

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

FLÁVIA BIONDI

CONTRIBUIÇÕES SOBRE IMPLANTES POLIMÉRICOS INTRAOCULARES E
INVESTIGAÇÕES SOBRE TERMOGRAFIA DA SUPERFÍCIE OCULAR E
GRAVIDADE ESPECÍFICA DA LÁGRIMA RELACIONADAS AO TESTE DE
SCHIRMER

CURITIBA, 2013

FLÁVIA BIONDI

CONTRIBUIÇÕES SOBRE IMPLANTES POLIMÉRICOS INTRAOCULARES E
INVESTIGAÇÕES SOBRE TERMOGRAFIA DA SUPERFÍCIE OCULAR E
GRAVIDADE ESPECÍFICA DA LÁGRIMA RELACIONADAS AO TESTE DE
SCHIRMER

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências Veterinárias, do Setor de
Ciências Agrárias, da Universidade Federal do
Paraná, como requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Professor Dr. Fabiano Montiani-Ferreira

CURITIBA

2013

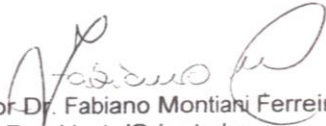
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“CONTRIBUIÇÕES SOBRE IMPLANTES POLIMÉRICOS INTRAOCULARES E INVESTIGAÇÕES SOBRE TERMOGRAFIA DA SUPERFÍCIE OCULAR E GRAVIDADE ESPECÍFICA DA LÁGRIMA RELACIONADAS AO TESTE DE SHIRMER”** apresentada pela Mestranda **FLÁVIA BIONDI** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09-CEPE/UFPR, que considerou a candidata APTA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 21 de março de 2013.


Professor Dr. Fabiano Montiani Ferreira
Presidente/Orientador


Doutora Heloisa Helena Abil Russ
Membro


Professor Dr. Peterson Triches Dornbusch
Membro

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família pelo apoio nesses anos de estudo e especialização; sem eles nada disso seria possível.

Aos meus colegas de mestrado, e toda equipe de Oftalmologia do Hospital Veterinário, obrigada pelo companheirismo nesses dois anos.

A equipe do Grupo de Estudos “Simon Petersen Jones”, pela ajuda nos experimentos e com o trabalho escrito.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fabiano Montiani-Ferreira, por ter me aceitado e auxiliado nesse processo.

Aos membros da banca Prof. Dr. Peterson Dornbush pelo auxílio na pesquisa e nos experimentos, e a Dra. Heloisa Russ pela disponibilidade.

Aos amigos de infância, graduação e pós, que permitiram que eu fizesse parte da vida deles e sempre estão ao meu lado independentemente das circunstâncias; e ao Gilberto De Bona Foltran, pelo apoio incondicional, sempre.

RESUMO

Este trabalho foi subdividido em três capítulos independentes entre si, buscando contribuir com inovações para o diagnóstico e tratamento de doenças oftálmicas comuns na medicina de animais domésticos. Dessa forma, foi realizada, no primeiro capítulo, extensa revisão bibliográfica sobre novos sistemas de distribuição de drogas direcionadas ao segmento posterior do olho, visando maior eficiência de tratamento e conforto para o paciente em doenças como, por exemplo, a Uveíte Recorrente Equina. Foi também adicionado ao capítulo um breve relato de caso de equino atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná. O segundo capítulo refere-se à pesquisa utilizando a termografia infravermelha para estabelecer valores de temperatura para olhos de cães normais e olhos de cães com ceratoconjutivite seca, objetivando estabelecer um novo método auxiliar diagnóstico para desordens da superfície ocular. O terceiro capítulo explorou a gravidade específica da lágrima relacionando-a com o Teste Lacrimal de Schirmer, no intuito de se obter uma técnica diagnóstica alternativa que refletisse a osmolaridade lacrimal, que hoje é referida como padrão-ouro para o diagnóstico da síndrome do olho seco, porém é técnica de alto custo e complexidade.

Palavras-chave: Implantes Poliméricos; Uveíte Recorrente Equina; Termografia Infravermelha; Ceratoconjutivite Seca; Densidade Específica; Lágrima.

ABSTRACT

This work was divided in three independent chapters, seeking to contribute to innovations regarding diagnosis and treatment of common ophthalmic diseases in pet medicine. Thus, in the first chapter, an extensive literature review was performed on new delivery drug systems targeted to the posterior segment of the eye, seeking greater treatment efficiency and patient comfort in diseases such as, for example, Equine Recurrent Uveitis. It was also added to the chapter a brief case report of equine assisted at the Federal University of Paraná. The second chapter refers to an investigation using infrared thermography to establish temperature values for dog normal eyes and eyes with keratoconjunctivitis sicca, aiming to establish a new method to help diagnose disorders of the ocular surface. The third chapter investigated the relation between specific gravity of the tear and Schirmer Tear Test in order to explore an alternative diagnostic technique that reflected the tear osmolarity which today is referred to as the gold standard for the diagnosis of dry eye syndrome, but is costly and technical complexity.

Keywords: Polymeric Implants; Equine Recurrent Uveitis; Infrared Thermography; Keratoconjunctivitis Sicca; Specific Gravity; Tear.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 (CAPÍTULO 1) – CAVALO COM UVEÍTE RECORRENTE EQUINA (URE) ANTES DA COLOCAÇÃO DE IMPLANTES INTRAVÍTREOS. OBSERVE A INTENSA MIOSE, SINÉQUIA ANTERIOR E EDEMA CORNEANO, SINAIS CLÁSSICOS DE URE.....22

FIGURA 2 (CAPÍTULO 1) – MESMO OLHO DA FIGURA 1, SEIS DIAS APÓS A COLOCAÇÃO DOS IMPLANTES, DEMONSTRANDO MELHORA SIGNIFICATIVA. NOTE A AUSÊNCIA DE MIOSE E DIMINUIÇÃO DO EDEMA CORNEANO. A SINÉQUIA ANTERIOR PERSISTE E FICA MAIS VISÍVEL.....23

FIGURA 1 (CAPÍTULO 2) - EXEMPLO DE TERMOGRAMA DA SUPERFÍCIE OCULAR DE UM CÃO COM VALORES NORMAIS DE TLS (A) E UM CÃO COM BAIXOS VALORES DE TLS (B), MOSTRANDO AS TRÊS ÁREAS DE MENSURAÇÃO NA CÓRNEA (Ar1 = LIMBO TEMPORAL Ar2 = CENTRO DA CÓRNEA Ar3 = LIMBO NASAL). A) TERMOGRAMA DO OLHO DIREITO DE UMA CADELA, LHASA APSO, 9 ANOS, APRESENTANDO UM VALOR NORMAL DE TLS (20 mm/min), CLASSIFICADA COMO CONTROLE; B) TERMOGRAMA DO OLHO ESQUERDO DE UMA CADELA, SRD, 19 ANOS, APRESENTANDO MEDIDA DE TLS ABAIXO DO NORMAL (6 mm/min).32

FIGURA 2 (CAPÍTULO 2) – MÉDIA DA TEMPERATURA CORNEANA (Ar1, Ar2 e Ar3) EM OLHOS COM VALORES NORMAIS DE TLS E EM OLHOS COM BAIXOS VALORES DE TLS. OLHOS COM BAIXOS VALORES DE TLS POSSUEM TEMPERATURA SIGNIFICATIVAMENTE MENOR QUE OLHOS NORMAIS. MÉDIAS DE BARRAS SEGUIDAS POR LETRAS DIFERENTES SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES ($P < 0,05$).34

FIGURA 3 (CAPÍTULO 2) – DIFERENÇAS DE TEMPERATURA ENTRE OS TRÊS PONTOS MENSURADOS EM OLHOS COM VALORES NORMAIS DE TLS (OLHOS CONTROLE). A REGIÃO DA CÓRNEA CENTRAL POSSUI TEMPERATURA SIGNIFICATIVAMENTE MENOR QUE A REGIÃO DO LIMBO NASAL. O LIMBO NASAL, POR SUA VEZ, POSSUI TEMPERATURA SIGNIFICATIVAMENTE MAIOR QUE A REGIÃO DO LIMBO TEMPORAL. A MÉDIA DE BARRAS SEGUIDAS POR LETRAS DIFERENTES SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES ($P < 0,05$).34

FIGURA 4 (CAPÍTULO 2) – DIFERENÇAS DE TEMPERATURA ENTRE OS TRÊS PONTOS MENSURADOS EM OLHOS COM BAIXOS VALORES DE TLS. A REGIÃO DA CÓRNEA CENTRAL POSSUI TEMPERATURA SIGNIFICATIVAMENTE MENOR QUE AS REGIÕES DE LIMBO NASAL E LIMBO TEMPORAL. A MÉDIA DE BARRAS SEGUIDAS POR LETRAS DIFERENTES SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES ($P < 0,05$).35

FIGURA 5 (CAPÍTULO 2) – REGRESSÃO LINEAR SIMPLES QUE DEMONSTRA UMA CORRELAÇÃO POSITIVA ENTRE A TEMPERATURA DA SUPERFÍCIE OCULAR E O VALOR DO TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER ($P < 0,05$). APROXIMADAMENTE 70% DA VARIAÇÃO DA TEMPERATURA CORNEANA PODE SER EXPLICADA PELA VARIÁVEL TLS ($R^2 = 0.69$). FÓRMULA DA REGRESSÃO: $Y = 34.341 x^2 + 0.33$, ONDE Y: TEMPERATURA GLOBAL DA SUPERFÍCIE OCULAR; x: VALOR TLS; $R^2 = 0.69$35

FIGURA 1 (CAPÍTULO 3) - COLETA DE LÁGRIMA UTILIZANDO UM TUBO DE VIDRO CAPILAR POSICIONADO NO CANTO TEMPORAL DO OLHO DIREITO DE UM CÃO.	46
FIGURA 2 (CAPÍTULO 3) - REFRAÔMETRO MANUAL (MARCA RTP-20 ATC) UTILIZADO PARA DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE DA LÁGRIMA	46
FIGURA 3 (CAPÍTULO 3) - VISUALIZAÇÃO DA TELA DO REFRAÔMETRO QUANDO UTILIZADO ÁGUA DESTILADA PARA SUA CALIBRAÇÃO. OS VALORES DE DENSIDADE ERAM ANOTADOS VISUALIZANDO A COLUNA DIREITA DA TELA (1.000 – 1.040 SG)..	47
FIGURA 4 (CAPÍTULO 3) - CORRELAÇÃO NEGATIVA ENTRE A DENSIDADE ESPECÍFICA (SG) DA LÁGRIMA E O VALOR DO TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER (P < 0,05).	48

LISTA DE ABREVIATURAS

µg - microgramas

mg – miligramas

mm – milímetros

mmHg – milímetros de mercúrio

°C – graus Celsius

et al. – *et alli* (e outros)

p. – página

v. – volume

LISTA DE SIGLAS

PLA – poli (ácido láctico)

PLGA – poli (D,L, láctico-co-glicólico)

EUA – Estados Unidos da América

FDA – Food and Drug Administration

PVR – Vitreoretinopatia Proliferativa

CsA – Ciclosporina

URE – Uveíte Recorrente Equina

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

HV – Hospital Veterinário

UFPR – Universidade Federal do Paraná

PIO – Pressão Intra Ocular

CCS – Ceratoconjuntivite Seca

TLS – Teste Lacrimal de Schirmer

TI – Termografia Infravermelha

Lepnan – Laboratório de estudos e pesquisa em produção e nutrição de não-ruminantes

UFL – Unidade Funcional da Lágrima

GE – Gravidade Específica

IR – Índice Refrativo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 IMPLANTES POLIMÉRICOS INTRAOCULARES DE FÁRMACOS NA MEDICINA VETERINÁRIA – REVISÃO DE LITERATURA E RELATO DE UM CASO	14
2.1 RESUMO	14
2.2 ABSTRACT	14
2.3 INTRODUÇÃO	15
2.4 DESENVOLVIMENTO	17
2.5 CONCLUSÃO	24
2.6 REFERÊNCIAS.....	25
3 TERMOGRAFIA OCULAR EM CÃES COM E SEM CERATOCONJUNTIVITE SECA	28
3.1 RESUMO	28
3.2 ABSTRACT	28
3.3 INTRODUÇÃO	29
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.5 RESULTADOS	33
3.6 DISCUSSÃO	36
3.7 REFERÊNCIAS.....	40
4 CORRELAÇÃO ENTRE A DENSIDADE ESPECÍFICA DA LÁGRIMA E O TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER EM CÃES	42
4.1 RESUMO	42
4.2 ABSTRACT	42
4.3 INTRODUÇÃO	43
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	45
4.5 RESULTADOS	47
4.6 DISCUSSÃO	48
4.7 REFERENCIAS.....	50
ANEXO I.....	52

ANEXO II.....	53
ANEXO III.....	54
ANEXO IV	55
VITA	56

1 INTRODUÇÃO

Essa dissertação é formada por três capítulos, cada um formatado de acordo com a revista a qual foi ou será submetido para publicação.

O Capítulo 1 é um artigo completo publicado na revista PUBVET - Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia, no ano de 2012, v.6, n.23, ed. 210, Art 1399, intitulado “Implantes poliméricos intraoculares de fármacos na medicina veterinária – revisão de literatura e relato de um caso”. O artigo inserido nessa dissertação é resultado da primeira fase da pesquisa, quando tínhamos a intenção de avaliar uma alternativa de tratamento para a doença responsável pela maioria dos casos de cegueira em equinos, a Uveíte Recorrente Equina (URE). No tratamento dessa doença, as medicações de uso padrão demonstram ter baixos índices de penetração, quando utilizadas pela via tópicas, ou provocarem efeitos colaterais indesejados, quando por via sistêmica. Sendo assim, formamos uma parceria com o Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal de Minas Gerais, e investigamos a viabilidade de um novo tratamento, no qual a implantação de sistemas de liberação poliméricos no vítreo visaria uma obtenção de níveis terapêuticos adequados de fármacos no segmento posterior do olho. Porém, a obtenção de uma casuística baixa, entre outros problemas com relação aos implantes, impediu a continuidade do projeto.

Nossos esforços após o experimento inicial se voltaram para idealizar outras investigações buscando novos meios de avaliação do filme lacrimal. A instabilidade do filme lacrimal está associada a inúmeras doenças oculares e decorre de alterações de volume, da composição e da hidrodinâmica da lágrima. O olho seco, designação frequente dessa instabilidade, é uma das entidades nosológicas mais frequentes na prática oftalmológica em todo mundo, tanto na medicina como na medicina veterinária. Existe, na literatura, escassez de técnicas padrão para o estudo do filme lacrimal e da superfície ocular. De fato, muitos testes diagnósticos utilizados em humanos não podem ser reproduzidos em animais, quer seja pela necessidade de equipamentos e mão-de-obra especializada, quer seja pelo alto custo e inviabilidade referente à espécie. Em resposta à esse problema, e visando entender melhor a fisiologia do filme lacrimal e os mecanismos envolvidos na

doença, cresce a busca por testes diagnósticos objetivos, não invasivos e rápidos, como os testes apresentados nos dois capítulos seguintes.

O Capítulo 2 é um artigo completo submetido à revista *Veterinary Ophthalmology* e foi intitulado “Termografia ocular em cães com e sem ceratoconjuntivite seca”. O artigo inserido nessa dissertação utiliza a termografia infravermelha para estabelecer valores de temperatura em olhos normais e olhos doentes.

O Capítulo 3, intitulado “Correlação entre a densidade específica da lágrima e o teste lacrimal de Schirmer em cães” será submetido para publicação no periódico *Veterinary Ophthalmology*, e correlaciona medidas de gravidade específica da lágrima, mensuradas com um refratômetro portátil, com o valor de teste lacrimal de Schirmer, procurando estabelecer paralelos com o teste de osmolaridade lacrimal, que hoje, apesar de se apresentar como o teste padrão-ouro para o diagnóstico da síndrome do olho seco, possui pouca viabilidade na medicina veterinária por conta do seu alto custo e complexidade.

Os leitores irão perceber que, no decorrer da dissertação, tanto “olho seco” quanto “ceratoconjuntivite seca” foram termos utilizados com a mesma finalidade; ambos são termos de certa forma intercambiáveis utilizados para se referir à doença multifatorial das lágrimas e da superfície ocular que resulta em desconforto, distúrbios visuais e instabilidade do filme lacrimal, com dano potencial à superfície ocular. Olho seco, todavia, é a manifestação ocular da diminuição progressiva do componente aquoso do filme lacrimal, e vem acompanhado de inflamação das estruturas da superfície ocular, daí o termo ceratoconjuntivite seca. Dessa forma, os dois termos são aceitos como equivalentes, e são considerados como corretos e aceitos pela maioria dos autores.

2 IMPLANTES POLIMÉRICOS INTRAOCULARES DE FÁRMACOS NA MEDICINA VETERINÁRIA – REVISÃO DE LITERATURA E RELATO DE UM CASO

Polymeric implants for intraocular administration of drugs in veterinary medicine – review of the literature and report of a case

2.1 RESUMO

Doenças do segmento posterior do bulbo do olho são responsáveis pela maioria dos casos de cegueira irreversível no mundo inteiro e, até o momento, apresentam sucesso terapêutico limitado devido à dificuldade de penetração dos fármacos neste local. Na medicina veterinária, as doenças oculares crônicas apresentam frequente insucesso terapêutico por conta da frequência e via de administração, além do alto custo das medicações. Visando a obtenção de níveis terapêuticos adequados de fármacos por períodos prolongados e a diminuição de efeitos colaterais indesejados, alguns sistemas de liberação poliméricos de implantação intraocular estão sendo investigados. Eles são preparados na forma de implantes a partir de polímeros que podem ser biodegradáveis ou não biodegradáveis, e pretendem revolucionar a oftalmologia humana e veterinária, aumentando o conforto do paciente e a eficácia medicamentosa no tratamento de doenças até o momento tidas como irreversíveis por conta das dificuldades terapêuticas á elas relacionadas.

Palavras-chave: Doenças oculares. Medicação intraocular. Sistemas de liberação.

2.2 ABSTRACT

Diseases of the posterior segment of the eye are responsible for most cases of irreversible blindness, and until at the present moment, have limited therapeutic success due to the difficulty of penetration of drugs in this site. In veterinary medicine, chronic eye diseases are often frustrating to treat due to the frequency and route of administration, besides the high cost of the drugs involved. In order to obtain therapeutic levels of these drugs for prolonged periods and to promote reduction of unwanted side effects, some polymeric delivery systems designed for intraocular implantation are currently being investigated. They are prepared in the form of implants from polymers that can be classified in biodegradable or nonbiodegradable, and are aimed to revolutionize medical and veterinary ophthalmology, increasing patient comfort and effectiveness of drugs in the treatment of diseases, which are so far regarded as irreversible because of the difficulties therapies related to them.

Key words: Eye disease. Intraocular medication. System release.

2.3 INTRODUÇÃO

As doenças oculares acometem as mais diversas espécies, incluindo a espécie humana, podendo causar intenso desconforto, comprometimento da acuidade visual e, por fim, cegueira. Sabe-se que as doenças do segmento posterior do olho são responsáveis pela maioria dos casos de cegueira irreversível no mundo (FIALHO e CUNHA JÚNIOR, 2007). Em seres humanos, crescem os casos de catarata, retinopatia diabética, glaucoma, degeneração macular, uveíte crônica, entre outros exemplos. Para todos esses casos, o emprego de medicações de uso contínuo geralmente é necessário, e o sucesso no tratamento destas doenças visa, essencialmente, o transporte de doses efetivas de fármacos para os tecidos mais internos do olho.

A estrutura anatômica e fisiológica do olho faz com que o alcance de fármacos no seu segmento posterior seja imprevisível. As soluções oftálmicas para administração tópica possuem pouco ou nenhum efeito terapêutico nessas estruturas e ainda podem sofrer alterações dependentes da produção lacrimal, impermeabilidade do epitélio corneano e tempo de permanência transitório no local de aplicação. As injeções intraoculares de fármacos são utilizadas por alcançarem altos níveis de eficácia, no entanto, múltiplas injeções estão associadas a um maior risco de catarata, hemorragias vítreas, descolamento de retina e endoftalmite, sem contar ainda o desconforto causado para o paciente (CHOONARA *et al.*, 2011). Os fármacos administrados pela via sistêmica atingem o segmento posterior do olho através da circulação sanguínea, e devido à complexa estrutura de defesa compreendida pelas barreiras intraoculares, a utilização desta via na terapêutica ocular requer, geralmente, a administração de doses elevadas visando a manutenção de níveis terapêuticos adequados por períodos prolongados, o que pode acarretar em severos efeitos adversos (FIALHO e CUNHA JÚNIOR, 2007).

Conclui-se, dessa forma, que a baixa penetração de fármacos no interior do olho limita o número de medicações indicadas para o uso em oftalmologia, e exige cuidados com aquelas disponíveis devido a possíveis ocorrências de efeitos adversos. A administração de fármacos para o tratamento de doenças oculares deve ser feita, de preferência, por meio de vias que atinjam o tecido local, visando minimizar a ocorrência de efeitos adversos e a absorção sistêmica.

Na medicina veterinária, há maiores dificuldades no que corresponde ao tratamento de animais com doenças oculares crônicas. A aplicação constante de medicações é dificultada pelo temperamento de alguns animais domésticos e a natureza dos animais selvagens, tornando-se praticamente impossível neste caso. Ainda, o alto custo das medicações, e a frequência das administrações acaba por inibir a maioria dos proprietários, que não conseguem arcar com o tratamento durante toda a vida do seu animal.

Devido a todas as dificuldades encontradas, algumas pesquisas têm sido realizadas no sentido de desenvolver sistemas de administração intraoculares que permitam liberar concentrações terapêuticas dos fármacos por um período prolongado e adequado (RUBSAMEN *et al.*, 1994; HASHIZOE *et al.*, 1994; CHANG e WONG, 1999; GILGER *et al.*, 2000; AVITABILE *et al.*, 2001; OKABE *et al.*, 2003; SAKURAI *et al.*, 2003; SALIBA *et al.*, 2008; CHOONARA *et al.*, 2011; HAGHJOU *et al.*, 2011). Tais sistemas podem proporcionar inúmeras vantagens, como aumentar a biodisponibilidade do fármaco, no sentido de obter uma liberação constante e prolongada; aumentar as concentrações locais, sem a ocorrência de efeitos adversos sistêmicos; atingir mais especificamente um tipo de tecido ou célula; e reduzir a frequência de injeções intraoculares. Tais vantagens podem aumentar o conforto do paciente e reduzir as complicações observadas nas injeções intraoculares (BEHAR-COHEN, 2002).

Este trabalho tem como objetivo revisar a necessidade e propriedades de materiais sintéticos ou biodegradáveis para a aplicação em oftalmologia veterinária, bem como relatar um caso de aplicação intravítrea de um polímero biodegradável em um animal da espécie equina.

2.4 DESENVOLVIMENTO

O desenvolvimento de novos sistemas de distribuição de drogas direcionadas ao segmento posterior do olho se torna necessário, e pode oferecer inúmeras vantagens, tais como o aumento de biodisponibilidade do fármaco e a liberação do mesmo de forma local e constante sem efeitos colaterais sistêmicos, aumentando o conforto do paciente (FIALHO *et al.*, 2006).

Os implantes são preparados a partir de diferentes polímeros, sendo eles biodegradáveis ou não-biodegradáveis. Os polímeros biodegradáveis são aqueles que apresentam uma redução da massa molar quando em contato com o ambiente corpóreo. A degradação pode ser vista como um conjunto de processos, estimulados por agentes externos, que levam a modificações da estrutura dos polímeros, as quais trarão alterações também nas propriedades do material. As degradações podem ser originadas tanto da atuação de entidades biológicas como de células, microorganismos, enzimas, como do ataque de espécies iônicas, radicais livres ou água. Em meio biológico, as formas mais comuns de degradação são a hidrólise e a degradação por enzimas. A degradação por enzimas pode ser altamente variável de pessoa para pessoa, pois os níveis enzimáticos podem diferir bastante. Os polímeros biodegradáveis têm sido extensamente pesquisados e utilizados em materiais, visto que não precisam ser removidos e não causam efeitos indesejáveis em longo prazo. Existem várias aplicações para estes tipos de biopolímeros: suturas, dispositivos para liberação de fármacos, fixação de dispositivos ortopédicos, vasos sanguíneos temporários, e matriz para engenharia de tecidos. Eles devem ser um meio adequado para o crescimento dos tecidos, guiando a resposta tissular, favorecendo a fixação e proliferação celular e controlando a resposta inflamatória e imunológica (BISPO, 2009). Sistemas não biodegradáveis necessitam de remoção após completa liberação do fármaco (FIALHO e CUNHA JÚNIOR, 2007; CHOONARA *et al.*, 2011).

Estes sistemas podem, ainda, ser de dois tipos: matriciais (ou monolíticos) e reservatórios (DASH e CUDWORTH II, 1998; KIMURA e OGURA, 2001). No sistema matricial, a substância se encontra dispersa na matriz polimérica. No sistema do tipo reservatório, preparados com polímeros biodegradáveis ou não biodegradáveis, a substância se encontra em uma cavidade central envolta por uma membrana

polimérica, a qual controla sua taxa de liberação. Quando se utilizam polímeros não biodegradáveis, a liberação ocorre apenas por um processo de difusão lenta pela matriz. (DASH e CUDWORTH II, 1998; KIMURA e OGURA, 2001).

A liberação do fármaco, caso se trate de um sistema biodegradável, ocorre por difusão pelos poros da matriz, por degradação do polímero ou por uma combinação dos dois mecanismos. Dessa forma, os implantes intraoculares preparados com polímeros biodegradáveis não precisam ser posteriormente removidos, pois são completamente metabolizados e eliminados pelo organismo. Polímeros biodegradáveis naturais e sintéticos estão sendo estudados como componentes em sistemas de liberação de fármacos, mas nem todos têm demonstrado verdadeira biocompatibilidade. Mesmo assim polímeros naturais têm tido grande destaque em pesquisas recentes. O colágeno, por exemplo, depois de purificado é usado em implantes cardiovasculares e como matriz para crescimento de tecidos. A celulose modificada é utilizada na imobilização e desenvolvimento de células e a quitosana também vem sendo utilizada para matrizes de engenharia de tecido. Isto se dá porque muitos destes polímeros naturais têm conseguido aprovação do FDA (BISPO, 2009). Já os sintéticos, representados por poliamidas, poliaminoácidos, polialquilcianacrilatos, poliésteres, poliortoésteres, poliuretanos e poliacrilamidas, têm apresentado crescente interesse na aplicação como sistemas de liberação de fármacos. Os polímeros biodegradáveis mais utilizados atualmente são os poliésteres, tais como a poli (ε-caprolactona), o PLA (poli (ácido láctico)) e os diferentes tipos de PLGA (poli (D, L láctico-co-glicólico)), sendo que os dois últimos tipos têm sido amplamente empregados (JAIN *et al.*, 1998).

Alguns implantes não biodegradáveis de liberação lenta foram aprovados para uso clínico nos Estados Unidos da América (EUA): o Ocusert® (Alza, Mountain View, California, EUA), um dispositivo conjuntival que libera pilocarpina, o Vitrasert® (Bausch&Lomb, Rochester, NY, EUA), um implante intravítreo contendo ganciclovir, e o Retisert® (Bausch&Lomb, Rochester, NY, EUA), um implante intravítreo contendo fluocinolona indicado para o tratamento de uveíte não infecciosa crônica. Outros sistemas compostos por polímeros não biodegradáveis incluem os derivados de celulose, silicões, polímeros acrílicos, polivinilpirrolidona e copolímeros dos óxidos de etileno e propileno, que apresentam uma taxa de liberação relativamente constante.

Os implantes preparados a partir de sistemas poliméricos podem ser aplicados em diferentes regiões do olho. Ordenando-se as regiões da mais superficial a mais profunda, temos: região subconjuntival, região subtenoniana, esclera e o interior do bulbo do olho (câmara anterior e corpo vítreo). Em geral quanto mais profunda a região, mais delicado o procedimento e mais eficaz a concentração do fármaco no vítreo e na retina (KIMURA e OGURA, 2001; FIALHO *et al.*, 2003).

Os polímeros biodegradáveis têm sido largamente utilizados no campo médico e farmacológico como sistemas de distribuição de fármacos (SALIBA *et al.*, 2008), e vários trabalhos têm sido realizados para avaliar a eficácia destes como implantes intraoculares. Hashizoe e colaboradores desenvolveram um implante biodegradável contendo doxorrubicina para o tratamento de vitreoretinopatia proliferativa experimental em coelhos, e a taxa de liberação do fármaco no corpo vítreo foi avaliada (HASHIZOE *et al.*, 1994). Esse sistema, composto pelo polímero poli (D,L láctico-co-glicólico) (PLGA) e contendo 1% de doxorrubicina, foi implantado na *pars plana*, dessa forma não alterando a transparência do meio ocular, pois foi capaz de promover a liberação diretamente no corpo vítreo. Os estudos *in vitro* realizados mostraram que 26% do fármaco foram liberados durante quatro semanas, e os *in vivo* mostraram uma manutenção da concentração da doxorrubicina no corpo vítreo dentro da faixa terapêutica por um período superior a quatro semanas. Não foi observada nenhuma reação tóxica significativa. As avaliações foram feitas por eletrorretinografia e análise histopatológica do local.

Foi estudada igualmente, a eficácia de um implante à base de PLGA, contendo 5-fluoruracila (5-FU), para o tratamento de vitreoretinopatia proliferativa (PVR) (RUBSAMEN *et al.*, 1994). As concentrações intravítreas do fármaco foram mantidas entre 1,0 e 13,0 µg/mL por 14 dias, e permaneceram acima de 0,3 µg/mL por aproximadamente 21 dias. A implantação do sistema se mostrou eficaz na inibição de PVR, e não demonstrou sinais de efeitos tóxicos na retina.

A biocompatibilidade e a biodegradação *in vivo* de implantes intravítreos preparados com diferentes ésteres de ácido hialurônico foi avaliada em olhos de coelhos (AVITABILE *et al.*, 2001). Os sistemas preparados com os derivados etil éster e benzil éster do ácido hialurônico na concentração de 100% foram degradados em 60 e 150 dias, respectivamente. O implante à base de benzil éster a 75% foi completamente reabsorvido após 15 dias. Estudos de microscopia,

oftalmoscopia e eletrorretinografia realizados mostraram que os implantes preparados com ácido hialurônico são biocompatíveis e não foram observados sinais de inflamação ocular.

A segurança e a eficácia de um sistema biodegradável composto de PLGA e contendo 0,5 mg de ciclosporina (CsA) foram avaliadas após sua implantação na câmara anterior de olhos de coelhos (THENG *et al.*, 2003). Foram encontradas concentrações elevadas do fármaco nas camadas da córnea (epitélio anterior, substância própria e epitélio posterior) durante os três meses do estudo. Baixas concentrações de CsA foram detectadas no humor aquoso e não foi detectado o fármaco no sangue. Reações adversas não foram observadas durante o estudo.

Um sistema biodegradável à base de PLA e contendo fosfato de betametasona foi implantado na esclera de olhos de coelhos (OKABE *et al.*, 2003). Foram realizados exames de oftalmoscopia, eletrorretinografia e microscopia óptica para avaliar a toxicidade e a biocompatibilidade dos implantes. Os resultados *in vitro* mostraram que o fármaco foi liberado por oito semanas. A concentração de betametasona foi mantida dentro da faixa terapêutica no vítreo e na retina-coróide por mais de oito semanas. Não foi observada reação tóxica na retina durante o estudo e o implante apresentou-se biocompatível com o tecido ocular.

A eficácia de um implante polimérico biodegradável contendo tacrolimus foi avaliada em um modelo animal de uveíte experimental (SAKURAI *et al.*, 2003). Os sistemas desenvolvidos foram implantados no corpo vítreo dos olhos de coelhos e o grau de inflamação na câmara anterior e no corpo vítreo foi avaliado através de análises histológicas. A função retiniana também foi avaliada. As análises histopatológicas mostraram que os olhos tratados apresentaram menores sinais de inflamação, enquanto os olhos não tratados apresentaram marcante inflamação e grande desorganização tecidual. A liberação controlada de tacrolimus a partir destes implantes foi efetiva na supressão da inflamação de uveíte experimental por seis semanas.

A uveíte recorrente equina (URE), também conhecida como cegueira da lua, iridociclite e oftalmia periódica, é a causa mais comum de cegueira em equinos, e representa a doença mais devastadora para a indústria equina em todo o mundo (KELLER e HENDRIX, 2005). A natureza progressiva da URE é responsável pelo subsequente desenvolvimento de catarata, adesões intraoculares, *phthisis bulbi* e cegueira, e em associação com as dificuldades encontradas no tratamento, são as

maiores causas de eutanásia em cavalos, realizadas por segurança ou razões éticas e humanitárias (GILGER *et al.*, 1999; DEEG *et al.*, 2001). Acredita-se que a URE tenha uma importante parcela imunomediada na sua patogênese (DEEG *et al.*, 2001), e tem sido estudada com intensidade pela semelhança com as uveítes recorrentes em seres humanos, como por exemplo, a uveíte intermediária ou a doença de Behçet (GILGER *et al.*, 2000). O tratamento da uveíte é realizado de forma tópica, periocular, intraocular e sistêmica. Todavia, problemas são comumente relacionados à utilização de todas essas vias. Para superar esses efeitos colaterais, um número crescente de dispositivos de liberação lenta tem sido desenvolvido, utilizando diferentes mecanismos de entrega e variedade de agentes farmacológicos.

Gilger e colaboradores (1999) desenvolveram um dispositivo intravítreo discoide para a liberação constante de CsA em casos de URE. Os níveis de proteína no humor vítreo e humor aquoso, infiltrado celular, o número total de linfócitos T e demais parâmetros inflamatórios foram significativamente menores nos olhos que continham os implantes de CsA, em comparação com os olhos que continham placebo. Os implantes de CsA não foram capazes de eliminar completamente a doença, no entanto, a duração e gravidade da inflamação, o infiltrado celular, e a destruição tecidual foram menores nos olhos implantados com os dispositivos de CsA. Esse estudo se focou em demonstrar a eficácia da entrega da molécula de CsA através de um dispositivo intraocular para o tratamento da inflamação imunomediada em um olho equino. Porém, a flexibilidade do dispositivo para a entrega de moléculas de fármacos e sua eficácia em outros modelos animais e em um modelo humano pode ser estudada e parece ser promissora (GILGER *et al.*, 1999).

Implantes de PLGA contendo dexametasona e ciclosporina nas concentrações de 25% foram utilizados para o tratamento de URE no olho esquerdo de um animal da espécie eqüina com 20 anos de idade. Os implantes foram confeccionados pela equipe de farmacologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) (FIALHO e SILVA CUNHA, 2005; FIALHO *et al.*, 2006). Brevemente, os implantes foram preparados pelo método de moldagem a quente, utilizando o polímero PLGA 50:50 da seguinte forma: primeiramente, o polímero e o fármaco foram dissolvidos em uma mistura de acetonitrila e água destilada. A solução resultante foi liofilizada (Liofilizador E-C MODULYO, E-C Apparatus Inc., EUA) para

a obtenção de uma mistura homogênea. Esta mistura foi então utilizada para o preparo dos implantes. Na técnica de moldagem a quente, a mistura de pós previamente obtida foi moldada em bastões utilizando uma placa de teflon aquecida na temperatura de 100 a 120°C. O peso médio do implante moldado foi de $4,7 \pm 0,3$ mg, o diâmetro médio foi de $1,0 \pm 0,1$ mm e o comprimento médio de $4,0 \pm 0,1$ mm. Os sistemas preparados por moldagem a quente apresentam uma superfície mais lisa, com pouca evidência de poros e com aparência mais homogênea.

O animal foi avaliado pela equipe de oftalmologia veterinária da Universidade Federal do Paraná (UFPR). O olho esquerdo apresentava intenso edema corneano, neovascularização corneana, e eritema conjuntival (FIGURA 1). A miose era de difícil visualização, devido ao edema. Em adição, blefaroespasmos e fotofobia eram perceptíveis.



FIGURA 1 – CAVALO COM UVEÍTE RECORRENTE EQUINA (URE) ANTES DA COLOCAÇÃO DE IMPLANTES INTRAVÍTREOS. OBSERVE A INTENSA MIOSE, SINÉQUIA ANTERIOR E EDEMA CORNEANO, SINAIS CLÁSSICOS DE URE.

A pressão intraocular (PIO) era de 5 mmHg. O olho direito apresentava-se em *phthisis bulbi*, portanto não foi utilizado nesse estudo. Os implantes foram inseridos no vítreo do animal, sob anestesia geral, na quantidade de dois implantes de cada fármaco. O animal foi reavaliado diariamente, sendo que no sexto dia pós-operatório

verificou-se melhora visual significativa, com redução do edema e neovascularização corneana (FIGURA 2). A PIO nesse momento estava em 8 mmHg.



FIGURA 2 – MESMO OLHO DA FIGURA 1, SEIS DIAS APÓS A COLOCAÇÃO DOS IMPLANTES, DEMONSTRANDO MELHORA SIGNIFICATIVA. NOTE A AUSÊNCIA DE MIOSE E DIMINUIÇÃO DO EDEMA CORNEANO. A SINÉQUIA ANTERIOR PERSISTE E FICA MAIS VISÍVEL.

No décimo quarto dia pós-operatório o animal voltou a apresentar sinais de URE, com piora do quadro. O proprietário optou pela eutanásia, não sendo possível uma tentativa de reajuste e nova colocação dos implantes. Todavia, tratou-se de caso interessante para avaliar a eficácia desta forma de tratamento oftálmico. Obviamente alguns ajustes e mais pesquisas deverão ser realizados principalmente com relação à concentração, tempo de liberação do fármaco, confecção dos implantes e meios de implantação no olho do animal.

Como exemplo de implantes sólidos citados anteriormente, existe o Retisert® (Bausch&Lomb, Rochester, NY, EUA), um implante contendo um orifício de álcool polivinil e uma cápsula de silicone que libera o corticosteróide fluocinolona em uma taxa de 0,4 a 0,6 µg por dia até aproximadamente 30 meses. Durante o estudo clínico aprovado pelo FDA, a recorrência de uveíte diminuiu de 54% para 7% após a implantação do Retisert®, aumentando ou estabilizando a acuidade visual em 80% dos pacientes. Efeitos oculares adversos incluem aumento da pressão intraocular (PIO) e formação de catarata (HAGHJOU *et al.*, 2011).

Tendo como objetivo diminuir a quantidade variável de iridociclite pós-operatória e o desconforto dos pacientes que passam por cirurgias intraoculares, a Oculex Pharmaceuticals Incorporated (Sunnyvale, California, EUA) desenvolveu e avaliou a eficácia de um implante intraocular de dexametasona (Surodex®) para o tratamento de inflamações após cirurgias de catarata (CHANG e WONG, 1999). Os pacientes que receberam o implante Surodex® tiveram menos eritema conjuntival, edema corneano, desconforto, dor ou fotofobia, comparado com os pacientes do grupo controle. Ainda, os pacientes do grupo controle necessitaram medicação anti-inflamatória adicional mais frequentemente e com maior frequência de aplicação do que os pacientes do grupo Surodex®.

Como o sistema de liberação de fármacos na forma de implante deve ser biocompatível com o organismo, os componentes nele presentes devem ser não carcinogênicos, hipoalergênicos, mecanicamente estáveis e não causadores de resposta inflamatória no local de aplicação. Acrescenta-se, ainda, que as características químicas e físicas do material não devem ser modificadas pelo tecido local (FIALHO *et al.*, 2003). Sendo assim, pesquisas relacionadas à utilização dos polímeros biodegradáveis mostraram que eles proporcionaram boas propriedades mecânicas, baixa capacidade alergênica, baixa toxicidade, excelente biocompatibilidade e uma cinética previsível de biodegradação, despertando a atenção de vários pesquisadores quanto a suas possíveis aplicações em tecnologia farmacêutica.

2.5 CONCLUSÃO

Levando-se em consideração a realidade da medicina veterinária, onde várias espécies de animais são acometidas diariamente por doenças oculares crônicas e necessitamos muitas vezes da adesão do proprietário ao tratamento, é possível afirmar que, reduzindo ou eliminando a responsabilidade e os encargos da administração múltipla de medicações muitas vezes de alto custo, obteremos maiores sucessos no tratamento destas doenças. Estes novos sistemas de liberação tem como objetivo melhorar o tratamento por meio da manutenção da concentração e do aumento da liberação do fármaco no local de aplicação e da redução da

toxicidade intraocular. Dessa forma, a utilização de implantes intraoculares deve ser vista como uma forma inovadora de liberação de fármacos, que pretende revolucionar a terapêutica ocular nos âmbitos da medicina humana e animal, e devem ser considerados nos casos em que os efeitos secundários da terapia sistêmica ou tópica recorrente são mais frequentes ou graves do que os efeitos relacionados à colocação dos implantes.

2.6 REFERÊNCIAS

AVITABILE, T.; MARANO, F.; CASTIGLIONE, F. *et al.* Biocompatibility and biodegradation of intravitrealhyaluronan implants in rabbits. **Biomaterials**, Guilford, v. 22, n. 3, p. 195-200, 2001.

BEHAR-COHEN, F. Systèmes de délivrance des médicaments pour le segment antérieur: bases fondamentales et applications cliniques. **Journal français d'ophtalmologie**, v. 25, n. 5, p. 537-544, 2002.

BISPO, V.M. **Estudo do efeito da reticulação por genipin em suportes biocompatíveis de quitosana-PVA**. Belo Horizonte, 2006f. Dissertação (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) – Curso de Pós Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

CHANG, D.F.; WONG, W. Two clinical trials of an intraocular steroid delivery system for cataract surgery. **Transactions of the American Ophthalmological Society**, v. 97, p. 261–279, 1999.

CHOONARA, Y.E.; PILLAY, V.; CARMICHAEL, T.R. *et al.* *In Vivo* evaluation of a biodegradable donut-shaped minitablet for prolonged posterior segment drug delivery in the rabbit eye model. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.100, n. 5, p. 1819-1832, 2011.

DASH, A. K.; CUDWORTH II, G. C. Therapeutic applications of implantable drug delivery systems. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 40, n. 1, p. 1-12, 1998.

DEEG, C.A.; KASPERS, B.; GERHARDS, H. *et al.* Immune responses to retinal auto antigens and peptides in equine recurrent uveitis. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.42, n. 2, p. 393-398, 2001.

FIALHO, S.L.; CUNHA JÚNIOR A.S. Sistemas de transporte de drogas para o segmento posterior do olho: bases fundamentais e aplicações. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.70, n.1, p. 173-179, 2007.

FIALHO, S. L.; REGO, M. G. B.; CARDILLO, J. A. *et al.* Implantes biodegradáveis destinados à administração intraocular. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 66, n.6, p.891-896, 2003.

FIALHO, S.L.; REGO, M.B.; SIQUEIRA, S.C. *et al.* Safety and pharmacokinetics of an intravitreal biodegradable implant of dexamethasone acetate in rabbit eyes. **Current Eye Research**, v. 31, p. 1-10, 2006.

FIALHO, S. L.; SILVA-CUNHA, A. Manufacturing techniques of biodegradable implants intended for intraocular application. **Drug delivery**, v. 12, n. 2, p. 109-116, 2005.

GILGER, B.C.; MALOK, E.; CUTTER, K.V. *et al.* Characterization of T-lymphocytes in the anterior uvea of eyes with chronic equine recurrent uveitis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 71, p. 17-28, 1999.

GILGER, B.C.; MALOK, E.; STEWART, T. *et al.* Effect of an intravitreal cyclosporine implant on experimental uveitis in horses. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.76, p. 239-255, 2000.

HAGHJOU, N.; SOHEILIAN M.; ABDEKHODAIE M.J. Sustained release intraocular drug delivery devices for treatment of uveitis. **Journal Ophthalmic Visual Research**, v.6, n.4, p. 317-329, 2011.

HASHIZOE, M.; OGURA, Y.; KIMURA, H. *et al.* Scleral plug of biodegradable polymers for controlled drug release in the vitreous. **Archives of Ophthalmology**, v. 112, n. 10, p. 1380-1384, 1994.

JAIN, R.; SHAH, N. H.; MALICK, A. W.; RHODES, C. T. Controlled drug delivery by biodegradable poly (ester) devices: different preparative approaches. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 24, n. 8, p. 703-727, 1998.

KELLER, R.L.; HENDRIX, D.V.H. New surgical therapies for the treatment of equine recurrent uveitis. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 4 n. 1, p. 81-86, 2005.

KIMURA, H.; OGURA, Y. Biodegradable polymers for ocular drug delivery. **Ophthalmologica**, v. 215, n. 3, p. 143-155, 2001.

OKABE, J.; KIMURA H.; KUNOU N. *et al.* Biodegradable intrascleral implant for sustained intraocular delivery of betamethasone phosphate. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v. 44, n. 2, p. 740-744, 2003.

RUBSAMEN, P. E.; DAVIS, P. A.; HERNANDEZ, E. *et al.* Prevention of experimental proliferative vitreoretinopathy with a biodegradable intravitreal implant for the sustained release of fluorouracil. **Archives of Ophthalmology**, v. 112, n. 3, p. 407-413, 1994.

SAKURAI, E.; NOZAKI, M.; OKABE, K. *et al.* Scleral plug of biodegradable polymers containing tacrolimus (FK506) for experimental uveitis. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 44, n. 11, p. 4845-4852, 2003.

SALIBA, J.B.; FARACO A.G.; YOSHIDA M.I. *et al.* Development and characterization of na intraocular biodegradable polymer system containing cyclosporine-A for the treatment of posterior uveitis. **Materials Research**, v.11, n.2, p. 207-211, 2008.

THENG, J. T.; SENG-EI, T.; ZHOU, L. *et al.* Pharmacokinetic and toxicity study of an intraocular cyclosporine dds in the anterior segment of rabbit eyes. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 44, n. 11, p. 4895–4899, 2003.

3 TERMOGRAFIA OCULAR EM CÃES COM E SEM CERATOCONJUNTIVITE SECA

Infrared ocular thermography in dogs with and without keratoconjunctivitis sicca

3.1 RESUMO

A termografia infravermelha foi utilizada para medir as diferenças de temperatura do limbo nasal, temporal e da região central da córnea de cães normais e cães com ceratoconjuntivite seca (CCS), para estabelecer valores de temperatura em olhos normais e em olhos doentes. Foram utilizados cães provenientes do atendimento clínico e oftalmológico do hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná. O Teste Lacrimal de Schirmer (TLS) foi realizado em todos os olhos. No total, 40 olhos normais ($\text{TLS} \geq 15\text{mm/min}$) e 20 olhos com baixos valores de TLS ($\text{TLS} \leq 14\text{mm/min}$) foram examinados. A média dos valores de TLS para olhos normais foi 22.9 ± 3.9 mm/min (média \pm desvio padrão), e a média dos valores de TLS para olhos com baixos valores de TLS foi de $7,2 \pm 4,8$ mm/min. A média geral da temperatura corneana foi significativamente menor nos olhos com baixos valores de TLS do que nos olhos do grupo controle ($P < 0.0001$). A termografia é um método que pode diferenciar olhos com valores normais de TLS de olhos com baixos valores de TLS. No futuro, a termografia pode ser incorporada como parte do exame oftálmico de rotina e talvez se torne um método auxiliar popular para o diagnóstico de desordens na superfície ocular.

Palavras - chave: Termografia Infravermelha. Teste Lacrimal de Schirmer. Ceratoconjuntivite Seca. Olhos. Cães.

3.2 ABSTRACT

Infrared thermography was used to measure temperature differences of the corneal surface between nasal and temporal limbus regions and central cornea of normal dogs and dogs with keratoconjunctivitis sicca (KCS), in order to establish temperature values in normal canine eyes and in patients with decreased STT values. Dogs investigated were all either patients seen at the Veterinary Teaching Hospital of Federal University of Paraná or normal dogs that belonged to the same institution. Schirmer tear tests (STT) were performed in all eyes. A total of 40 control eyes ($\text{STT} \geq 15\text{mm/min}$) and 20 eyes with low STT results ($\text{STT} \leq 14\text{mm/min}$) were examined. The mean STT values for eyes with normal STT results was 22.9 ± 3.9 mm/min (mean \pm standard deviation), and the mean STT value for eyes with low STT results was 7.2 ± 4.8 mm/min. The mean corneal temperature was significantly lower in eyes with low STT results than in control eyes ($P < 0.0001$). Thermography is a method that can differentiate between eyes with normal and abnormal STTs. In the future, thermography might be incorporated as part of the ophthalmic exam and perhaps become a popular ancillary test for the diagnoses of ocular surface

disorders.

Key Words: Infrared thermography, Schirmer tear test, keratoconjunctivitis sicca, eyes, dogs.

3.3 INTRODUÇÃO

A avaliação da temperatura corporal tem sido um importante parâmetro no exame físico de pacientes humanos e veterinários. Relatos de 1.500 a.C. já traziam citações sobre febre e processo inflamatório. Hipócrates, em meados de 460 a.C. mencionava a importância da avaliação da temperatura nas extremidades do corpo, face, lábios e ouvidos, e descrevia as manifestações febris (ANDRADE FILHO, 1999). O termômetro se tornou uma ferramenta valiosa na prática médica desde a última parte do século XIX; no entanto, esforços foram feitos para se realizar a mensuração de temperatura por “não-contato”, por meio da detecção infravermelha (TAN *et al.*; 2009).

Qualquer corpo ou objeto com temperatura acima de zero absoluto (- 273°C ou 0 Kelvin) produz movimento interno das moléculas e emissão de radiação infravermelha. Sendo assim, todos os corpos irradiam energia eletromagnética na forma de calor, diferenciando-se em suas intensidades.

Os instrumentos termográficos exploram a relação entre a temperatura do corpo (T), sua emissividade (a habilidade relativa de sua superfície emitir energia através da radiação, ou ϵ) e a quantidade de energia eletromagnética que ele emana (W), através da equação:

“ $W: \epsilon \sigma T^4$ ”, onde σ representa a constante de Stefan-Boltzmann = $5.67 \cdot 10^{-8} \text{ Wm}^{-2} \text{ K}^4$; Sendo assim, a temperatura de qualquer objeto pode ser calculada se sua emissividade é conhecida e sua energia emitida é mensurada (MORGAN *et al.*; 1995; MORGAN *et al.*; 1996).

Dessa forma, a termografia infravermelha (TI) vem ganhando importância como uma técnica não invasiva de mensuração de temperatura, com a vantagem de não alterar os valores de temperatura de superfície por não possuir contato direto com o paciente. A TI é capaz de ler instantaneamente a atual temperatura das superfícies corporais (TAN *et al.*; 2009). Na medicina, a termografia foi utilizada pela

primeira vez em 1956 por Lawson, que relatou a associação da temperatura de pele elevada com o carcinoma mamário (LAWSON, 1956), e mais tarde investigou o potencial de uso da TI como uma ferramenta para o estudo de lesões mamárias (LAWSON, 1957). Atualmente, a termografia tem sido proposta como instrumento diagnóstico na avaliação da artrite, dor neuropática, doenças de pele, entre outros (TAN *et al.*; 2009).

Na oftalmologia, a primeira análise detalhada da temperatura ocular mensurada por meio de métodos não invasivos foi realizada em 1968. O autor utilizou um detector, que denominou de *bolômetro*, para mensurar a radiação infravermelha de diferentes áreas do globo ocular e então avaliar a temperatura ocular em diferentes situações (MAPSTONE, 1968; MAPSTONE, 1970). Nesse estudo, a emissividade do olho foi estabelecida em torno de 0.97 a 1.00 (MORGAN *et al.*; 1995).

A TI vem se destacando como método alternativo de diagnóstico de olho seco, porque tradicionalmente o diagnóstico da síndrome do olho seco é baseado no resultado de uma avaliação global dos seguintes pontos principais: diminuição da secreção lacrimal, instabilidade do filme lacrimal e doença epitelial corneana ou conjuntival, identificada pelos corantes vitais. No entanto, o desconforto de seres humanos e animais durante o teste lacrimal de Schirmer, bem como a toxicidade de corantes como o rosa bengala, servem de estímulo para a procura de testes mais rápidos e não invasivos para o diagnóstico da doença. A termografia vem, nesse sentido, se destacando como um método diagnóstico prático na medicina (KAMAO *et al.*; 2011). Na medicina veterinária, no entanto, não existem relatos sobre o uso da termografia ocular.

O objetivo do presente trabalho é realizar estudo termográfico na superfície de olhos normais de cães, estabelecendo dessa forma valores de referência não existentes até o presente momento. Adicionalmente, mensurações termográficas de olhos com baixos valores de TLS foram realizadas, com o objetivo de explorar possíveis mudanças na temperatura da superfície ocular em situações de baixa produção lacrimal.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 30 cães provenientes do atendimento clínico e oftalmológico do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná, com idade entre 3 anos e 19 anos, de raças variadas foram utilizado nesse estudo. Cães com valores de TLS (TLS - Schering Plough Animal Health Co) < 15 mm/minuto foram selecionados para inclusão no grupo doente (CCS) (MOORE, 1999). Em todos os cães foi realizado um exame oftalmológico completo, pelo mesmo investigador, sempre no período da tarde, com o objetivo de excluir outras doenças oculares. O exame oftálmico incluiu: Teste lacrimal de Schirmer (Ophthalmos, São Paulo, SP, Brasil); aplicação tópica do corante fluoresceína (Ophthalmos, São Paulo, SP, Brasil); tonometria de aplanção (Tonopen XL; Biorad Ophthalmic Division, Santa Clara, California, USA); utilização do transiluminador e biomicroscopia com lâmpada de fenda (Kowa SL-14; Kowa, Tokyo, Japan), e oftalmoscopia indireta (Heine Omega 200; Heine Instruments Canada, Kitchener, Ontario) após a aplicação de tropicamida 1% colírio (Mydriacyl; Alcon, São Paulo, SP, Brasil). Todos os exames de termografia ocular foram realizados no mínimo 24 horas após o exame inicial de cada paciente, para que a manipulação ocular não interferisse nas mensurações.

Cães que possuíam doenças oculares concomitantes (uveíte, catarata, glaucoma, conjuntivite não relacionada à CCS) foram excluídos do estudo. Todos os cães que possuíam baixos valores de TLS (< 15 mm/minuto) não estavam recebendo nenhum tipo de tratamento no momento do exame. Após o diagnóstico de CCS, no entanto, estes cães começaram a receber tratamento apropriado. Um grupo controle de cães residentes que pertencem ao Laboratório de Estudos e Pesquisa em Produção e Nutrição de Não-Ruminantes (Lepnan - UFPR) foi utilizado.

Um termógrafo digital infravermelho E40 (FLIR Systems Inc., Boston, MA, USA), com resolução IR 160X120 (19,200 pixels) foi utilizado para as mensurações. Para a realização do exame de termografia, os animais permaneciam em uma sala climatizada à 22°C, por 40 minutos. As pálpebras dos cães eram gentilmente afastadas, e permaneciam abertas durante 10 segundos, ponto em que as imagens infravermelhas eram obtidas. As imagens eram obtidas com o termógrafo localizado a uma distância de 40 cm dos olhos dos cães, medida mínima preconizada pelo

aparelho utilizado para uma boa focalização. Os olhos não eram tocados antes do procedimento, e o TLS era repetido imediatamente após cada exame de termografia para confirmar os valores obtidos previamente.

Cada termograma foi analisado sem magnificação, com o software FLIR Tolls versão 2.1, na coloração Lava (FLIR Systems Inc., Boston, MA, USA). As mensurações de temperatura foram realizadas utilizando como modelo a pesquisa de Morgan modificada (MORGAN *et al.*; 1995), em três locais específicos, sendo: Ar1 - limbo temporal, Ar2 - centro da córnea e Ar3 - limbo nasal (FIGURA 1). Para cada um desses locais, um “box” de 4x4 pixels foi mensurado, e a temperatura média de cada box foi utilizada nas avaliações estatísticas (MORGAN *et al.*; 1995; MORGAN *et al.*; 1996; TAN *et al.*; 2009; KAMAO *et al.*; 2011).

Para as comparações entre olhos normais e olhos com CCS, foi realizado Teste T. Para a comparação entre as diferentes regiões da córnea (limbo temporal, córnea central e limbo nasal), foram realizados ANOVA, e em seguida Teste de Tukey-Kramer. Foram considerados significativos valores de $P < 0,05$. Foi realizada uma análise de regressão linear simples para a comparação entre os valores de TLS e os valores de temperatura máxima obtidos durante a termografia.

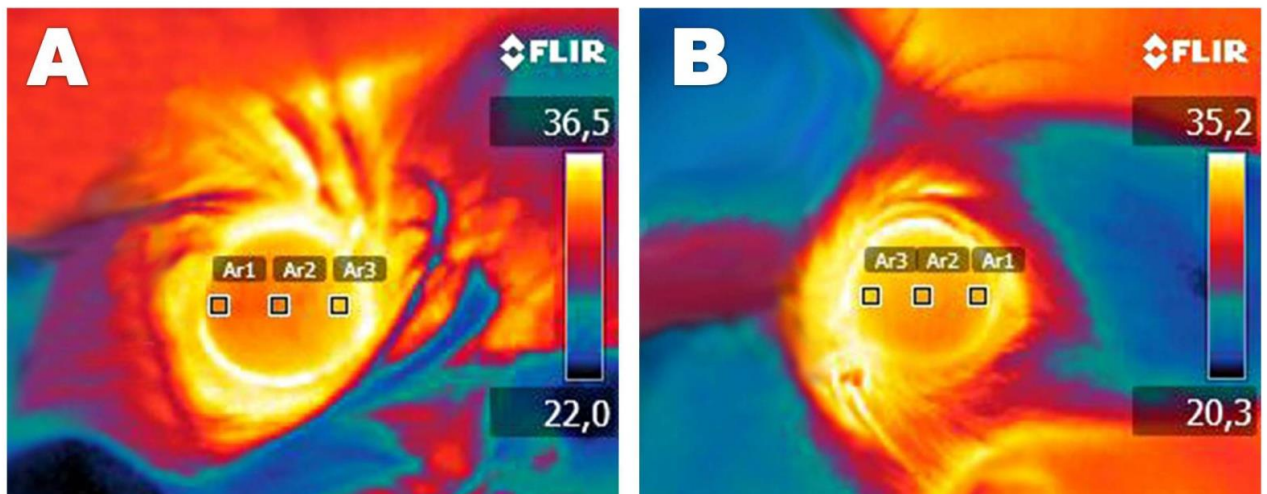


FIGURA 1 - EXEMPLO DE TERMOGRAMA DA SUPERFÍCIE OCULAR DE UM CÃO COM VALORES NORMAIS DE TLS (A) E UM CÃO COM BAIXOS VALORES DE TLS (B), MOSTRANDO AS TRÊS ÁREAS DE MENSURAÇÃO NA CÓRNEA (Ar1 = LIMBO TEMPORAL Ar2 = CENTRO DA CÓRNEA Ar3 = LIMBO NASAL). A) TERMOGRAMA DO OLHO DIREITO DE UMA CADELA, LHASA APSO, 9 ANOS, APRESENTANDO UM VALOR NORMAL DE TLS (20 mm/min), CLASSIFICADA COMO CONTROLE; B) TERMOGRAMA DO OLHO ESQUERDO DE UMA CADELA, SRD, 19 ANOS, APRESENTANDO MEDIDA DE TLS ABAIXO DO NORMAL (6 mm/min).

3.5 RESULTADOS

No total, foram obtidos 40 olhos normais ($TLS \geq 15$ mm/min) e 20 olhos com baixos valores de TLS ($TLS \leq 14$ mm/min). A média do valor de TLS nos olhos normais foi de $22,9 \pm 3,9$ mm/min (média \pm desvio padrão), e a média de valor de TLS nos olhos com baixo valor de TLS foi de $7,2 \pm 4,8$ mm/min. A média geral das três áreas mensuradas (Ar1, Ar2 e Ar3) foi significativamente menor nos olhos com baixos valores de TLS do que nos olhos do grupo controle ($P < 0,0001$). Os valores foram de $34,4 \pm 1,03^\circ\text{C}$ e $35,2 \pm 0,99^\circ\text{C}$ para o grupo com baixos valores de TLS e o grupo controle (valores de TLS normais), como mostra a FIGURA 2.

Comparando-se a diferença de temperatura entre as regiões da córnea em olhos com valores normais de TLS (olhos controle), a região corneana central possuía temperaturas significativamente menores que a região de limbo nasal, $34,79 \pm 1,04^\circ\text{C}$ e $35,59 \pm 0,74^\circ\text{C}$ ($P = 0,0002$), respectivamente. Adicionalmente, a temperatura do limbo nasal foi maior que a temperatura do limbo temporal, $35,59 \pm 0,74^\circ\text{C}$ e $35,19 \pm 1,01^\circ\text{C}$ ($P = 0,04$), respectivamente. Não houve diferença significativa de temperatura entre as regiões de córnea central e limbo temporal. Essas relações estão demonstradas na FIGURA 3.

Já nos animais com baixo valor de TLS, a temperatura central corneana ($33,77 \pm 1,01^\circ\text{C}$) foi significativamente menor quando comparada com as temperaturas do limbo nasal ($34,69 \pm 0,94^\circ\text{C}$, $P = 0,005$) e do limbo temporal ($34,71 \pm 0,89^\circ\text{C}$, $P = 0,03$), como demonstrado na FIGURA 4.

Percebe-se ainda, uma correlação positiva entre os valores de temperatura e de TLS ($P = 0,016$), ou seja, quanto maior o valor de TLS, maior o valor da temperatura corneana, como demonstra a FIGURA 5. O coeficiente de determinação (R^2) foi de 0.69.

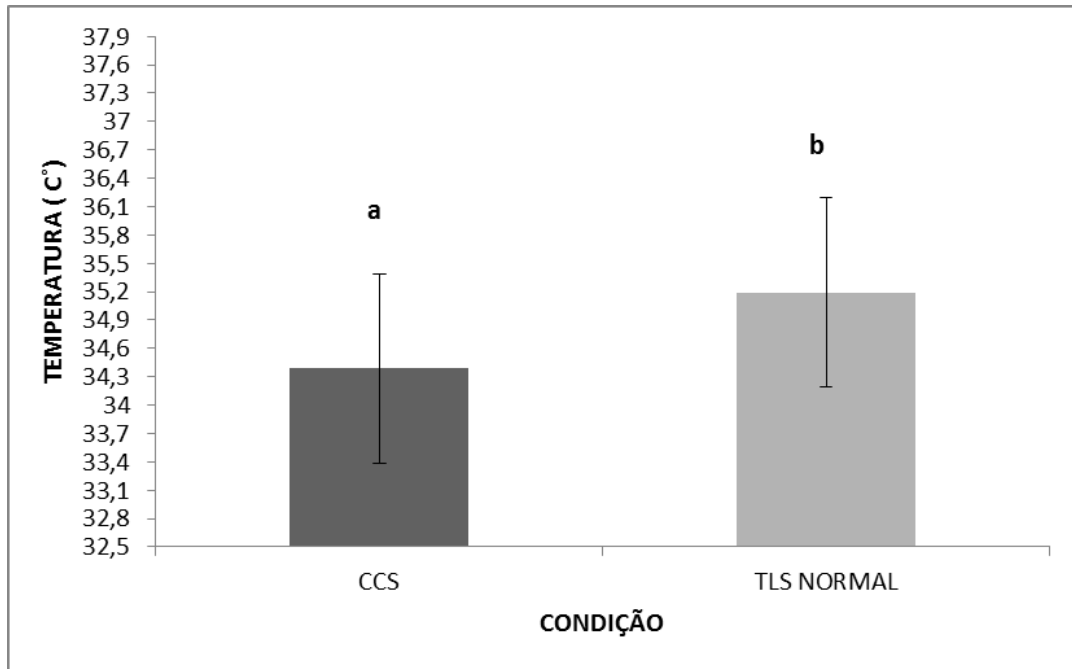


FIGURA 2 – MÉDIA DA TEMPERATURA CORNEANA (Ar1, Ar2 e Ar3) EM OLHOS COM VALORES NORMAIS DE TLS E EM OLHOS COM BAIXOS VALORES DE TLS. OLHOS COM BAIXOS VALORES DE TLS POSSUEM TEMPERATURA SIGNIFICATIVAMENTE MENOR QUE OLHOS NORMAIS. MÉDIAS DE BARRAS SEGUIDAS POR LETRAS DIFERENTES SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES ($P < 0,05$).

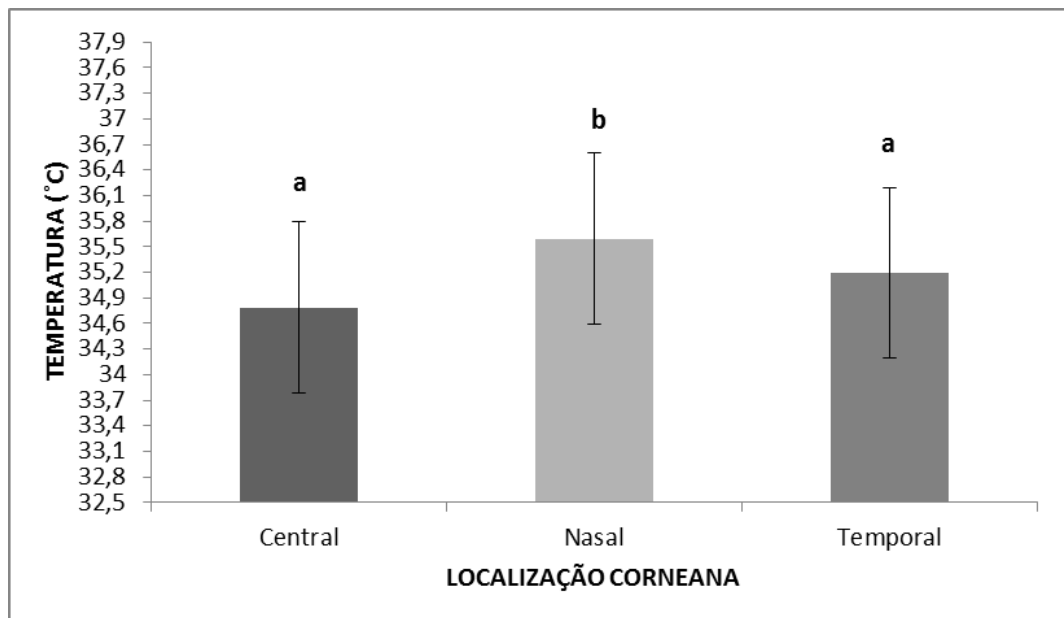


FIGURA 3 – DIFERENÇAS DE TEMPERATURA ENTRE OS TRÊS PONTOS MENSURADOS EM OLHOS COM VALORES NORMAIS DE TLS (OLHOS CONTROLE). A REGIÃO DA CÔRNEA CENTRAL POSSUI TEMPERATURA SIGNIFICATIVAMENTE MENOR QUE A REGIÃO DO LIMBO NASAL. O LIMBO NASAL, POR SUA VEZ, POSSUI TEMPERATURA SIGNIFICATIVAMENTE MAIOR QUE A REGIÃO DO LIMBO TEMPORAL. A MÉDIA DE BARRAS SEGUIDAS POR LETRAS DIFERENTES SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES ($P < 0,05$).

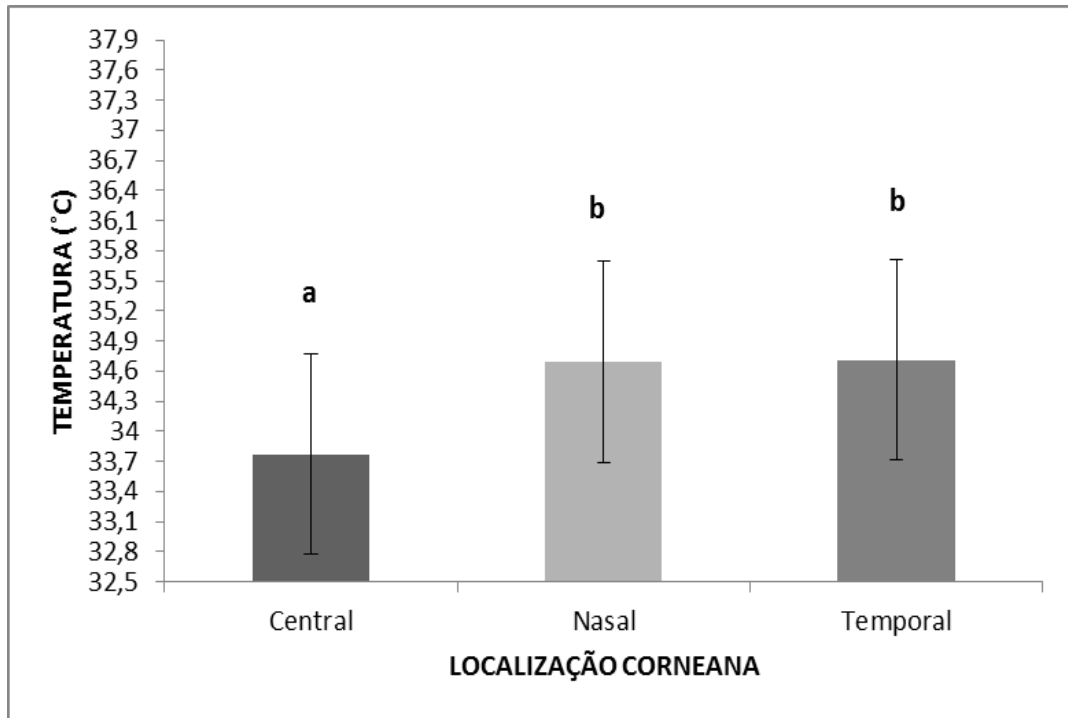


FIGURA 4 – DIFERENÇAS DE TEMPERATURA ENTRE OS TRÊS PONTOS MENSURADOS EM OLHOS COM BAIXOS VALORES DE TLS. A REGIÃO DA CÓRNEA CENTRAL POSSUI TEMPERATURA SIGNIFICATIVAMENTE MENOR QUE AS REGIÕES DE LIMBO NASAL E LIMBO TEMPORAL. A MÉDIA DE BARRAS SEGUIDAS POR LETRAS DIFERENTES SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES ($P < 0,05$).

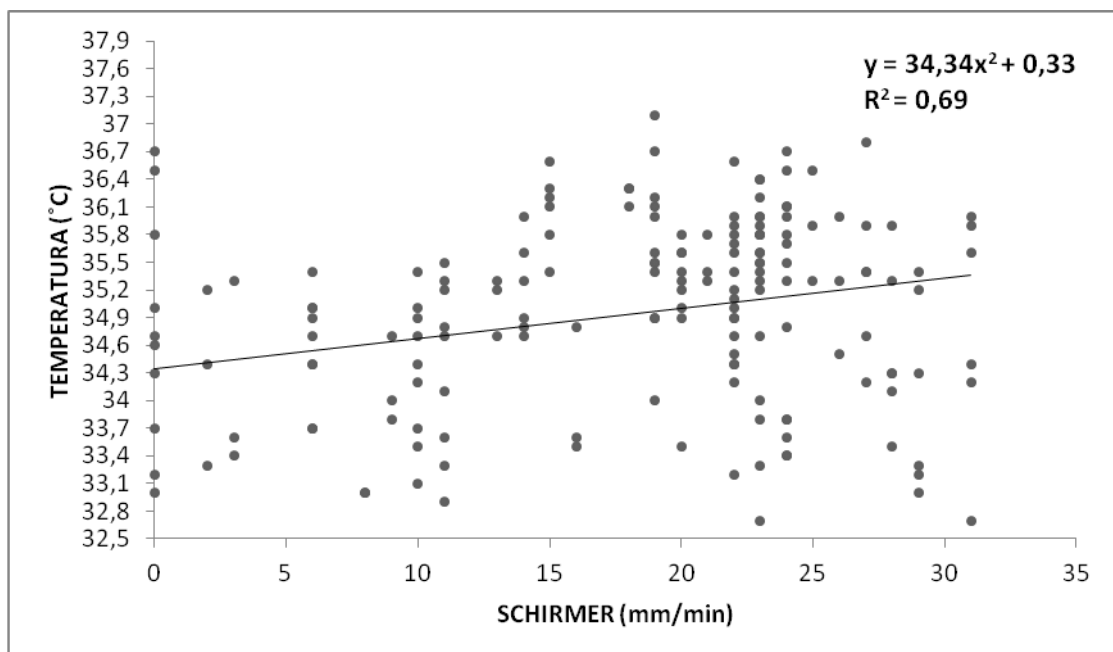


FIGURA 5 – REGRESSÃO LINEAR SIMPLES QUE DEMONSTRA UMA CORRELAÇÃO POSITIVA ENTRE A TEMPERATURA DA SUPERFÍCIE OCULAR E O VALOR DO TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER ($P < 0,05$). APROXIMADAMENTE 70% DA VARIAÇÃO DA TEMPERATURA CORNEANA PODE SER EXPLICADA PELA VARIÁVEL TLS ($R^2 = 0,69$). FÓRMULA DA REGRESSÃO: $Y = 34,341x^2 + 0,33$, ONDE Y: TEMPERATURA GLOBAL DA SUPERFÍCIE OCULAR; x: VALOR TLS; $R^2 = 0,69$.

3.6 DISCUSSÃO

A termografia ocular tem sido utilizada para investigar neoplasias oculares, retinoblastomas, oftalmoplegia, neurite óptica e glaucoma (KAMAO *et al.*; 2011). Na oftalmologia, essa tecnologia se tornou a principal ferramenta no acesso da temperatura da superfície ocular, e numerosos estudos tem sido conduzidos para investigação da temperatura da superfície ocular e sua relação com a fisiologia ocular e condições patológicas, como por exemplo, no diagnóstico da ceratoconjuntivite seca (CCS) em humanos (MORGAN *et al.*; 1993; MORGAN *et al.*; 1995; MORGAN *et al.*; 1996; TAN *et al.*; 2009; KAMAO *et al.*; 2011); no entanto, não existem relatos sobre o uso da termografia utilizada para a investigação de olho seco em animais.

De acordo com nossos resultados, aproximadamente 70% da variação na temperatura corneana pode ser explicada pela variabilidade do TLS ($R^2=0.69$). Os 30% restantes se devem a variáveis não determinadas. Uma possível variável a ser considerada é a presença de vasos sanguíneos e pigmentação. A fim de excluir completamente a possibilidade de que os resultados encontrados na variação de temperatura sejam resultados provocados por ceratite, e não possuam nenhuma relação com os baixos valores de TLS, investigações futuras devem ser realizadas comparando olhos normais (sem inflamação e com valores normais de TLS), com olhos apresentando edema, pigmentação e neovascularização (ceratite ou ceratoconjuntivite), mas que possuam valores normais de TLS. Aparentemente o filme lacrimal é um importante determinante relacionado á temperatura da superfície ocular em olhos secos e normais (MAPSTONE, 1968; MORGAN *et al.*; 1993; MORGAN *et al.*; 1995). Uma possível explicação seria a de que o filme lacrimal aumenta sua temperatura quando está em contato com a conjuntiva bulbar e palpebral, que são mais quentes, e distribui esse calor pela superfície da córnea avascular (MAPSTONE, 1968; MORGAN *et al.*; 1995). Dessa forma, deficiências na porção aquosa da lágrima podem alterar esse mecanismo, resultando em uma diminuição da temperatura da superfície corneana. Outra explicação seria a de que a instabilidade do filme lacrimal em olhos secos pode causar um aumento na taxa de

evaporação do mesmo, que resulta em uma diminuição da temperatura da superfície ocular devido ao aumento na taxa de resfriamento corneano.

Na nossa investigação, a média de temperatura das três áreas corneanas (Ar1, Ar2, Ar3) foi significativamente menor em olhos com baixos valores de TLS do que em olhos normais, com diferença de aproximadamente 0,8°C. Em resumo, os valores foram de 34,4°C e 35,2°C para o grupo com valores baixos de TLS e o grupo controle (valores normais de TLS), respectivamente. Mapstone, em suas pesquisas iniciais, demonstrou que assim que as pálpebras são abertas, a temperatura da superfície corneana cai rapidamente. No entanto, a diferença máxima observada por ele não foi maior do que 0,3°C (MAPSTONE, 1968). Da mesma maneira, a significativa diferença encontrada em olhos com valores normais de TLS e olhos com baixos valores de TLS pode parecer pequena, à primeira vista, mas é substancial quando consideramos a magnitude da mensuração por radiação infravermelha.

Em nosso estudo, a temperatura corneana central de olhos com baixos valores de TLS foi significativamente menor do que a temperatura da superfície ocular do limbo nasal e do limbo temporal. Uma possível explicação para esse fato é que a conjuntiva ao redor do limbo é vascularizada, e também circundada pelo corpo ciliar e coróide, ambos possuidores de alto fluxo sanguíneo. A natureza avascular da córnea impede a transferência de calor da superfície vascular anterior para o centro da córnea, e, portanto, após uma piscada, essa área se resfria mais rapidamente.

Pode-se pensar que certas doenças inflamatórias que cursam com aumento da vascularização corneana possam resultar em um aumento na temperatura da superfície da mesma. De acordo com Kamao e colaboradores (2011), no entanto, isso ocorre apenas durante os primeiros segundos após a abertura palpebral, pois foi demonstrado que após 2 segundos a vascularização corneana em pacientes portadores de olho seco não foi capaz de manter a temperatura elevada. Ainda, foi demonstrado por meio de termogramas oculares sequenciais com um segundo de diferença, comparando olhos normais com olhos secos, que a taxa de resfriamento é muito maior nestes últimos (MORGAN *et al.*; 1996). Esse resultado é ainda mais relevante quando se trata da temperatura corneana central, onde os valores são significativamente diferentes entre os dois grupos da nossa investigação.

Alguns pesquisadores têm encontrado altas taxas de evaporação do filme lacrimal em pessoas com olho seco, comparativamente com pessoas com olhos

normais (ROLANDO *et al.*; 1983; MORGAN *et al.*; 1993). Craig e colaboradores (2000) examinaram nove pacientes com CCS e 13 pacientes controle, e encontraram taxas de evaporação muito maiores nos olhos com CCS, além de aumento da osmolaridade lacrimal, e aumento da variação de temperatura mensurada por meio de termografia ocular (CRAIG *et al.*; 2000). Todos os pacientes com CCS apresentavam baixa produção lacrimal, demonstrado por baixos valores de TLS. As maiores taxas de evaporação, portanto, também devem contribuir para a dinâmica da temperatura da superfície corneana em olhos secos.

No presente trabalho verificamos que a temperatura corneana central em olhos com valores de TLS normais é significativamente maior que a temperatura corneana central em olhos com baixos valores de TLS. Estudos prévios utilizando a termografia ocular em pessoas demonstraram que a taxa de resfriamento do filme lacrimal no centro da córnea foi muito mais rápida, e conseqüentemente a diferença de temperatura entre o limbo e o centro corneano foi maior nos olhos com CCS do que nos olhos saudáveis (MORGAN *et al.*; 1995), fato esse que corrobora os resultados do presente trabalho. O mesmo estudo, porém, afirma que em olhos com CCS a temperatura média na córnea, quando mensuradas imediatamente após a abertura dos olhos, apresentou-se maior como um todo (MORGAN *et al.*; 1995). Apesar de nossos resultados se oporem a esses, as diferenças requerem avaliação cuidadosa. No nosso estudo não foi possível obter as imagens termográficas dos animais imediatamente após a abertura palpebral, pois os animais movimentavam a cabeça e os olhos. Nós observamos que era possível obter uma imagem de qualidade após oito segundos de posicionamento do instrumento e dos olhos. Dessa forma, nós decidimos obter todas as imagens termográficas no tempo de dez segundos após a abertura palpebral. Sabe-se que quando as pálpebras são abertas, a superfície ocular perde calor por convecção, radiação e evaporação, e o centro da córnea se torna mais frio, comparativamente ao limbo e a esclera (MAPSTONE, 1970), conforme foi observado em nossa investigação. Animais não são tão cooperativos quanto os pacientes humanos, o que dificultou a obtenção das imagens no momento imediato após a abertura palpebral. Sendo assim, o nosso estudo não pode corroborar os achados encontrados no trabalho de Morgan e colaboradores (MORGAN *et al.*; 1995), que encontrou temperaturas maiores quando capturou imagens nos primeiros segundos.

Outro fato verificado no presente trabalho é que a temperatura do limbo nasal em olhos saudáveis tende a ser mais alta do que a temperatura do limbo temporal, sendo que em olhos com CCS não parece haver diferença significativa entre esses dois pontos de mensuração. Ainda não se sabe o motivo para tal fato, mas uma das possíveis explicações seria a presença de maior fluxo sanguíneo na região da conjuntiva nasal. Por ali passam vasos mais calibrosos, comparativamente ao limbo temporal (CRAIG *et al.*; 2000). O limbo nasal também é o local anatômico de drenagem lacrimal, e pode ser que em olhos normais ocorra um acúmulo de lágrima nesse local, aumentando dessa forma a temperatura. Isso não ocorre em olhos com CCS, o que pode explicar também o fato de que nesses animais a temperatura do limbo nasal é comparativamente mais baixa do que em olhos normais.

No nosso estudo não foi possível comparar a influência da conformação craniana e, portanto, o grau de exposição dos globos oculares nas diferentes raças, pois apenas três dos 30 animais pesquisados não eram mesaticefálicos. Um deles era dolicocefálico (Pastor Alemão) e dois deles eram braquicefálicos (Pug e Lhasa Apso).

Deve-se estar atento, no que concerne ao uso da termografia como meio auxiliar no diagnóstico, às particularidades do teste, como: o ambiente deve ter condições de temperatura e umidade controladas, o posicionamento dos animais deve ser padronizado e cuidadoso, a padronização da área a ser fotografada e, finalmente, a padronização da análise do software deve ser realizada.

A termografia se mostra como método com potencial para auxiliar o diagnóstico de alterações oculares, principalmente quando utilizada como ferramenta na triagem de anormalidades em situações onde haja a necessidade de avaliação de uma grande população de animais. Esse método de triagem poderia ser particularmente útil em locais como abrigos de animais e zoológicos, desde que o instrumento pudesse ser colocado próximo da cabeça dos animais (aproximadamente 40 cm). Isso poderia ser possível ao se utilizar alguns métodos de restrição física, como por exemplo as “squeeze cage”. Já no que concerne ao uso da termografia como ferramenta de pesquisa, os autores estão cientes de que esse foi um estudo piloto com foco nos olhos com baixa produção da porção aquosa do filme lacrimal, correlacionando resultados de TLS com TI. Maiores investigações são necessárias, tanto em animais com olhos normais quanto em animais com outras condições de doenças oculares (isto é, outras formas de ceratite crônica), explorando a influência

da conformação do crânio em diferentes raças, de modo que a sua utilização seja viável e prática para outros propósitos da oftalmologia veterinária.

3.7 REFERÊNCIAS

ANDRADE FILHO A.C. Teletermografia: princípios físicos, fisiológicos e fisiopatológicos da produção da imagem e suas indicações na clínica de dor e reabilitação. **Acta Fisiatrica**, v. 6, p. 55-59, 1999.

CRAIG J.P.; SINGH I.; TOMLINSON A. *et al.* The role of tear physiology in ocular surface temperature. **Eye**, v.14, p.635-641, 2000.

KAMAO T.; YAMAGUCHI M.; KAWASAKI S. *et al.* Screening for dry eye with newly developed ocular surface thermographer. **American Journal of Ophthalmology**, v. 51, p. 782-791, 2011.

LAWSON R.N. Implications of surface temperature in the diagnosis of breast cancer. **Canadian Services Medical Journal**, v.75, p.309-310, 1956.

LAWSON R.N. Thermography: a new tool in the investigation of breast lesions. **Canadian Services Medical Journal**, v.13, p.517, 1957.

MAPSTONE R. Determinants of corneal temperature. **British Journal Ophthalmology**, v.52, p. 729-741, 1968.

MAPSTONE R. Ocular thermography. **British Journal Ophthalmology**, v.54, p.751-754, 1970.

MATHERS W. Evaporation from the ocular surface. **Experimental Eye Research**, v.78, p.389-394, 2004.

MOORE, C.P. Diseases and surgery of the lacrimal secretory system. In: **Veterinary Ophthalmology**, 3rd edition (ed. Gellat KN). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. p. 583-607.

MORGAN P.B.; TULLO A.B.; EFRON N. Infrared thermography of the tear film in dry eye. **Eye**, v. 9, p. 615-618, 1995.

MORGAN P.B.; TULLO A.B.; EFRON N. Ocular surface cooling in dry eye – a pilot study. **Journal of the British Contact Lens Association**, v. 19, p.7-10, 1996.

MORGAN P.B.; SOH M.P.; EFRON N. Potential applications of ocular thermography. **Optometry & Visual Science** v.70, p. 568-576, 1993.

ROLANDO M.; REFOJO M.F.; KENYON K.R. Increased tear evaporation in eyes with keratoconjunctivitis sicca. **Archives of Ophthalmology**, v.101, p. 557-558, 1983.

TAN J.H.; NG E.Y.K.; ACHARYA U.R.; *et al.* Infrared thermography on ocular surface temperature: a review. **Infrared Physics & Technology**, v.52, p. 97-108, 2009.

4 CORRELAÇÃO ENTRE A DENSIDADE ESPECÍFICA DA LÁGRIMA E O TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER EM CÃES

Correlation between tear specific gravity and Shirmer tear test in dogs

4.1 RESUMO

A hiperosmolaridade é uma alteração na composição da lágrima que ocorre na maioria dos casos de olho seco, e é referida como padrão-ouro para o seu diagnóstico em seres humanos. Trata-se, porém, de técnica complexa e de alto custo. Objetivou-se propor nova técnica diagnóstica que indiretamente refletisse a osmolaridade da lágrima, a gravidade específica da lágrima. Cento e dez olhos foram avaliados através do teste lacrimal de Schirmer, e seus valores foram correlacionados com a medida da densidade específica da lágrima utilizando-se um refratômetro manual. Observou-se correlação negativa moderada e significativa entre a densidade específica e resultados do teste lacrimal de Schirmer. Concluímos que a mensuração da gravidade específica da lágrima por meio do refratômetro pode ser empregada como método diagnóstico auxiliar para a síndrome do olho seco, já que a mesma pode refletir o estado da osmolaridade lacrimal.

Palavras-chave: osmolaridade, gravidade específica, lágrima.

4.2 ABSTRACT

Hyperosmolarity is a reported change in the composition of the tear that occurs in most cases of keratoconjunctivitis sicca (KCS), and is referred to as the gold standard for KCS diagnosis in human patients. It is, however, a complex and expensive technique. The objective of the investigation was to propose a new diagnostic technique that indirectly reflects tear osmolarity, the specific gravity. One hundred and ten eyes were evaluated by Schirmer tear test, and their values were compared with their tear specific gravity, which was measured using a manual refractometer. Correlation was negative, moderate but highly significant. We conclude that measurement of specific gravity of tears using a refractometer might be an ancillary diagnostic method for KCS, since it can indirectly reflect the state of lacrimal osmolarity.

Keywords: osmolality, specific gravity, tear.

4.3 INTRODUÇÃO

A secreção dos componentes do filme lacrimal é coordenada e controlada pela Unidade Funcional da Lágrima (UFL), a qual consiste de sistema integrado que inclui: as glândulas lacrimais, a superfície ocular (córnea, conjuntiva e glândulas tarsais), as pálpebras e os nervos sensoriais e motores que as integram (STERN *et al.*, 1998). Os componentes da UFL agem em conjunto para manter a integridade e a homeostase da superfície ocular, liberando os componentes do filme lacrimal em quantidades e concentrações adequadas em resposta aos diferentes estímulos. A UFL mantém, dessa forma, a superfície ocular saudável através do funcionamento adequado do filme lacrimal, que confere proteção, lubrificação e ambiente adequado para renovação das células epiteliais da córnea (FONSECA *et al.*, 2010).

A instabilidade do filme lacrimal está associada a inúmeras doenças oculares e decorre de alterações do volume, da composição e da hidrodinâmica da lágrima. O olho seco, designação frequente dessa instabilidade, é uma das entidades nosológicas mais frequentes na prática oftalmológica em todo o mundo, sendo a irritação, sensação de corpo estranho e ardência ocular os sintomas mais comuns (PAULA *et al.*, 2004).

Vários são os testes clínicos disponíveis para anormalidades do filme lacrimal, porém nenhum pode ser considerado inteiramente eficiente (HIDA *et al.*, 2005). Dentre os testes utilizados na avaliação oftalmológica dos pacientes com olho seco, os mais utilizados são: Teste Lacrimal de Schirmer (TLS), tempo de ruptura do filme lacrimal e a coloração da superfície ocular com corantes (verde de lissamina, fluoresceína) (FELBERG *et al.*, 2008). Entre os testes diagnósticos quantitativos, o mais utilizado é o teste de Schirmer (I, II) (MOORE e GELLAT 1999). Trata-se de um teste fácil e de baixo custo, porém a colocação das fitas de papel causa desconforto, que pode ser minimizado com a utilização de anestésico tópico (Schirmer II). Para o teste de Schirmer I, um papel de filtro padronizado (Whatman 41) de 5 mm de largura e 35 mm de comprimento, com uma dobra a 5 mm da extremidade, é colocado no terço lateral da borda palpebral inferior por 5 minutos, quando utilizado em humanos. Nos cães, a duração do teste foi padronizada para 1 minuto, por questões de praticidade. Esse método mede a secreção basal e a reflexa da lágrima. No teste de Schirmer II, que mede apenas a secreção basal da lágrima,

instila-se nos olhos o colírio anestésico e o mesmo papel filtro é utilizado, pelo mesmo período de tempo (1 minuto) (BARABINO *et al.*, 2004; HIDA *et al.*, 2005).

Ainda, outras provas menos usuais na prática clínica também estão disponíveis para a avaliação de pacientes com suspeita ou diagnóstico estabelecido de olho seco, como: citologia conjuntival de impressão, análise do perfil proteico do filme lacrimal, medida de osmolaridade lacrimal, teste de cristalização do filme lacrimal, entre outros (BRON, 2001, YOKOI e KOMURO, 2003, BARABINO *et al.*, 2004, FELBERG *et al.*, 2008, FONSECA *et al.*, 2010). Porém, na maioria dos estudos, apenas um parâmetro foi avaliado de cada vez, poucas vezes ainda a correlação entre dois ou mais parâmetros foi explorada.

Na tentativa de compreender melhor a fisiopatologia das doenças que causam comprometimento da lubrificação ocular, e também para testar novos métodos diagnósticos e terapias para essas doenças, tem-se desenvolvido estudos com modelos animais de olho seco. Existe, na literatura mundial, considerável dificuldade em obter técnicas padronizadas para estudar o filme lacrimal e mudanças na superfície ocular de modelos animais (BARABINO *et al.*, 2004).

A necessidade deste trabalho foi inspirada na comprovação da ocorrência de aumento da osmolaridade da lágrima em pacientes portadores da síndrome do olho seco (BRON, 2001, ROLANDO e ZIERHUT 2001, BARABINO *et al.*, 2004), e é referida como padrão-ouro para o seu diagnóstico (FONSECA *et al.*, 2010). A osmolaridade do filme lacrimal é mensurada utilizando-se um osmômetro comercialmente disponível. Foi demonstrado que a osmolaridade do filme lacrimal foi significativamente maior em modelos de coelhos com olho seco (BARABINO *et al.*, 2004). Apesar de se tratar de técnica diagnóstica altamente eficiente, é técnica altamente especializada, requer equipamentos caros e operador qualificado (BRON, 2001).

Dessa forma, objetivou-se propor técnica diagnóstica que se assemelhasse ao padrão da osmolaridade, mas que fosse de mais fácil acesso e com menor custo, o emprego da gravidade específica (GE) da lágrima.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 40 cães provenientes do atendimento clínico e oftalmológico do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná, de raças e idades variadas foi utilizado nesse estudo. Adicionalmente, um total de 15 cães residentes, da raça Beagle, com 4 anos de idade, que pertencem ao Laboratório de Estudos e Pesquisa em Produção e Nutrição de Não-Ruminantes (Lepnan - UFPR) foi utilizado. No total, 110 olhos foram avaliados para esse estudo.

Com um tubo de vidro capilar (Perfecta, São Paulo, SP, Brasil), amostras de quantidade variável da lágrima foram coletadas do fórnice do canto temporal de ambos os olhos de cada animal (FIGURA 1). O refratômetro manual (RTP-20 ATC, Meditec Brasil, São Paulo, SP, Brasil) (FIGURA 2) foi calibrado antes das mensurações, colocando-se 1 gota de água destilada no vidro e ajustando a escala para 1.000 sg (FIGURA 3). Imediatamente após a coleta, a gota de lágrima era colocada na placa de vidro do refratômetro, após limpeza da mesma com água destilada e secagem suave com um pano não abrasivo. A aba então era fechada e o refratômetro era segurado paralelamente ao chão, voltado para uma área de luz intensa. O nível de GE era lido no ponto onde a linha de contraste (diferença entre a área clara e a área escura) cruzava a escala, e então o valor da densidade era anotado (1.000 a 1.040 sg).

Vinte e quatro horas após o procedimento de coleta e mensuração da GE, foi realizado o Teste lacrimal de Schirmer I (TLS) colocando a fita padronizada (Ophthalmos, São Paulo, SP, Brasil) no centro do fórnice inferior dos cães e mantendo ali pelo período de 1 minuto. OS cães que possuíam outras doenças oculares concomitantes que não ceratoconjuntivite seca, tais como uveíte, catarata, glaucoma, foram excluídos do estudo.

O valor da densidade (gravidade específica - GE) de cada olho foi correlacionado com seu respectivo valor de TLS. Para essa correlação, foi utilizado o Teste de Correlação de Pearson. Foram considerados significativos valores de $P < 0,05$.



FIGURA 1 - COLETA DE LÁGRIMA UTILIZANDO UM TUBO DE VIDRO CAPILAR POSICIONADO NO CANTO TEMPORAL DO OLHO DIREITO DE UM CÃO.



FIGURA 2 - REFRAATÔMETRO MANUAL (MARCA RTP-20 ATC) UTILIZADO PARA DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE DA LÁGRIMA

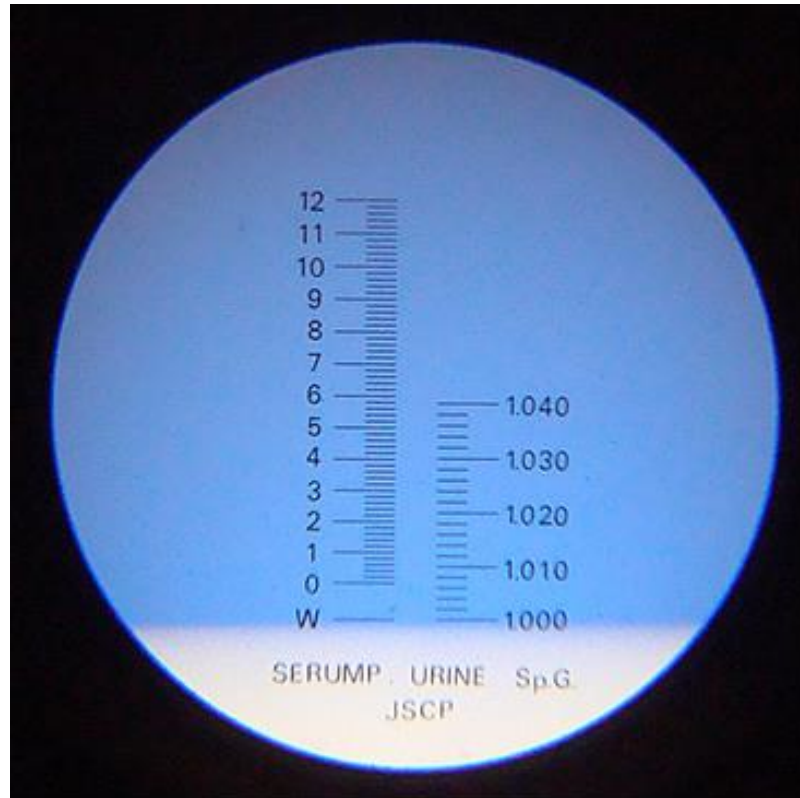


FIGURA 3 - VISUALIZAÇÃO DA TELA DO REFRAATÔMETRO QUANDO UTILIZADO ÁGUA DESTILADA PARA SUA CALIBRAÇÃO. OS VALORES DE DENSIDADE ERAM ANOTADOS VISUALIZANDO A COLUNA DIREITA DA TELA (1.000 – 1.040 SG).

4.5 RESULTADOS

O coeficiente de correlação do teste de Pearson foi de $r : - 0,43$ ($P < 0,0001$). Trata-se, portanto de correlação moderada, porém altamente significativa. Além disso, a correlação é negativa, o que significa que quando a variável TLS aumenta, a variável densidade diminui, respectivamente (FIGURA 4).

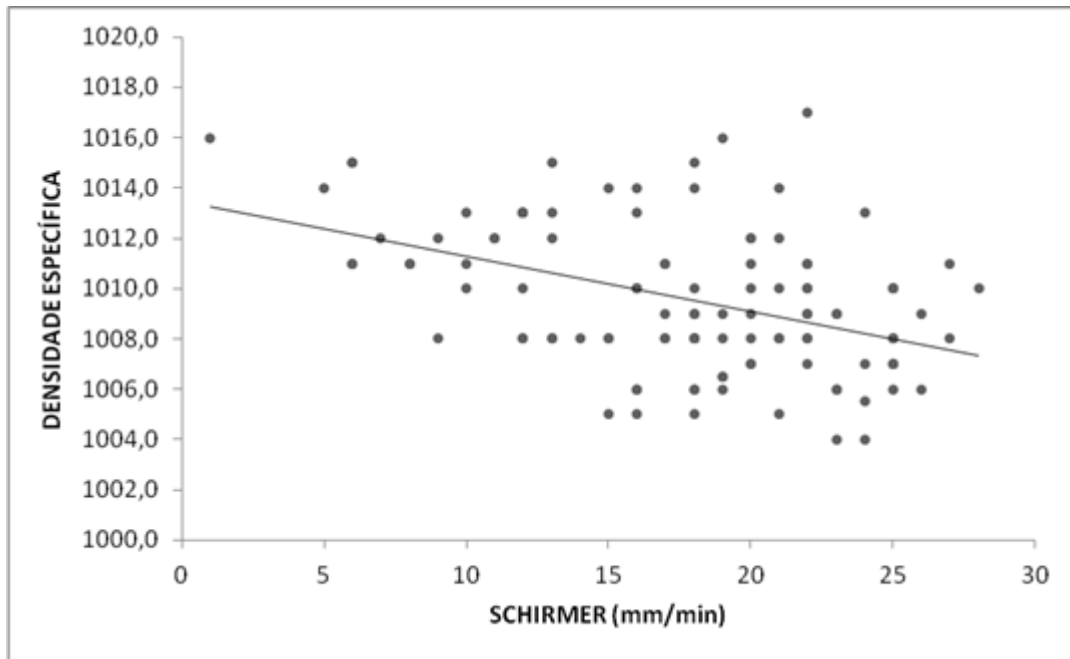


FIGURA 4 - CORRELAÇÃO NEGATIVA ENTRE A DENSIDADE ESPECÍFICA (SG) DA LÁGRIMA E O VALOR DO TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER ($P < 0,05$).

4.6 DISCUSSÃO

A GE pode ser obtida mensurando-se o índice refrativo em refratômetro especificamente calibrado. O refratômetro mede o grau de refração da luz através da passagem da mesma por um determinado líquido: a quantidade de refração (índice refrativo - IR) é variável em função da quantidade e do tipo de soluto (partículas) naquele líquido. IR e GE estão correlacionadas, já que GE é definida como a relação do peso de um determinado líquido com o peso do volume da mesma quantidade de água destilada. Sendo assim, o valor da GE de uma solução vai depender do número e do tamanho (peso molecular) das partículas encontradas nessa solução (ARCHER, 2005).

A mensuração da gravidade específica por meio do refratômetro é comumente utilizada em patologia clínica na avaliação de amostras de urina, pois esta sempre possui uma medida de GE maior do que quando comparada com a medida da água destilada, que possui uma medida de GE de 1.000 (WATSON, 1998). Ainda, sabe-se que a osmolaridade da urina pode ser estimada determinando-se a gravidade específica da mesma. Em geral, é sabido que a gravidade específica da urina possui uma boa correlação com a medida da sua osmolaridade. Porém, ao contrário da gravidade específica, a osmolaridade não é

afetada pelo peso molecular das partículas encontradas na solução (VOINESCU *et al.*, 2002).

A deficiência da fase aquosa da lágrima é a causa mais comum de olho seco, e usualmente é relacionada com a diminuição de secreção lacrimal pelas glândulas lacrimais, embora um aumento na evaporação da lágrima também possa estar envolvido. Mudanças na composição da camada aquosa, como aumento na concentração de eletrólitos, perda dos fatores de crescimento ou presença de citocinas pro-inflamatórias estão associadas com o dano à superfície ocular causado pela doença (ROLANDO e ZIERHUT, 2001). Sendo assim, a instabilidade do filme lacrimal pode estar presente em todas as formas de olho seco e a hiperosmolaridade lacrimal pode ser um mecanismo chave para o dano à superfície ocular (BRON, 2001). Acredita-se que a osmolaridade da lágrima pode ser aumentada tanto pela redução da produção lacrimal quanto pelo aumento da evaporação da lágrima, o que refletiria maior concentração de eletrólitos na superfície ocular (BARABINO *et al.*, 2004).

Neste trabalho nós demonstramos que existe correlação moderada entre a medida dos valores de GE lacrimais e as medidas de TLS dos olhos de cães, demonstrando que para valores baixos de TLS existem valores mais altos de GE, o que nos indica possivelmente que a lágrima de um cão portador de olho seco possui maior concentração de partículas. Dessa forma, demonstramos importante correlação entre a medida de GE da lágrima e sua osmolaridade.

Sabe-se que a medida de GE da urina é influenciada, principalmente, por concentrações de cloreto de sódio (NaCl), glicose, uréia e albumina (WATSON, 1998). Sendo assim, existe certa discrepância entre as medidas de SG e osmolaridade da urina em determinadas situações clínicas, como a diabetes mellitus, síndrome nefrótica e aplicação de contrastes radiológicos (VOINESCU *et al.*, 2002). A lágrima, por sua vez, é uma solução complexa composta de água, enzimas, proteínas, imunoglobulinas, lipídios, vários metabólitos, células epiteliais esfoliadas e células polimorfonucleares (ROLANDO e ZIERHUT, 2001).

Dada à complexidade da solução da lágrima, não se sabe ainda quais moléculas presentes podem estar influenciando na mensuração da gravidade específica da mesma, porém acreditamos que, como o TLS pode refletir tanto a baixa produção lacrimal quando o aumento da evaporação lacrimal, a mensuração da densidade específica da lágrima por meio do refratômetro pode indiretamente

refletir a osmolaridade do filme lacrimal e pode servir como método diagnóstico auxiliar para a síndrome do olho seco. Por fim, diferentemente da mensuração da osmolaridade, a mensuração da gravidade específica não é um método diagnóstico caro e não depende de pessoal qualificado para a sua realização.

4.7 REFERENCIAS

ARCHER J. Urine analyses. In: **BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology**, 2th edition, 2005, p.149-168.

BARABINO S.; CHEN W.; DANA M.R. Tear film and ocular surface tests in animal models of dry eye: uses and limitations. **Experimental Eye Research**, v.79, p.613-621, 2004.

BRON A.J. Diagnosis of dry eye. **Survey of Ophthalmology**, v.45, p.221-226, 2001.

FELBERG S.; CORDEIRO H.; SATO E.H.; *et al.* Reprodutibilidade na classificação do teste de cristalização do filme lacrimal em pacientes com síndrome de sjögren. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.71, p.228-233, 2008.

FONSECA E.C.; ARRUDA G.V.; ROCHA E.M. Olho seco: etiopatogenia e tratamento. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.73, p.197-203, 2010.

HIDA R.Y.; NISHIWAKI-DANTAS M.C.; HIDA M.M.; *et al.* Estudo quantitativo da lágrima pelo teste de fenol vermelho na população brasileira. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.68, p.433-437, 2005.

MOORE C.P. Diseases and surgery of the lacrimal secretory system. In: **Veterinary Ophthalmology**, 3th edition (ed. GELLAT K.N.). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1999; p.583-607.

PAULA J.S.; BONINI-FILHO M.A.; SCHIRMBECK T.; *et al.* Estudo comparativo de testes diagnósticos para olho seco entre crianças saudáveis e portadoras de artrite reumatoide juvenil. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.67 p.769-772, 2004.

ROLANDO M.; ZIERHUT M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. **Survey of Ophthalmology**, v.45, p.203-209, 2001.

STERN M.E.; BEUERMAN R.W.; FOX R.I.; *et al.* The pathology of dry eye: The interaction between the ocular surface and the lacrimal glands. **Cornea**, v.17, p.584, 1998.

VOINESCU G. C.; SHOEMAKER M.; MOORE H.; *et al.* The relationship between urine osmolality and specific gravity. **The American Journal of the Medical Sciences**, v.323, p.39-42, 2002.

WATSON D. Urine specific gravity in practice. **Australian Veterinary Journal**, v.76, p.392-398, 1998.

ANEXO I**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROJETO 1 PELA COMISSÃO DE ÉTICA
NO USO DE ANIMAIS DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UFPR, 2011.**

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

CERTIFICADO


Certificamos que o protocolo no. 029/2011, referente ao projeto “ Eficacia de implantes biodegradáveis para o tratamento da uveíte recorrente equina ”, sob a responsabilidade de Flávia Biondi, na forma que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 23 de setembro de 2011.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 029/2011, regarding the project “Effectiveness of biodegradable implants for the treatment of equine recurrent uveitis”, in charge of Flávia Biondi, 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 Paraná, Southern Brazil) during session on September 2011.

Curitiba, 23 de setembro de 2011.


Geraldo Camilo Alberton
Presidente


Patrick Schmidt
Vice-Presidente

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

ANEXO II**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROJETO 2 PELA COMISSÃO DE ÉTICA
NO USO DE ANIMAIS DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UFPR, 2012.**

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

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 010/2012, referente ao projeto “Termografia ocular em cães com olhos com valores normais para o teste lacrimal de schirmer e com ceratoconjuntivite seca”, sob a responsabilidade de Flávia Biondi, na forma em que foi apresentado (uso de 30 animais), foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 17 de julho de 2012, sendo obrigatória a utilização de termo de consentimento assinado pelo proprietário dos animais.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 010/2012, regarding the project “Infrared thermography in dogs with normal schirmer tear tests and keratoconjunctivitis sicca”, in charge of Flávia Biondi, in the terms it was presented (use of 30 animals), 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 Paraná, Southern Brazil) during session on July 17 2012. The Committee strongly recommends the signature of a consent term by the dog’s owners.

Curitiba, 17 de julho de 2012.

Patrick Schmidt
Presidente

Rosangela Locatelli Dittich
Vice-Presidente

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

ANEXO III

INÍCIO DO ARTIGO INTITULADO “IMPLANTES POLIMÉRICOS INTRAOCULARES DE FÁRMACOS NA MEDICINA VETERINÁRIA – REVISÃO DE LITERATURA E RELATO DE UM CASO” PUBLICADO NA REVISTA PUBVET, 2012.

BIONDI, F. et al. Implantes poliméricos intraoculares de fármacos na medicina veterinária, revisão de literatura e relato de um caso. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 23, Ed. 210, Art. 1399, 2012.



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Implantes poliméricos intraoculares de fármacos na medicina veterinária – revisão de literatura e relato de um caso

Flávia Biondi¹, Fabiano Montiani-Ferreira², Gustavo de Oliveira Fulgêncio³, Karen Medina Teixeira⁴, Peterson Triches Dornbush⁵, Armando da Silva Cunha Junior⁶

¹Médica Veterinária, mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná. Rua dos Funcionários, 1540, CEP 80 035-050 - Cabral - Curitiba - Paraná - Brasil. Email: flabiondi@hotmail.com

²Médico Veterinário, Professor Adjunto IV de Clínica Médica de Pequenos Animais e Oftalmologia Veterinária da Universidade Federal do Paraná.

³Médico Veterinário, doutorando da Universidade Federal de Minas Gerais.

⁴Médica Veterinária, residente de Oftalmologia Veterinária da Universidade Federal do Paraná.

⁵Médico Veterinário, Professor Adjunto de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais e Clínica Cirúrgica de Grandes Animais da Universidade Federal do Paraná.

⁶Farmacêutico, Professor associado de farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais.

Resumo

Doenças do segmento posterior do bulbo do olho são responsáveis pela maioria dos casos de cegueira irreversível no mundo inteiro e, até o momento,

ANEXO IV

CÓPIA DO EMAIL ACUSANDO O RECEBIMENTO DO ARTIGO INTITULADO "INFRARED OCULAR THERMOGRAPHY IN DOGS WITH AND WITHOUT KERATOCONJUNCTIVITIS SICCA", SUBMETIDO PARA AVALIAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA VETERINARY OPHTHALMOLOGY, 2012.

11-Oct-2012

Dear Prof. Montiani-Ferreira:

Your manuscript entitled "INFRARED OCULAR THERMOGRAPHY IN DOGS WITH AND WITHOUT KERATOCONJUNCTIVITIS SICCA" by Biondi, Flávia; Dornbusch, Peterson; Sampaio, Manuella; Montiani-Ferreira, Fabiano, has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in **Veterinary Ophthalmology**.

Co-authors: Please contact the Editorial Office as soon as possible if you disagree with being listed as a co-author for this manuscript.

Your manuscript ID is VOP-12-10-0894.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to Manuscript Central at <http://mc.manuscriptcentral.com/vop> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <http://mc.manuscriptcentral.com/vop>.

Thank you for submitting your manuscript to **the Veterinary Ophthalmology**.

Sincerely,
Veterinary Ophthalmology Editorial Office

VITA

Atualmente é mestranda do curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Paraná - UFPR, na área de Oftalmologia Veterinária. Em 2011 concluiu 2 anos de residência em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais de Companhia pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR. Em 2009 concluiu Especialização Latu Sensu na área de Clínica Médica de Pequenos Animais pelo instituto EQUALIS - Ensino e Qualificação Superior. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Paraná (2007). Tem experiência e interesse nas áreas de Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais, com ênfase em Oftalmologia Veterinária.