, 2008. This certificate expires on October, 2009.

Curitiba, 06 de outubro de 2008.


Rogério Elias Lange
Presidente


Fabiano Montiani Ferreira
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná.

10 VITA

Médica Veterinária formada pela Universidade Tuiuti do Paraná (2007).

Cursou pós-graduação (mestrado) na área de Oftalmologia Veterinária na Universidade Federal do Paraná

Cursando Especialização em Oftalmologia Veterinária pela Anclivepa-Sp.

Trabalho de dissertação de mestrado em Oftalmologia Comparada.

Dentro dos principais trabalhos publicados estão:

- História da Eletrorretinografia - (BACELLAR, M.; MONTIANI-FERREIRA,F.; SOMMA, A. T.; BARROS FILHO, I.R - Archives of Veterinary Science, v. 13, p. 279-285, 2008.
- Bilateral phacoemulsification in an orangutan (*Pongo pygmaeus*) - (MONTIANI-FERREIRA,F.; LIMA, L.; RIBAS LANGE, R.; FEDULLO,J.D.L.; BACELLAR, M.; VILANI, R.G.D.O. C) - Veterinary Ophthalmology, 2010.