

ELAINE BAPTISTA BARBOSA

**AVALIAÇÃO OFTALMOLÓGICA E LABORATORIAL DE COELHOS
HÍGIDOS TRATADOS COM OS COLÍRIOS DORZOLAMIDA A 2% E
LATANOPROST A 0,005%**

Dissertação apresentada a Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre
em Medicina Veterinária

Área: Clínica e Cirurgia Veterinárias

Orientadora: Profa. Dra. Marília Martins Melo

Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
2007

B238a Barbosa, Elaine Baptista, 1978-

Avaliação oftalmológica e laboratorial de coelhos hígidos tratados com os colírios Dorzolamida a 2% e Latanoprost a 0,005% / Elaine Baptista Barbosa. – 2007.
60 p. : il.

Orientador: Marília Martins Melo

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

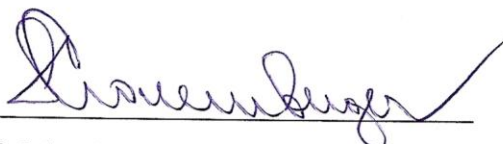
1. Coelho – Doenças – Tratamento – Teses. 2. Olhos – Efeitos de drogas – Teses.
3. Pressão intra-ocular – Teses. 4. Glaucoma – Teses. I. Melo, Marília Martins.
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.089 77

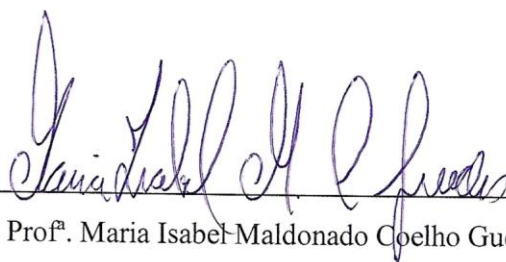
Dissertação defendida e aprovada em 03 de abril de 2007, pela Comissão Examinadora constituída por:



Prof.^ª. Marília Martins Melo
(Orientador)



Prof. Sebastião Cronemberger Sobrinho



Prof.^ª. Maria Isabel Maldonado Coelho Guedes



Prof.^ª. Roselene Ecco

“Mãe... São três letras apenas

*As desse nome bendito:
Também o Céu tem três letras...
E nelas cabe o infinito.*

*Para louvar nossa mãe,
Todo o bem que se disse
Nunca há de ser tão grande
Como o bem que ela nos quer...*

*Palavra tão pequenina,
Bem sabem os lábios meus
Que és do tamanho do Céu
E apenas menor que Deus!”*

(Mário Quintana)

***Dedico esta dissertação a Minha
Mãe, Ana Maria, sólido alicerce
de fé e esperança. Fonte eterna
de segurança e amor.***

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me conduzido e protegido durante toda esta trajetória.

A minha Mãe, Ana Maria, pelo amor incondicional. Por acreditar e confiar sempre. Minha fonte de força, coragem e energia. O maior presente que recebi de Deus. Muito obrigada, por me dar à honra de poder te chamar de MÃE. Minha eterna e melhor amiga. A quem tudo dedico, hoje e sempre!

Ao meu Pai, Manoel, por estar sempre presente na minha vida, dando amor e apoios necessários e compreendendo minha ausência. Todo o meu amor, carinho e saudade.

Ao Paulo, pelo amor, companheirismo, paciência e compreensão. Por ser meu porto seguro, estando ao meu lado em todos os momentos importantes e difíceis. A você dedico muito mais que esta dissertação, dedico todo o meu amor, todo o meu melhor. Sem você nada seria possível! Muito obrigada!

As minhas irmãs, Lauda e Lorena, e aos meus cunhados Bruno e Francisco, pelo amor, confiança, incentivo e por estarem sempre ao meu lado. Peço desculpas pelos momentos importantes que não foram vivenciados juntos devido à distância.

Ao Gabriel, meu sobrinho, que por ser tão pequenino e perfeito representa para mim, a esperança de um mundo melhor e mais justo. O primeiro “homem” da família de mulheres incríveis.

Ao amigo Roberto Lins e Mello, exemplo de perseverança, correção, dignidade e bom humor. Muito obrigada por cuidar tão bem do meu bem mais precioso.

A minha Tia Lilian, meu maior exemplo de superação e força. A representação mais bela e doce do que é ser uma mulher guerreira.

A Abimael, de quem continuo sendo fã incondicional, por todo o carinho. Por ter sempre confiado no meu potencial e me incentivado a dar novos passos.

A Tia Cecília, Tio Aureliano, Juliana, Diego e Luana, por todos os momentos especiais que passamos juntos. Por nunca terem saído dos meus pensamentos. Sem o estímulo de vocês não teria conseguido chegar até aqui.

Ao meu avô, Hélio, por ter repartido seus conhecimentos comigo e por nunca me deixar esquecer que “livros são cegos que vêem, surdos que escutam, mudos que falam, mortos sempre vivos...”.

A Professora Marília Martins Melo, orientadora, pelos conhecimentos transmitidos e dedicação. Por ter aceitado este desafio.

Ao Prof. Sebastião Cronemberger, pelo auxílio na pesquisa e generosidade em ceder parte do seu tempo e muito de sua sabedoria à execução deste trabalho.

A Rose, pela colaboração e incentivo. Um grande exemplo de profissional e competência. Mas, acima de tudo um exemplo de amizade.

A minha irmãzinha (gêmea) adotiva, Joseane Silveira, pela cumplicidade, amizade, apoio e conforto durante momentos de adversidade. Um exemplo admirável de dedicação e inteligência. Quando crescer vou querer ser igualzinha a ela!

A equipe do laboratório de toxicologia, Fernando, Mariana, Márcia, Durval e Eduardo, pelo auxílio, apoio e amizade. Sentirei saudade de todos.

Ao meu querido amigo Gustavo, pela confiança e carinhosa atenção. Por todos os momentos difíceis superados e por ter me ensinado que a distância deve ser medida com o coração. Por isto, estamos sempre tão perto.

A minha família mineira, Dona Hedyr, Dona Ângela, Sr. Paulo, Paula e Maria Christina pela convivência, apoio e extrema ternura.

Aos amigos Sabará e Fabiene, pela amizade, incentivo e pelos inúmeros momentos de descontração.

Ao amigo Roberto Mauro, pelo exemplo de força, alegria e integridade. Uma das pessoas mais admiráveis e inteligentes que conheço. Muito obrigada pelos “testemunhos”, pelo apoio e pela compreensão.

Aos amigos, Karine, Pollyanna, Evelyne, Sabrina, Gissandra, Ana Cristina e Arildo por terem me ajudado a crescer e ser mais paciente e tolerante. Minha eterna saudade de bons momentos vividos juntos. Nunca esquecerei vocês!

Aos funcionários da UFMG, em especial, Fabinho e Eden. Pela convivência tranqüila, horas de descontração, por serem são-paulinos de coração. Muito obrigada pelo incentivo.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado.

Aos meus bebês, Luppy, Sol, Vida, Maradona, Lili e Skizer. Por terem tornado minha vida mais alegre e divertida.

Aos coelhos que participaram do experimento. Muito obrigada pela colaboração durante todo este período e por tornarem a execução deste trabalho possível.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa.
MUITO OBRIDADA!

SUMÁRIO

RESUMO	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. Anatomofisiologia e histologia funcional do bulbo ocular	15
2.1.1. Superfície ocular e esclera	16
2.1.2. Filme lacrimal	18
2.1.3. Úvea	18
2.1.4. Retina	19
2.2. Humor aquoso e pressão intra-ocular	21
2.3. Fisiopatologia do glaucoma	22
2.4. Classificação do glaucoma	23
2.5. Sinais clínicos	24
2.6. Diagnóstico	25
2.6.1. Tonometria	25
2.6.2. Gonioscopia	26
2.6.3. Oftalmoscopia	26
2.7. Tratamento	26
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1. Animais	29
3.2. Tratamentos	30
3.3. Exames oftalmológicos	30
3.3.1. Protocolo de avaliação clínica oftalmológica	30
3.3.2. Teste lacrimal de Schirmer	31
3.3.3. Teste da fluoresceína	31
3.3.4. Espessura corneana central	32
3.4. Exames laboratoriais	32
3.4.1. Colheitas	32
3.4.2. Técnicas para realização dos exames complementares	32
3.5. Exame histopatológico	33
3.6. Análise estatística	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. Avaliação oftalmológica	34
4.1.1. Avaliação clínico oftalmológica	34
4.1.2. Teste lacrimal de Schirmer	41
4.1.3. Teste da fluoresceína	42
4.1.4. Espessura da córnea	42
4.1.5. Avaliação histopatológica	43
4.2. Avaliação sistêmica	46
5. CONCLUSÕES	52

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
--	-----------

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema anatômico do bulbo ocular (Fonte: Histologia veterinária).	16
Figura 2 – Diagrama esquemático da retina (Fonte: Wheather histologia funcional).	20
Figura 3 – Realização da paquimetria ultra-sônica, demonstrando o toque da sonda na córnea de um coelho.	32
Figura 4 – Apresentação das médias dos escores de secreção ocular observados em olhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle). Cada valor expressa a média de 120 observações, ou seja, um tempo de cada grupo.	35
Figura 5 – Apresentação das médias dos escores das conjuntivas e pálpebras observados em olhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle). Cada valor expressa a média de 120 observações, ou seja, um tempo de cada grupo.	35
Figura 6 – Fotos pertencentes a um olho do Grupo Controle com 100 dias de tratamento. a – olho normal, sem presença de secreção e/ou outra alteração; b – conjuntivas palpebrais e bulbar normais; c – terceira pálpebra normal.	36
Figura 7 – Fotos pertencentes a um olho do Grupo tratado com dorzolamida a 2% (Grupo II) com 100 dias de tratamento. a – olho com presença de secreção em grau moderado; b – conjuntivas palpebrais e bulbar com hiperemia moderada e edema discreto; c – terceira pálpebra com hiperemia leve, hiperemia em grau moderado das conjuntivas e edema conjuntival discreto.	36
Figura 8 – Apresentação das médias do Teste lacrimal de Schirmer (mm) em olhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle). Cada valor expressa a média de 12 observações (um tempo de cada grupo).	41
Figura 9 – Fotomicrografia da região central da córnea de um coelho do Grupo Controle, demonstrando as camadas bem definidas e o epitélio íntegro sobre o estroma (Hematosilina e Eosina, 200x).	44
Figura 10 – Fotomicrografia dos ductos das glândulas tarsais de um coelho do Grupo tratado com o antiglaucomatoso dorzolamida a 2%. Ductos grandemente distendidos, com presença de material amorfo basofílico. Compressão acinar das glândulas adjacentes (Hematosilina e Eosina, 100x).	45
Figura 11 – Fotomicrografia da retina de um coelho do Grupo Controle. Estrutura normal (Hematosilina e Eosina, 200x).	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Protocolo terapêutico adotado no experimento.	30
Tabela 2 – Olhos tratados com o água ultra pura, que apresentaram alterações, baseadas e classificadas de acordo com o protocolo de avaliação clínica oftalmológica, nos tempos de 1 a 12. Cada tempo (intervalo de 10 dias) expressa 120 observações.	38
Tabela 3 – Olhos tratados com o antiglaucomatoso latanoprost 0,005%, que apresentaram alterações, baseadas e classificadas de acordo com o protocolo de avaliação clínica oftalmológica, nos tempos de 1 a 12. Cada tempo (intervalo de 10 dias) expressa 120 observações.	39
Tabela 4 – Olhos tratados com o antiglaucomatoso dorzolamida a 2%, que apresentaram alterações, baseadas e classificadas de acordo com o protocolo de avaliação clínica oftalmológica, nos tempos de 1 a 12. Cada tempo (intervalo de 10 dias) expressa 120 observações.	40
Tabela 5 – Médias e desvios padrão das ECC de olhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).	43
Tabela 6 - Médias e desvios padrão dos números de hemácias ($\mu\text{l} \times 10^6$) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).	47
Tabela 7 - Médias e desvios padrão dos valores de hemoglobina (g/dl) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).	48
Tabela 8 – Médias e desvios padrão dos valores do hematócrito (%) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).	48
Tabela 9 – Médias dos valores totais de leucócitos de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).	49
Tabela 10 – Médias dos valores diferenciais de leucócitos de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).	50
Tabela 11 – Médias dos níveis séricos de uréia (mg/dl) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).	51
Tabela 12 – Médias dos níveis séricos de creatinina (mg/dl) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2%	

(Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle). 51

Tabela 13 - Médias dos níveis séricos de proteínas totais (mg/dl) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle). Cada valor expressa a média de seis repetições. 52

RESUMO

O glaucoma é uma neuropatia óptica progressiva geralmente associada ao aumento da pressão intra-ocular (PIO). É uma afecção de difícil conduta terapêutica e potencial causador de cegueira. A dorzolamida a 2% e o latanoprost a 0,005% são antiglaucomatosos tópicos que causam significativa redução da PIO em várias espécies animais, por mecanismos diferentes. Decidiu-se avaliar os efeitos adversos locais e sistêmicos da dorzolamida a 2% e do latanoprost a 0,005% em coelhos hígidos tratados por 120 dias, tendo em vista que a incidência de efeitos adversos pode levar a descontinuidade e conseqüente insucesso do tratamento. Foram utilizados 18 coelhos, distribuídos em três grupos (n=6). Cada animal recebeu tratamento tópico nos dois olhos: GI (latanoprost a 0,005%, SID); GII (dorzolamida a 2%, TID) e GIII (água ultra-pura, TID). Avaliação oftalmológica foi realizada através de exame clínico diário, teste de Schirmer e fluoresceína a cada 10 dias, espessura corneana central (ECC), antes e após 120 dias de tratamento e avaliação histopatológica do olho e estruturas anexas ao final do experimento. Para avaliação sistêmica, a cada 10 dias, foi realizado hemograma completo, análises bioquímicas de uréia, creatinina e proteínas totais. Ao final dos 120 dias, foram verificadas alterações clínico-oftalmológicas nas pálpebras e conjuntivas e presença de secreção ocular em respectivamente, 13,75% e 9,1% dos olhos do GI, 60% e 16,32% dos olhos do GII e, 0,62% e 0,48% dos olhos do GIII. O teste lacrimal de Schirmer e a prova da fluoresceína não evidenciaram nenhuma alteração. Na ECC houve diferença estatística significativa apenas no GII, onde a ECC foi maior ao final do experimento. Histopatologicamente, a única alteração relevante foi à distensão dos ductos das glândulas tarsais, causando compressão acinar nas glândulas adjacentes, observada em um olho (8,33%) do GII. Todos os parâmetros sistêmicos avaliados permaneceram dentro do normal, não havendo diferenças estatísticas significativas em nenhum momento. Diante dos resultados, permitiu-se concluir que o tratamento com o latanoprost a 0,005% promoveu apenas alterações clínicas nas pálpebras e conjuntivas de coelhos hígidos e, que a dorzolamida a 2%, além de produzir alterações mais intensas nas conjuntivas e pálpebras, provocou aumento estatisticamente significativo da ECC após 120 dias de tratamento. A alteração das glândulas tarsais, evidenciada em um olho, foi de difícil correlação com o fármaco antiglaucomatoso testado.

Palavras-chave: coelho, efeitos adversos, antiglaucomatosos, dorzolamida, latanoprost

ABSTRACT

The glaucoma is a progressive optical neuropathy generally associated to the increase of the intraocular pressure (IOP). It is a disease of difficult therapeutic conduct and potential cause of blindness. The dorzolamide at 2% and the latanoprost at 0,005% are topical antiglaucoma drugs that cause significant reduction of the IOP in several animal species by different mechanisms. We decided to evaluate the local and systemic adverse effects of the dorzolamide at 2% and of the latanoprost at 0,005% in rabbits treated during 120 days, having in mind that the incidence of adverse effects can lead to discontinuity and consequent failure of the treatment. Eighteen rabbits were utilized, which were distributed in three groups (n=6). Each animal received topical treatment in both eyes: GI (latanoprost at 0,005%, SID); GII (dorzolamide at 2%, TID) and GIII (ultra-pure water, TID). Ophthalmological evaluation was carried out through daily clinical examination, Schirmer tear test and fluorescein stain every 10 days. Also, the central corneal thickness (CCT), before and after 120 days of treatment was measured as well as histopathologic evaluation of the eye and of annex structures in the end of the experiment. For systemic evaluation, every 10 days, was carried out complete blood count, biochemical analyses of the urea, creatinine and total proteins. At the end of the 120 days, of treatment were verified clinical-ophthalmological alterations in the eyelids and conjunctive and presence of eye secretion in respectively, 13,75% and 9,1% of the eyes of GI, 60% and 16,32% of the eyes of GII and, 0,62% and 0,48% of the eyes of GIII. The lacrimal Schirmer tear test and the fluorescein stain test did not show any alteration. The CCT test showed significant statistical difference only in the GII, where the CCT index was bigger in the end of the experiment. Histopathological analysis showed that the only prominent alteration was the distension of the tarsal glands' ducts, causing acinar compression in the adjacent glands, noticed in an eye (8,33%) of the GII. All of the systemic parameters evaluated remained inside the normal pattern, showing no significant statistical differences. When facing the results, one can conclude that the treatment with the latanoprost at 0,005% promoted clinical alterations limited to the eyelids and the conjunctive of rabbits. In the other hand the dorzolamide at 2%, produced more intense alterations in the conjunctives and eyelids, lead to statistical significant increase in the CCT after 120 days of treatment. The alteration of the tarsal glands, seen in only an eye of difficult to correlate with the antiglaucoma drugs.

Key words: Rabbit, adverse effects, antiglaucoma drugs, latanoprost, dorzolamide

1. INTRODUÇÃO

O glaucoma é uma neuropatia óptica progressiva multifatorial, que possui como principal fator de risco o aumento da pressão intra-ocular (PIO), sendo caracterizada pelo comprometimento do nervo óptico e perda progressiva das células ganglionares da retina (Schwartz, 2001; Borges, 2004).

Em animais, o glaucoma é mais frequentemente observado em cães (Wouk et al., 1999) e sua prevalência nesta população está em torno de 0,5% (Whitley, 1996), representando uma das causas mais comuns de cegueira em animais adultos (Stades et al., 1999).

O mercado farmacêutico oftalmológico mundial atinge cerca de 4,6 bilhões de dólares, sendo mais da metade deste valor relacionado com terapias crônicas, principalmente com o tratamento do glaucoma (Souza Filho et al., 2003).

Dentre as afecções oculares, o glaucoma reveste-se de singular importância, como afecção de difícil conduta terapêutica (Borges et al., 2006). Os tratamentos são paliativos, utilizados por longos períodos e visam reduzir ou manter a PIO em níveis de normalidade (Martins et al., 1999) com o intuito de diminuir a perda de células ganglionares retinianas, proteger o nervo óptico, preservar a função visual e diminuir a sensibilidade dolorosa (Calixto et al., 1995; Gelatt e Brooks, 1999).

O tratamento clínico do glaucoma canino recebe grande destaque, pois os procedimentos cirúrgicos apresentam somente 30 a 50% de sucesso na redução da PIO (Gelatt e Gelatt, 2001; Willis et al., 2002), não sendo efetivo por períodos prolongados (Gelatt, 1999).

Nos últimos anos, houve um aumento considerável do arsenal terapêutico para o tratamento tópico do glaucoma graças à

introdução de novas drogas hipotensoras (Norvack e Evans, 2001; Willis et al., 2002), incluindo os inibidores da anidrase carbônica e os análogos de prostaglandinas (Willis et al., 2002).

Os inibidores tópicos da anidrase carbônica reduzem a formação ativa de humor aquoso levando a diminuição da formação de íons bicarbonato com subsequente redução da PIO (Gelatt, 2003; Gray et al., 2003). São úteis no tratamento de todos os tipos de glaucoma, sendo usados tanto para terapias a curto quanto a longo prazo (Gelatt e Brooks, 1999) e causam significativa redução da PIO em cães (Gelatt e MacKay, 2001a; Cawrse et al., 2001), coelhos (Fanous et al., 1999), gatos (Gray et al., 2003; Rainbow e Dziezyc, 2003) e seres humanos (Ingram e Brubaker, 1999).

A dorzolamida a 2%, primeiro inibidor tópico da anidrase carbônica disponível para uso clínico, pertence à classe das sulfonamidas e apresenta um pico de ação duas horas após sua instilação, devendo ser ministrada a cada oito horas quando utilizada como droga única. Teve sua eficácia comprovada em cães quando administrada em regime de três instilações diárias, diminuindo a PIO em até 24,3%, três horas após sua instilação (Cawrse et al., 2001).

Os análogos de prostaglandinas tópicos são potentes agentes hipotensores oculares que agem, principalmente, aumentando o escoamento do humor aquoso através da via uveoescleral (Vanlandingham e Brubaker, 1998; Studer et al., 2000; Polo et al., 2001). São indicados no glaucoma primário de cães e devem ser utilizados com cautela em pacientes com glaucoma secundário (Willis et al., 2002). Provocam uma redução significativa da PIO em cães, gatos, coelhos, cavalos, macacos e seres humanos (Gelatt e MacKay, 2001b).

O Latanoprost a 0,005% é um análogo de prostaglandina tópico, que possui a capacidade de diminuir a PIO de cães em até 36%, com efeito máximo seis horas após sua administração (Studer et al., 2000). Por provocar uma redução drástica da PIO é indicado nos casos de glaucoma agudo com o intuito de restaurar rapidamente a visão destes pacientes (Abrams, 2001). É um fármaco altamente lipofílico que apresenta uma ótima penetração corneana, devendo ser ministrado uma única vez ao dia (Studer et al., 2000).

As medicações tópicas são a primeira opção de escolha para o tratamento de pacientes glaucomatosos (Yalvaç et al., 1995). A boa tolerabilidade destes fármacos é especialmente importante, tendo em vista que uma alta incidência de efeitos adversos pode levar a descontinuidade e conseqüente insucesso do tratamento (Borges, 2004).

Efeitos colaterais associados à utilização prolongada da dorzolamida a 2% e do latanoprost a 0,005% foram relatados especialmente na literatura humana. A intolerância a estes antiglaucomatosos tópicos pode determinar consideráveis alterações conjuntivais, corneanas (Yalvaç et al., 1995; Mietz et al., 2001) e do filme lacrimal, facilitando subsequentemente reações alérgicas locais (Herrerias et al., 1992). Efeitos sistêmicos também foram

descritos, mas suas associações com estes agentes tópicos são de difícil comprovação (Carlsen et al., 1999).

Na medicina veterinária, existem poucos estudos relacionados ao uso prolongado da dorzolamida a 2% e do latanoprost a 0,005%, não havendo nenhum relato, na literatura veterinária consultada, do estudo concomitante dos efeitos adversos locais e sistêmicos destes agentes. Desta forma, a realização deste trabalho teve como objetivo principal verificar e determinar se os fármacos estudados induzem alterações oftalmológicas e/ou sistêmicas em coelhos hígidos tratados por 120 dias.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Anatomofisiologia e histologia funcional do bulbo ocular animal

O órgão da visão é formado pelo bulbo ocular, nervo óptico e estruturas anexas, incluindo pálpebras, conjuntiva, aparelho lacrimal e músculos oculomotores (Carlton e McGavin, 1998).

O bulbo ocular (figura 1) é composto por três túnicas (camadas) básicas que circundam e encerram os componentes refratários ou dióptricos – o humor aquoso, o cristalino e o corpo vítreo (Banks, 1992).

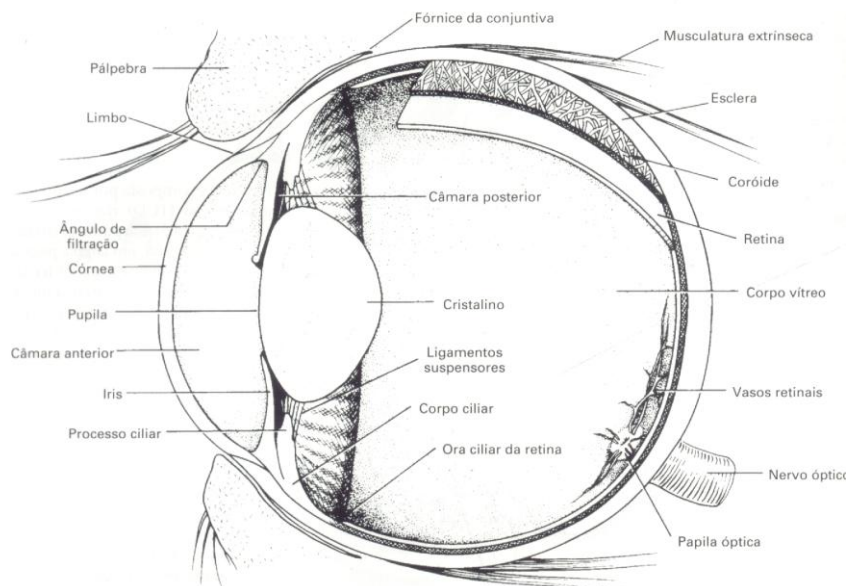


Figura 1 – Esquema anatômico do bulbo ocular (Fonte: Histologia veterinária).

A túnica fibrosa consiste em uma cápsula fibroelástica que sustenta o olho, formada pela córnea e pela esclera (Ecco, 2006). A túnica vascular, também chamada de úvea ou trato uveal, é composta pela íris, corpo ciliar e coróide. A camada mais interna, a túnica nervosa, é constituída por uma estrutura que recebe e traduz o estímulo luminoso, denominada retina (Coulter e Schmidt, 1996).

O bulbo ocular é dividido em compartimentos anterior e posterior pelo corpo ciliar e pelo cristalino, em conjunto com os seus ligamentos de sustentação (Moore, 1996). O compartimento anterior, banhado pelo humor aquoso, é dividido em uma câmara anterior (entre a córnea e a íris) e uma câmara posterior (entre a íris e o cristalino) que se comunicam através da pupila. O compartimento posterior é preenchido por uma substância de natureza gelatinosa denominada corpo vítreo (humor vítreo).

O humor aquoso, secretado pelo corpo ciliar na câmara posterior, circula através da pupila para a câmara anterior onde é drenado, principalmente pelo ângulo irido-

corneano (ângulo de filtração). O contínuo fluxo deste fluido fornece suprimento nutricional e remove metabólitos da córnea e do cristalino, uma vez que estas são estruturas avasculares (Gum et al. 1999). O corpo vítreo fornece um meio óptico não refrativo em relação ao cristalino e é responsável pela sustentação do cristalino e da retina na parte interna (Ecco, 2006).

2.1.1. Superfície ocular e esclera

A superfície anterior do bulbo ocular é revestida pelos epitélios da córnea, limbo e conjuntiva. Sua higidez é indispensável para a boa acuidade visual, constituindo uma efetiva barreira contra doenças oculares (Moore, 1996).

A conjuntiva é a membrana mucosa, abundantemente vascularizada que reveste as faces internas das pálpebras, ambas as superfícies da terceira pálpebra e a esclera anterior. Atua como barreira física e imunológica protetora (Moore, 1996) e é a membrana mais exposta do organismo, mantendo, portanto maior relação com o meio externo (Slatter, 2001).

A mucosa conjuntival é formada por um epitélio colunar estratificado que se caracteriza por ser descamativo ou esfoliativo e pela ausência de queratinização (Gomes et al., 2002). O epitélio conjuntival varia de espessura de acordo com a localização, tornando-se mais espesso à medida que se aproxima do fórnix (Pinho et al., 2002). É revestido por uma camada de muco produzido pelas células caliciformes da própria conjuntiva, que contribui para a formação do filme lacrimal ao servir de interface entre a lágrima aquosa e as membranas hidrofóbicas das células epiteliais corneanas (Moore, 1996).

A córnea é um disco transparente, circular e côncavo-convexo, responsável pela transmissão e refração da luz, que ocupa a porção rostral do bulbo do olho (Collins e Renda, 1996). Sua transparência e o seu alto poder de refração estão relacionados com características particulares, dentre as quais se destacam: a ausência de vasos sanguíneos e linfáticos, ausência de pigmentos, tamanho e disposição das fibras de colágeno, fibras nervosas amielínicas, epitélio não queratinizado e um estado relativo de desidratação, denominado estado de deturgescência, responsável pela manutenção do arranjo perfeito de suas camadas (Sampaio, 2004).

Histologicamente a córnea é composta por quatro camadas distintas: epitélio anterior (epitélio pavimentoso estratificado), estroma, membrana de Descemet (membrana limitante posterior) e epitélio posterior (epitélio pavimentoso simples – endotélio).

As células basais do epitélio anterior corneano estão firmemente aderidas por hemidesmossomos a uma membrana basal, composta principalmente por fibrilas de colágeno tipo IV, VI e VII, além de laminina, fibronectina e hialuronato (Amaral, 2005).

O estroma representa cerca de 90% da espessura total da córnea e é formado por fibrilas de colágeno, ceratócitos (fibroblastos) e fibras nervosas amielínicas. Sua matriz extracelular contém proteoglicanos e glicosaminoglicanos que são essenciais para a manutenção adequada da hidratação corneana (Schor e Belfort Jr, 1997; Amaral, 2005).

A membrana de Descemet é acelular e composta por fibrilas de colágenos dispostas de forma ordenada e caracteriza-se pela sua alta elasticidade e incapacidade de regeneração quando rompida (Sampaio, 2004).

Por sua vez, o epitélio posterior é formado por uma única camada de células intimamente conectadas umas as outras por meio de desmossomos e interdigitações (Gelatt, 1999; Sampaio, 2004). Este epitélio é contínuo com o plexo venoso através do qual o humor aquoso é drenado (Ecco, 2006), possui alta atividade metabólica e funciona como uma barreira entre a camada estromal, com características hidrofílicas, e o humor aquoso (Sampaio, 2004). Alguns autores consideram ainda o filme lacrimal como uma das camadas da córnea (Gelatt, 1999).

A esclera é composta por tecido colagenoso denso rico em fibras elásticas, sendo a responsável pela forma do bulbo ocular (Ecco, 2006). Próximo ao seu pólo posterior, encontra-se a área crivosa, que é uma modificação fenestrada da esclera que, permite a saída dos axônios do bulbo ocular. Estas fibras nervosas passam através desta área, considerada a mais fraca da esclera, como filamentos através de uma peneira (Banks, 1992). A lâmina crivosa da esclera é muito especializada e fornece nutrição e suporte mecânico aos axônios dos neurônios da camada ganglionar da retina (Ecco, 2006).

2.1.2. Filme lacrimal

O filme lacrimal recobre a superfície ocular e contribui para a manutenção da superfície opticamente regular da córnea, promovendo uma visão nítida e adequada (Coulter e Schmidt, 1996; Holzchuh et al., 2004). Exerce função importante na manutenção do grau de hidratação corneana e é responsável pela remoção de material estranho, condução de oxigênio, metabólitos, células inflamatórias e imunoglobulinas, além de possuir substâncias com propriedades antibacterianas inespecíficas como lisozima, β -lisina, lactoferrina, entre outras (Slatter, 2001; Sampaio, 2004).

O filme lacrimal é constituído por três camadas. A mais anterior é a camada lipídica, seguida da aquosa, que ocupa quase toda a espessura do filme e da camada de mucina, a qual está intimamente ligada aos epitélios corneano e conjuntival (Mattar e Kara-José, 1997; Moore, 1990; Slatter, 2001).

A camada lipídica é secretada pelas glândulas de Meibomius (tarsais) que provém uma delgada camada gordurosa capaz de retardar a evaporação e estabilizar o filme lacrimal sobre a córnea (Moore, 1990). A secreção é composta por colesterol, ésteres de colesterol e várias classes de lipídeos, especialmente hidrocarbonetos, ésteres céreos e triglicérides, além de ácidos graxos livres e fosfolipídeos (Mattar e Kara-José, 1997).

A camada aquosa ocupa quase toda a espessura do filme lacrimal e contém entre outras substâncias, oxigênio (maior fonte de oxigenação corneana), lisozima (papel bactericida) e imunoglobulinas (principalmente IgA, que impede a aderência de bactérias à superfície corneana). De acordo com Moore (1998), esta secreção é proveniente das glândulas lacrimais orbitais e da terceira pálpebra.

Nos cães, três a cinco ductos da glândula lacrimal orbital liberam sua secreção no fórnix da conjuntiva lateral dorsal, enquanto que a secreção da glândula lacrimal da terceira pálpebra é liberada em múltiplos pontos entre os folículos linfóides na face posterior da membrana nictitante (Moore, 1998; Moore e Collier, 1990).

A camada mucosa é produzida pelas células caliciformes da conjuntiva (Kaswan et al., 1997; Moore, 1990). É uma camada hidrofílica que adere à superfície ocular hidrofóbica, permitindo que a lágrima se distribua homoganeamente na superfície corneana. Ela mantém as imunoglobulinas (IgA) e lisozima sobre a superfície ocular, além de diminuir a tensão superficial da lágrima, aumentando a difusão e estabilidade do filme lacrimal. Também encobre as irregularidades da superfície ocular, propiciando uma córnea lisa (Moore e Collier, 1990).

2.1.3. Úvea

O trato uveal, altamente vascularizado e pigmentado consiste da úvea anterior (íris e corpo ciliar) e da úvea posterior ou coróide, localizada entre a esclera e a retina (Gelatt, 2003). A íris é formada por uma delicada rede de vasos sanguíneos, tecido conjuntivo, fibras musculares e nervos (Mazzanti et al., 1999). Suas margens livres definem a pupila que, é mais bem definida como sendo uma abertura (diafragma) ajustável que regula a quantidade de luz que alcança a retina (Banks, 1992; Ecco, 2006). Sua forma é conferida pela disposição das fibras musculares, que no coelho é circular (Mazzanti et al., 1999). A presença, ausência e distribuição da melanina determinam a coloração da íris, que em albinos apresenta coloração rósea devido à reflexão da luz pelos vasos sanguíneos da íris (Ecco, 2006).

O corpo ciliar é a continuação da coróide. Ele se estende rostralmente circundando o

cristalino como um anel espesso e contínuo (Junqueira e Carneiro, 2004). Histologicamente consiste de tecido colágeno e elástico, rede de capilares e músculo liso (músculo ciliar). Extensões do corpo ciliar, denominadas processos ciliares, são constituídas por um estroma conjuntivo e duas camadas de epitélio. Este epitélio é especializado na secreção de íons e água, originando assim o humor aquoso (Ecco, 2006).

O humor aquoso, formado nos processos ciliares do corpo ciliar na câmara posterior, deve ser continuamente produzido e ao mesmo tempo drenado, ou seja, está constantemente entrando e saindo do olho. Seu contínuo fluxo fornece suprimento nutricional e remove metabólitos da córnea e do cristalino, uma vez que estas são estruturas avasculares (Gum et al., 1999). O cristalino, normalmente avascular e transparente, promove a refração dos raios luminosos que entram no olho para um ponto da retina (Coulter e Schmidt, 1996).

No fundo do olho observa-se uma estrutura refletora brilhante de formato triangular, oval ou arredondada, que se estende dorsalmente. O *tapetum lucidum*, uma das camadas da coróide, é responsável pela pigmentação do fundo do olho (Stades et al, 1999). Funcionalmente aumenta a sensibilidade da retina à reflexão da luz negra através da camada de fotorreceptores para adaptar a visão do animal no escuro.

Seu tamanho, forma, cor e distribuição dependem da espécie animal estudada (Ecco, 2006).

Nos animais que não possuem *tapetum lucidum*, como é o caso do coelho, o fundo de olho reflete uma cor que varia de vermelho ou laranja a cinza pálido. Esta coloração vermelha ou laranja é resultante da reflexão dos vasos sanguíneos da coróide à luz (Ollivier et al., 2004).

2.1.4. Retina

A retina ou camada nervosa (Figura 2) é uma membrana altamente sensível e diferenciada, responsável pela tradução do estímulo luminoso e transmissão desses sinais na forma de impulsos nervosos para as regiões do cérebro (Banks, 1992). Sua parte interna está em contato com o corpo vítreo e a externa, adjacente ao epitélio pigmentado da retina.

Histologicamente, a retina é tradicionalmente dividida nas seguintes camadas: epitélio pigmentar, camada de células fotorreceptoras, membrana limitante externa, camada nuclear externa, camada plexiforme externa, camada nuclear interna, camada plexiforme interna, camada de células gálgionares, camadas de fibras do nervo óptico e membrana limitante interna (Banks, 1992, Carlton e McGavin, 1998).

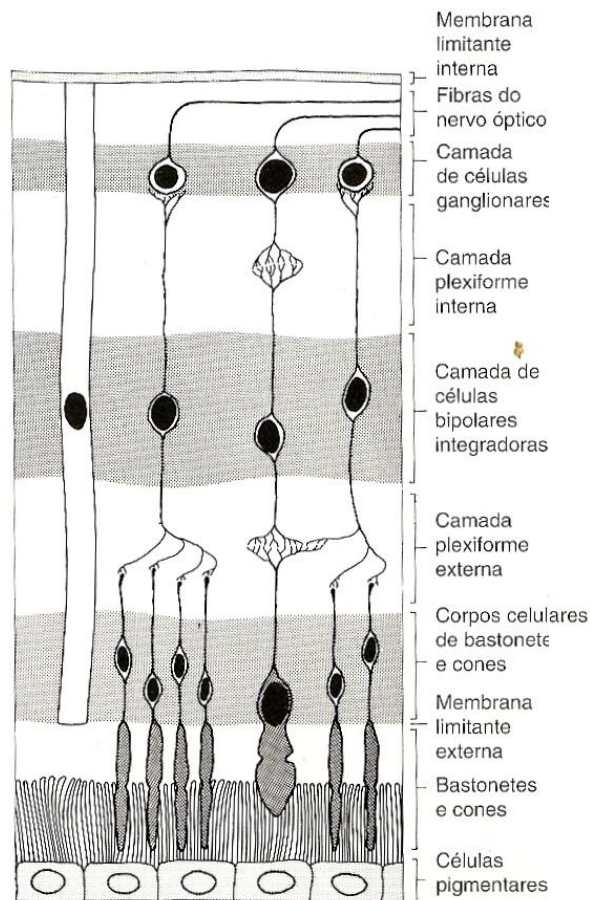


Figura 2 – Diagrama esquemático da retina (Fonte: Wheather histologia funcional).

O epitélio pigmentar, encontrado adjacente ao complexo basal da coróide é formado por uma fina camada de células cubóides com núcleo em posição basal. A camada seguinte é formada pelos processos das células fotorreceptoras (cones e bastonetes). Estas células neuroepiteliais modificadas são responsáveis por receber, traduzir e transmitir estímulo visual (Junqueira e Carneiro, 2004; Ecco, 2006).

Os complexos juncionais, entre os processos das células fotorreceptoras e as células de sustentação, formam uma camada eosinofílica e bastante delgada denominada membrana limitante externa (Ecco, 2006). A próxima estrutura, a camada nuclear externa, delimita a camada onde estão densamente acondicionados os núcleos dos cones e bastonetes (Junqueira e

Carneiro, 2004). Em seguida, tem-se a camada plexiforme externa formada pelas conexões sinápticas entre os axônios das células fotorreceptoras e neurônios bipolares (Burkit et al., 1993). Estes neurônios constituem a camada nuclear interna. Sequencialmente, encontra-se a camada plexiforme interna, onde os neurônios de integração (bipolares) fazem sinapses com dendritos dos neurônios cujos axônios formam o trato óptico, neurônios ganglionares (Burkit et al., 1993; Ecco, 2006). Os núcleos destes neurônios constituem a camada de células ganglionares cujos axônios formam a camada de fibras do nervo óptico e seguem em direção ao disco óptico para formar o nervo óptico. Finalmente, a membrana limitante interna, formada por expansões citoplasmáticas das células de sustentação,

separa a face mais interna da retina do corpo vítreo (Junqueira e Carneiro, 2004; Ecco, 2006).

2.2. Humor aquoso e pressão intra-ocular

A PIO, determinada pelo delicado equilíbrio entre a formação e a drenagem do humor aquoso, distende o bulbo ocular e é responsável pela sua forma característica e consistência firme das túnicas fibrosas (Tinsley e Betts, 1993; Gum et al., 1999; Slatter, 2001).

O humor aquoso é um ultrafiltrado do plasma, produzido pelo epitélio ciliar não pigmentado do corpo ciliar, mediante processos ativos, transporte seletivo contra um gradiente de concentração e passivos de difusão e ultrafiltração (Kural et al., 1995a; Kural et al., 1995b; Borges, 2004). A secreção ativa é o mecanismo mais importante, sendo responsável pela formação de aproximadamente 80% do humor aquoso (Tinsley e Betts, 1993; Gum et al., 1999). A enzima anidrase carbônica, presente no corpo ciliar, cataliza a hidratação reversível do dióxido de carbono. Os íons bicarbonato movem sódio e água secundariamente, formando o humor aquoso. A inibição da anidrase carbônica diminui a produção de bicarbonato e subsequentemente reduz a síntese do humor aquoso (Willis et al., 2002; Borges, 2004).

O humor aquoso é um fluido transparente que preenche a câmara posterior e chega à câmara anterior através da pupila onde será drenado (Gum et al., 1999). Seu aspecto incolor e sua baixa viscosidade são devidos, principalmente, à alta concentração de água (99,6%) e baixo teor protéico (Jegou, 1989). Além de manter a PIO, garantindo o formato do bulbo ocular, o contínuo fluxo do humor aquoso é responsável pelo transporte de nutrientes ao cristalino e à córnea por receber seus catabólitos (Gum et al., 1999).

A drenagem do humor aquoso ocorre principalmente no ângulo irido-corneano, que possui como limites a periferia da córnea, a esclera anterior, a íris e a porção anterior do corpo ciliar (Samuelson, 1991; Slatter, 2001; Borges, 2004). Do ângulo irido-corneano, o humor aquoso passa pelos ligamentos pectinados, penetra na fenda ciliar, que contém a malha trabecular (trabeculado), e ganha a luz dos vasos do plexo venoso escleral para retornar à circulação venosa sistêmica (Gionfriddo, 1995). Esta via, considerada convencional, é responsável por aproximadamente 85 a 90% da drenagem total do humor aquoso (Tinsley e Betts, 1993; Abrams, 2001; Wouk et al., 1999).

O restante do humor aquoso é drenado pelo trato úveo-escleral, que independe da PIO (Wouk et al., 1999), mas é afetada pelo estado do corpo ciliar e pelas diferentes pressões hidrostáticas entre a câmara anterior e o espaço supra-coroidal (Gum et al., 1999). Trata-se de uma via alternativa, responsável pela drenagem de aproximadamente 15 a 20% do humor aquoso em humanos (Giampani, 1999), 10 a 15% no cão (Gallo e Ranzanni, 2002; Borges, 2004), 13% em coelhos e 3% em gatos (Borges, 2004). Segundo Jegou (1989), existe ainda uma segunda via alternativa, conhecida como iridiana, através da qual o humor aquoso é drenado pelos capilares iridianos da superfície anterior da íris. Esta via é particularmente importante nos gatos, podendo ser responsável por até 40% da drenagem total do humor aquoso, explicando a baixa incidência de glaucoma nesta espécie (Gelatt, 1999).

Vários fatores podem influenciar a PIO, como idade do animal, alterações na pressão sanguínea, utilização de drogas tópicas e sistêmicas, contração dos músculos extra-oculares, inflamação intra-ocular e variações circadianas (Gionfriddo, 1995). Contudo, em condições normais a

PIO varia de 13 a 21 mmHg em cães, de 14 a 26 mmHg em gatos (Taliari et al., 2006) e de 15 a 25 mmHg em coelhos (Grisanti et al., 2005).

O aumento da PIO pode ocorrer por qualquer anormalidade que interfira na drenagem do humor aquoso, incluindo alterações desde a câmara posterior até o plexo venoso escleral (Gelatt e Brooks, 1999; Slatter, 2001), não havendo relatos de elevação da PIO por excessiva produção de humor aquoso (Tinsley e Betts, 1993).

2.3. Fisiopatologia do glaucoma

A fisiopatologia do glaucoma é muito complexa e ainda não está bem explicada. O mais aceito é que a PIO elevada é a responsável pelas lesões irreversíveis de disco óptico e células ganglionares retinianas (CGR), tendo como consequência a cegueira (Martins et al., 1999). Contudo, a PIO não é o único fator significativo para a síndrome glaucomatosa. O aumento da resistência vascular periférica ocular, a redução do fluxo sanguíneo ao nervo óptico, a ação de exitotoxinas e a depleção de neurotrofina para as CGR podem interferir, aumentando a predisposição do glaucoma ou mesmo desencadeando-o (Brubaker, 1997). Quaisquer que sejam os fatores envolvidos, a intervenção de um ou mais desses fatores desencadeia e agrava o glaucoma através de uma cascata de eventos.

O foco da lesão neuronal ocorre a partir da compressão mecânica da lâmina crivosa, devido ao aumento da PIO. Ocorre uma interrupção do fluxo axoplasmático posterior nos corpos celulares ganglionares da retina, causando isquemia dos axônios, seguida de atrofia (Slatter, 2001; Sánchez e Brooks, 1998). As CGR perdem a capacidade de desempenhar conexões simpáticas corticais e morrem por apoptose (Sánchez e Brooks, 1998). A morte celular apoptótica (morte celular geneticamente

programada) é causada pela perda do suporte neurotrófico (privação de neurotrofina) e por sua vez induzida por um fluxo axoplasmático retrógrado obstruído ao nível da lâmina crivosa da esclera (Sánchez e Brooks, 1998; Martins et al., 1999). Sánchez e Brooks (1998) afirmaram que alguns fatores evitam que a lâmina crivosa possa responder a elevação da PIO, dentre eles destacam-se: deposição aumentada de matriz extracelular, acúmulo de substâncias bioquímicas anormais e uma diminuição da capacidade de autoregulação dos capilares desta zona.

A isquemia retiniana e da cabeça do nervo óptico junto com a privação de neurotrofina, alteram a permeabilidade das CGR (Deyer, 1998). O aumento da permeabilidade da membrana das células ganglionares já lesadas permite a liberação de glutaminase intra-ocular e a conversão extra-celular de glutamato em glutamato. Adicionalmente, a isquemia causada pelo aumento da PIO leva à falha na função das células de Müller, que normalmente fazem a remoção do glutamato da fenda sináptica (Brooks et al., 1999a; Brooks et al., 1999b). Estas células, atingidas pelo estímulo agressor, liberam uma maciça quantidade de glutamato que atua como mediador no desencadeamento de apoptose (Deyer, 1998). As CGR lesadas liberam mais glutamato, que é um neurotransmissor excitatório, o qual predispõe a uma posterior degeneração secundária das CGR e axônios adjacentes que não foram anteriormente lesados. Estes eventos em dominó ocorrem de forma independente aos futuros danos provocados por novas elevações da PIO (Sánchez e Brooks, 1998).

O excesso de glutamato intravítreo também causa uma série de alterações e inclusive a liberação de radicais livres, promovendo a morte de fotorreceptores, de CGR e uma atrofia e degeneração progressiva do nervo óptico (Gelatt e Brooks, 1999). Estudos demonstram que este glutamato é um dos

principais responsáveis pela perda da visão do paciente glaucomatoso (Brooks et al., 1997; Franco-Bourland et al., 1998).

Um outro problema é a abertura dos canais de cálcio na membrana celular e um influxo desse íon para o interior da célula através da ligação do glutamato aos seus receptores de membrana celular. O cálcio, além de determinar um desequilíbrio iônico e elétrico transmembranar, atua também como um segundo mensageiro, ativando os mecanismos de cascata que culminam em degeneração e morte celular (Deyer, 1998).

Os efeitos degenerativos secundários sobre os axônios e as células ganglionares ocorrem e continuam independentes, mesmo após a normalização da PIO, devido ao meio ambiente hostil da retina e do nervo óptico, criado pelos neurônios retinianos degenerados e por corpos celulares que foram lesados logo que o primeiro aumento da PIO ocorreu (Sánchez e Brooks, 1998).

2.4. Classificação do glaucoma

A classificação correta do glaucoma é essencial para a determinação de uma adequada conduta terapêutica (Tinsley e Betts, 1993). De acordo com a sua etiologia, o glaucoma pode ser classificado em primário, secundário e congênito (Borges, 2004).

No glaucoma primário, a PIO eleva-se sem doença ocular associada, possui caráter hereditário em algumas raças caninas e tem potencial bilateral para o desenvolvimento (Martins et al., 2006). A elevação da PIO ocorre devido o impedimento da drenagem do humor aquoso pelo ângulo irido-corneano (Jegou, 1989).

Gonioscopicamente, o glaucoma primário é subdividido em primário de ângulo aberto e primário de ângulo estreito ou fechado. O glaucoma primário de ângulo aberto é

caracterizado pelo acúmulo de glicosaminoglicanos na zona trabecular (Gionfriddo, 1995), sendo a forma mais comum de glaucoma em humanos e a mais estudada, experimentalmente, em cães (Borges, 2004). Determinadas raças de cães apresentam maior predisposição para o desenvolvimento deste tipo de glaucoma, tais como Beagle, Poodle e Pinscher (Samuelson et al., 1989). O glaucoma primário do Beagle (hereditário e autossômico recessivo) é muito similar ao do humano (Borges, 2004).

No glaucoma primário de ângulo estreito ou fechado observa-se colapso da fenda esclero-ciliar associada ao estreitamento ou fechamento do ângulo irido-corneano (Gionfriddo, 1995). É a forma mais comum de glaucoma primário em cães, sendo observado com maior frequência nas raças Cocker Spaniel, Basset Hound, Chihuahua, Samoieda, São Bernardo e Schnauzer (Borges, 2004). O risco de desenvolvimento da doença é maior em cães de meia idade (entre cinco e 10 anos) e em fêmeas (Miller et al., 2000).

Nos glaucomas secundários, o aumento da PIO está associado à doença ocular pré-existente ou concomitante que causam obstrução física das vias de drenagem do humor aquoso, dificultando o seu fluxo (Tinsley e Betts, 1993; Gelatt e Brooks, 1999; Martins et al., 2006). As causas mais frequentes são as uveítes, os deslocamentos do cristalino e tumores intra-oculares (Tinsley e Betts, 1993; Slatter, 2001). Estas obstruções tendem a ser condições unilaterais e não são hereditárias (Gelatt e Brooks, 1999). Contudo, afecções oculares prévias, como a catarata e a luxação lenticular, podem apresentar predisposição genética em certas raças.

A conduta clínica adotada no glaucoma secundário é frequentemente mais bem definida que aquele para o primário, porque a causa da PIO elevada pode ser

normalmente determinada e o prognóstico para o desenvolvimento do glaucoma no olho não afetado ser evidente (Gelatt e Brooks, 1999).

Nos glaucomas congênitos, o aumento da PIO está usualmente associado a anormalidades do segmento anterior do bulbo ocular (goniodisgenesia). É uma condição presente já ao nascimento ou logo após e o tempo de surgimento da PIO elevada depende da extensão da anomalia do ângulo, sendo considerado o tipo de glaucoma mais difícil de ser tratado (Gelatt, 2003). A raça mais predisposta a esta condição é a Basset Hound, porém outras raças também exibem anormalidades no ângulo irido-corneano, como Chihuahua, Schnauzer, Cocker Spaniel e Samoieda. A afecção normalmente é bilateral, mas pode desenvolver-se precocemente em um dos olhos (Gelatt e Brooks, 1999).

2.5. Sinais clínicos

O reconhecimento dos sinais clínicos é o primeiro passo para se estabelecer o diagnóstico precoce do glaucoma e se obter êxito no tratamento (Tinsley e Betts, 1993).

A apresentação do olho glaucomatoso em animais pode variar consideravelmente, na dependência da atenção do proprietário, cronicidade da doença e magnitude da elevação da PIO (Martins, 1999). Na maioria das vezes, os primeiros sinais passam despercebidos pelos proprietários. Os sinais do glaucoma só são notados quando a PIO já se encontra muito elevada e as alterações são normalmente irreversíveis, o que dificulta o sucesso do tratamento (Gionfriddo, 1995).

As manifestações clínicas iniciais do glaucoma incluem edema de córnea, lacrimejamento, hiperemia ocular, midríase e blefaroespasma. Os sinais clínicos são variados, dependem do estágio e do tipo de

glaucoma e podem estar associados a outras doenças oftálmicas (Borges, 2004).

Os pacientes glaucomatosos apresentam constantemente congestão dos vasos episclerais e hiperemia conjuntival, muitas vezes diagnosticada, por clínicos veterinários, como sendo uma simples conjuntivite. A dor concomitante ao glaucoma é outro sinal importante e pode ser evidenciada por anorexia, depressão, blefaroespasma e mudanças de comportamento. O animal tende a esfregar os olhos contra o solo ou com as patas e ocasionalmente pode se tornar agressivo (Slatter, 2001).

As anormalidades corneanas são reflexos da elevação da PIO. No glaucoma agudo, ocorre disfunção do endotélio corneano e conseqüente edema difuso devido a perda do estado de deturgescência da córnea (Borges, 2004). No estágio crônico, rupturas da membrana de Descemet promovem estrias corneanas, observadas clinicamente como fissuras esbranquiçadas no estroma corneano, denominadas estrias de Haab's (Tinsley e Betts, 1993). Outras alterações observadas são: neovascularização, pigmentação estromal e ulcerações corneanas com perfuração ocular (Tinsley e Betts, 1993).

No glaucoma, as principais alterações evidenciadas no trato uveal incluem midríase não responsiva, atrofia do corpo ciliar e coróide. A midríase é causada por paralisia irídica, secundária à inibição do músculo constritor da pupila. Em alguns casos de glaucoma com bloqueio pupilar observa-se miose, porém esta condição não é freqüente (Slatter, 2001). No glaucoma secundário a uveíte, a formação de sinéquia posterior pode produzir bloqueio pupilar, com conseqüente acúmulo de fluido na câmara posterior e íris bombé (Borges, 2004).

A elevação da PIO em conjunto com alterações no suprimento sanguíneo do corpo ciliar, íris e coróide, podem determinar infarto, isquemia e eventual atrofia destas estruturas. A progressiva atrofia iridiana resulta no colapso do ângulo de drenagem, predispondo o desenvolvimento de sinéquia anterior. A isquemia e atrofia do corpo ciliar promovem a redução da produção do humor aquoso, podendo resultar em *phthisis bulbi* (Borges, 2004).

Alterações morfológicas e posicionais do cristalino podem ser observadas no olho glaucomatoso resultando na formação de catarata ou luxação e subluxação do cristalino, causadas pelo rompimento das zônulas lenticulares, em decorrência da expansão da esclera (Gelatt e Brooks, 1999). Muitas vezes, não é possível afirmar se o deslocamento do cristalino e a catarata são resultados ou causas do glaucoma (Slatter, 2001).

No glaucoma crônico, as alterações oftálmicas geralmente resultam na perda irreversível da visão. Sinais como buftalmia, estrias corneanas, sinerese (degeneração vítrea), hiperreflexia retiniana, atenuação dos vasos da retina e escavamento do nervo óptico podem ser observados (Tinsley e Betts, 1993; Slatter, 2001).

2.6. Diagnóstico

Na rotina da clínica veterinária de pequenos animais os métodos mais utilizados no diagnóstico e manejo clínico dos pacientes com glaucoma são a tonometria, a gonioscopia e a oftalmoscopia (Gelatt e Brooks, 1999; Martins et al., 1999; Slatter 2001; Gelatt, 2003).

2.6.1. Tonometria

Para a aferição da PIO, existe a tonometria digital, a tonometria de indentação e a tonometria de aplanção (Borges, 2004). Dentre os métodos tonométricos, destacam-se os que utilizam as técnicas de indentação e de aplanção, sendo este último o mais recomendado na oftalmologia veterinária.

A tonometria digital estima a PIO mediante a palpação do bulbo ocular através da pálpebra superior cerrada (Slatter, 2001). É um método pouco preciso uma vez que depende da experiência clínica do médico veterinário, da proeminência relativa do bulbo ocular e da cooperação do paciente. É uma técnica rudimentar, que detecta somente grandes variações da PIO, sendo ineficaz na monitoração do tratamento do glaucoma (Tinsley e Betts, 1993; Strubbe e Gelatt, 1999).

A tonometria de indentação, realizada com o tonómetro de Schiötz, estima a PIO determinando o quanto a córnea recua sob ação de determinado peso. É um método muito utilizado na prática veterinária por ser considerado eficiente e possuir baixo custo (Gionfriddo, 1995). Entretanto, a dificuldade de posicionamento da cabeça do animal (córnea posicionada paralela ao solo) e a cooperação do paciente conferem desvantagens ao procedimento (Slatter, 2001). Existem ainda vários fatores adicionais de erro que interferem nas medidas da PIO, tais como desvios na curvatura corneana (por exemplo, buftalmia), cicatrizes e irregularidades da córnea, edema corneano grave e pressão exercida nas veias jugulares durante a contenção do animal (Kural et al., 1995b).

A tonometria de aplanção estima a PIO através da mensuração da força requerida para aplanar uma área constante da superfície corneana (Strubbe e Gelatt, 1999). É o método mais confiável para mensurar a PIO (Gelatt, 2003). Os

tonômetros de aplanção são mais fáceis de serem utilizados e podem ser empregados com o animal em qualquer posição (estação ou sentado). No entanto, possuem alto custo e por isso normalmente só são encontrados em centros de referência (Tinsley e Betts, 1993). Apesar de existirem vários aparelhos para realização deste procedimento, o Tono-pen-XL (Mentor, Norwell, MA) é o mais indicado na rotina veterinária, por ser portátil, de fácil manuseio e apresentar menor custo quando comparado aos outros tonômetros de aplanção (modelo Pneumográfico e tonômetro Mackay-Marg) (Strubbe e Gelatt, 1999; Borges, 2004).

2.6.2. Gonioscopia

A gonioscopia é o exame diagnóstico que diferencia os tipos de glaucoma baseado na aparência do ângulo iridocorneano e morfologia da fenda ciliar em aberto, estreito ou fechado. Deve ser realizada em ambos os olhos e repetidamente, porque os achados do ângulo são dinâmicos e mudam conforme o glaucoma e o aumento do bulbo ocular (Gelatt, 2003). É importante na seleção de uma melhor terapia para o paciente, podendo indicar o tratamento profilático no olho não afetado (Gionfriddo, 1995; Gelatt e Brooks, 1999). Contudo, opacificações corneanas podem dificultar ou impedir a visualização da câmara anterior e conseqüentemente do ângulo iridocorneano (Strubbe e Gelatt, 1999).

2.6.3. Oftalmoscopia

Uma combinação de oftalmoscopia direta (maior magnificação) e indireta (maior campo de visão) é recomendada para o manejo clínico dos pacientes glaucomatosos (Gelatt, 2003). Devem ser realizadas em ambos os olhos, mesmo quando a doença for unilateral, sendo utilizada para observar o fundo do olho, em particular o disco óptico (Gelatt e Brooks, 1999). A cabeça do nervo óptico e a retina

devem ser cuidadosamente examinadas quando a PIO está elevada e após sua redução medicamentosa. Opacificações da córnea ou do cristalino e alterações dos meios oculares podem impedir a realização deste procedimento (Strubbe e Gelatt, 1999; Slatter, 2001).

2.7. Tratamento

Os tratamentos dos diferentes tipos de glaucoma têm como objetivos a prevenção da lesão ao nervo óptico e a preservação da função visual. A terapia antiglaucomatosa está basicamente direcionada à redução da PIO, tendo em vista que este é o único fator de risco que pode ser identificado e tratado (Borges, 2004). Com esta finalidade, vários métodos de tratamento médico e cirúrgico são utilizados individualmente ou combinados para cada paciente. A determinação da melhor conduta a ser utilizada depende da identificação do tipo e da causa exata do glaucoma, e da possibilidade do animal em preservar a visão (Gelatt e Brooks, 1999).

O tratamento inicial para reduzir a PIO é geralmente efetuado com monoterapia. Em decorrência do comportamento progressivo do glaucoma, fármacos com diferentes mecanismos de ação podem ser acrescentados ou substituídos na tentativa de obter um adequado controle da PIO (Strohmaier et al., 1998).

Os tratamentos medicamentosos de animais glaucomatosos merecem destaque, uma vez que os tratamentos cirúrgicos mais indicados requerem terapia médica no pós-operatório. Portanto, a abordagem inicial para o controle da PIO deve ser através do tratamento médico durante o maior período possível (Abrams, 2001).

Os procedimentos cirúrgicos utilizados no tratamento do glaucoma são indicados quando o controle clínico não for mais efetivo e a visão estiver comprometida

(Gelatt e Brooks, 1999). Possui como objetivos básicos a destruição do corpo ciliar, a formação de novas vias de drenagem que facilitam a eliminação de humor aquoso e a preservação de olhos comprovadamente afunccionais. Contudo, os tratamentos cirúrgicos não apresentam sucesso por períodos prolongados, reduzindo a PIO apenas durante alguns meses (Borges, 2004). As técnicas de gonioimplantes e a ciclotocoagulação a laser têm sido relatadas como as mais efetivas, mantendo a PIO em níveis normais e preservando a função visual por um período de dois a seis meses. Desta forma, a terapia médica continua a ser o componente mais importante do tratamento do glaucoma (Gelatt e Brooks, 1999).

Os fármacos indicados para o tratamento clínico do glaucoma objetivam diminuir a produção do humor aquoso ou aumentar sua drenagem (Miller e Rhaesa., 1996; Borges, 2004). Os principais fármacos utilizados são os agentes hiperosmóticos, mióticos, adrenérgicos (β -bloqueadores e α -agonistas), inibidores da anidrase carbônica e prostaglandinas tópicas.

Os agentes hiperosmóticos, manitol intravenoso e glicerina oral, são utilizados para redução imediata da PIO com o intuito de restaurar a visão em casos agudos de glaucoma (Slatter, 2001). Estes fármacos aumentam a osmolaridade sangüínea, deslocando a água do humor aquoso e da câmara vítrea para o espaço intravascular (Jegou, 1989; Gionfriddo, 1995; Regnier, 1999). Entretanto, não são recomendados para o tratamento de manutenção do glaucoma. Sua associação a outros fármacos deve ser instituída antes da redução dos seus efeitos (Abrams, 2001).

Os mióticos, como a pilocarpina e o carbachol, aumentam o escoamento do humor aquoso devido à contração do músculo ciliar e conseqüente abertura da fenda ciliar (Tinsley e Betts, 1993; Gelatt e

Brooks, 1999; Abrams, 2001) por mimetizarem a ação da acetilcolina na musculatura do corpo ciliar e do esfíncter iridal (Kural et al., 1995b).

Durante muito tempo, a pilocarpina foi a terapia mais rotineiramente prescrita no tratamento do glaucoma. Sua ação inicia-se aproximadamente 15 minutos após a instilação, possuindo máximo efeito em 1 a 2 horas, com duração de 6 a 8 horas (Kural et al., 1995b; Gelatt e Brooks, 1999). Está disponível comercialmente nas concentrações de 1, 2 e 4%. Porém, a solução a 4% mostra-se igualmente eficaz para reduzir a PIO que a formulação de menor concentração. A exemplo de outros mióticos, o uso da pilocarpina está frequentemente associado a reações adversas locais, como quemose e hiperemia conjuntival, e sistêmicas, como emese. Em cães, demonstrou efeito limitado em decorrência do pouco desenvolvimento do ligamento que promove a contração da musculatura ciliar (Shields, 1998).

Os antagonistas β -adrenérgicos tópicos, betaxolol e maleato de timolol, reduzem a PIO por diminuírem a produção de humor aquoso. Aparentemente estes fármacos agem nos receptores β -adrenérgicos do corpo ciliar, inibindo a síntese da enzima AMP cíclica que é parcialmente responsável pela formação de humor aquoso (Wilkie e Latimer, 1991; Tinsley e Betts, 1993; Gelatt e Brooks, 1999). São os agentes mais amplamente prescritos no tratamento do glaucoma humano. Porém, resultados inconstantes na queda da PIO de cães normais foram relatados, existindo, ainda hoje, diferentes opiniões sobre a eficácia destas drogas em pacientes glaucomatosos (Borges, 2004). Seu efeito local é bem tolerado, podendo ser observado uma redução da secreção lacrimal em humanos (Gómez, 1999). Efeitos cardiopulmonares foram descritos na literatura humana e animal, sendo mais

relevantes naqueles com menor massa corporal (Borges, 2004).

A utilização de β -bloqueadores tópicos em combinação com outros fármacos, como os α -agonistas, inibidores tópicos da anidrase carbônica e análogos de prostaglandinas, é considerada uma boa alternativa terapêutica para o tratamento do glaucoma (Willis et al., 2002).

Os agonistas tópicos estimulam os receptores α -adrenérgicos, diminuindo a produção de humor aquoso e facilitando a drenagem através da via úveo-escleral (Tinsley e Betts, 1993; Abrams, 2001). Nesta classe, os fármacos mais indicados são a apraclonidina e a brimonidina, que causam redução média da PIO entre 10 a 15%. Aumento do diâmetro pupilar também foi observado, entretanto o mecanismo pelo qual a midríase é induzida ainda é incerto (Willis et al., 2002). A utilização destes agentes deve ser preconizada como terapia coadjuvante a outros fármacos, tendo em vista sua baixa eficácia como único agente terapêutico (Miller e Rhaesa, 1996).

Os inibidores da anidrase carbônica (IAC) agem no epitélio pigmentar do corpo ciliar reduzindo a produção ativa de humor aquoso e conseqüentemente a PIO (Regnier, 1999). A utilização dos IAC orais começou durante os anos 50 com a acetazolamida (Borges, 2004), que foi amplamente empregada no tratamento antiglaucomatoso (Regnier, 1999). Porém, seu uso crônico foi associado a uma miríade de efeitos colaterais indesejáveis caracterizados por mal-estar, fadiga, sintomas gastrintestinais, como diarreia e emese, acidose metabólica, anorexia, parestesia e aumento da frequência respiratória (Tinsley e Betts, 1993; Gionfriddo, 1995; Regnier, 1999). A tolerância individual aos efeitos colaterais demonstrou ser bastante variável, podendo-se observar reações adversas mais sérias, como por exemplo, o aumento da

predisposição a formação de cálculos renais e a supressão da medula óssea, resultando em anemia aplásica (Wisch et al., 1973).

Para evitar esses efeitos adversos, foram realizadas inúmeras pesquisas, que culminaram com o desenvolvimento dos IAC tópicos. O primeiro IAC tópico a demonstrar eficácia na redução da PIO foi o MK-927 (Lippa et al., 1992). Este fármaco, porém, não foi disponibilizado comercialmente (King et al., 1991).

A dorzolamida a 2% foi introduzida na oftalmologia e rapidamente utilizada na terapia de pacientes caninos (Borges, 2004). Na medicina veterinária, sua utilização começou a ser mais freqüente em 2001, após sua eficácia ter sido comprovada em cães normotensos.

A administração da dorzolamida a 2% foi considerada um grande avanço na oftalmologia humana e veterinária. Este fármaco reduz comprovadamente a PIO sem a demonstração dos efeitos sistêmicos dos inibidores orais (Abrams, 2001). Contudo, o surgimento de nefrolitíase já foi relatado, mas sua associação com o uso crônico da dorzolamida a 2% é de difícil comprovação (Carlsen et al., 1999).

A tolerância local à utilização da dorzolamida a 2% em humanos é boa. Entretanto, efeitos colaterais como dor aguda, fotofobia, visão turva, sabor amargo, prurido ocular e sensação de corpo estranho foram comumente relatados após sua administração (Cawrse et al., 2001; Gray et al., 2003). Outros efeitos adversos incluem descarga ocular, hiperemia conjuntival, blefarite e ceratites, incluindo ceratoconjuntivite seca (Gray et al., 2003).

Em pacientes com glaucoma, olhos tratados com dorzolamida a 2% apresentaram maior espessura corneana (Herndon et al., 1997), diminuição da sensibilidade da córnea (Balfour e Wilde, 1997) e edema corneano

irreversível quando há comprometimento endotelial (Willis et al., 2002). Deve-se ressaltar ainda que o aparecimento de conjuntivites foi incriminado como a causa mais comum para a interrupção do tratamento (Balfour e Wilde, 1997).

Outras classes de antiglaucomatosos disponíveis no mercado farmacêutico são os análogos de prostaglandinas (PGF_{2α}) tópicos. Estes agentes, também conhecidos como prostaglandinas tópicas, apresentam significativa ação hipotensora (Studer et al., 2000). O principal PGF_{2α} tópico é o latanoprost a 0,005%, um agonista seletivo do receptor prostanóide, que reduz a PIO por aumentar o escoamento do humor aquoso pela via uveoescleral (Borges, 2004). Todavia, estudos sugerem que deva haver ainda uma ação na via convencional de drenagem (Studer et al., 2000).

Em seres humanos efeitos adversos como hiperemia conjuntival, sensação de corpo estranho, ceratite punctata e uveíte anterior em olhos com história prévia de uveíte ou cirurgia ocular foram relatados (Callanan et al., 1998). Clinicamente os principais efeitos colaterais observados em cães foram hiperemia conjuntival e irritação ocular. Em cavalos observou-se hiperemia conjuntival, epífora, blefaroespasmo e blefaroedema nos olhos tratados (Diele et al., 2006). Nos pacientes com histórico de ceratite herpética, o uso do latanoprost pode aumentar a severidade e o risco de recorrência da infecção (Willis et al., 2002).

Efeitos colaterais locais provocados pelo uso crônico do latanoprost a 0,005% compreendem mudança de coloração da íris e aumento do número e alongamento dos cílios (Willis et al., 2002). Relata-se ainda, edema macular, sendo prudente a realização periódica do exame de fundo de olho e a monitorização na acuidade visual do paciente durante o tratamento (Callanan et al., 1998).

Os efeitos adversos da terapia antiglaucomatosa são especialmente importantes em decorrência do caráter crônico do glaucoma, que geralmente necessita de tratamento vitalício para prevenir maiores danos ao nervo óptico. Uma alta incidência de efeitos colaterais pode levar à descontinuidade dos medicamentos, prejudicando o prognóstico da neuropatia.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados 18 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça Nova Zelândia, machos, saudáveis, com peso corporal médio de 3,5 kg e aproximadamente oito meses de idade, oriundos do setor de cunicultura da Fazenda Experimental da Escola de Veterinária da UFMG.

Os animais foram identificados aleatoriamente, numerados de 1 a 18, na face interna da orelha, com caneta hidrográfica atóxica e posteriormente alojados no biotério do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias da UFMG, sendo mantidos individualmente em gaiolas apropriadas.

Previamente ao início do experimento, os animais foram avaliados clínica e laboratorialmente para exclusão de alterações sistêmicas ou oculares que pudessem interferir com as análises propostas, estabelecendo-se neste momento os valores normais de referência (Tempo Zero – T₀).

Após exclusão de doença prévia ou vigente, os coelhos foram distribuídos, por meio de sorteio, em três grupos experimentais (GI, GII e GIII), contendo seis animais cada um, ou seja, 12 olhos. Em seguida, foram novamente identificados com o intuito de facilitar a interpretação dos resultados e a realização dos tratamentos, sendo o grupo

GI formado pelos animais numerados de um a seis; o grupo GII de sete a 12 e o grupo GIII de 13 a 18.

O manejo alimentar foi constituído por ração comercial peletizada contendo 17% de matéria fibrosa e 13% de proteína bruta e água *ad libitum*. Na rotina diária do manejo dos animais também estavam inclusos a limpeza do local com água e a

higienização das gaiolas e bebedouros automáticos no período da manhã.

3.2. Tratamentos

O experimento animal teve duração de 120 dias e o protocolo terapêutico adotado foi instituído de acordo com o descrito na literatura, conforme o esquema seguinte:

Tabela 1 – Protocolo terapêutico adotado no experimento

Grupo	Tratamento	Posologia	Período
I	Latanoprost a 0,005% ¹	1 gota por olho a cada 24 horas (22:00h) (Cawrse <i>et al.</i> , 2001)	120 dias
II	Dorzolamida a 2% ²	1 gota por olho a cada 8 horas (06:00, 14:00 e 22:00h) (Studer <i>et al.</i> , 2000)	120 dias
III	Água ultra pura	1 gota por olho a cada 8 horas (06:00, 14:00 e 22:00h)	120 dias

¹Xalatan® - Laboratórios Pfizer Ltda.

²Ocupress® - União química farmacêutica nacional S/A

A posologia adotada no grupo GIII seguiu a que possuía o maior número de instilações na tentativa de expor os animais a condição mais adversa e assim, realizar a comparação dos resultados de maneira mais coerente.

3.3. Exames oftalmológicos

Exame oftalmológico para verificar a integridade da pálpebra, das conjuntivas e da córnea foi realizado diariamente em todos os animais. Para tal, foram utilizadas fonte de luz (lanterna), lupa e oftalmoscópio direto com feixe de luz em fenda e filtro azul.

A conjuntiva e a pálpebra foram avaliadas principalmente quanto à presença de secreção, hiperemia, quemose, blefaroespasma, epífora e prurido. A superfície corneana foi avaliada com relação à ausência ou presença de opacidade e os graus de ceratite puntiforme.

3.3.1. Protocolo de avaliação clínica oftalmológica

Para a completa interpretação dos resultados do exame clínico oftalmológico diário, foram adotados critérios, que correlacionavam as alterações observadas com números, de acordo com a gravidade de cada caso. Desta forma, foram estabelecidos os seguintes protocolos:

a. Conjuntivas e pálpebras

- (0) Ausência de alteração
- (1) Grau leve: hiperemia conjuntival discreta
- (2) Grau moderado: hiperemia conjuntival moderada e discreto edema palpebral
- (3) Grau acentuado: hiperemia conjuntival de moderada a intensa e moderado edema palpebral

b. Córnea

- (0) Ausência de alteração
- (1) Grau leve: opacidade corneana focal e discreta ou ceratite puntiforme, envolvendo menos de um quadrante da córnea
- (2) Grau moderado: opacidade corneana moderada, sem visualização detalhada da íris, ou ceratite puntiforme envolvendo até dois quadrantes da córnea
- (3) Grau acentuado: opacidade corneana de moderada a acentuada ou ceratite puntiforme envolvendo mais de dois quadrantes da córnea

c. Secreção ocular

- (0) Ausência de alteração
- (1) Grau leve: pequena quantidade de secreção serosa presente no fundo do saco conjuntival ou nas margens palpebrais
- (2) Grau moderado: moderada quantidade de secreção, variando de serosa a seromucosa, observada nas conjuntivas, nas margens palpebrais e canto medial do olho
- (3) Grau acentuado: grande quantidade de secreção, variando de seromucosa a mucosa, observada nas conjuntivas, nas margens palpebrais e canto medial do olho e na superfície ocular

Para a interpretação estatística dos resultados, intervalos de 10 dias foram estabelecidos, fazendo com que ao final dos 120 dias de experimento, houvessem 13

tempos de comparação, incluindo o tempo zero.

Avaliações oftalmológicas mais detalhadas foram realizadas a cada dez dias, em ambos os olhos, através do teste lacrimal de Schirmer e do teste da fluoresceína.

Outra análise efetuada foi a mensuração da espessura corneana central, que ocorreu em dois períodos distintos: anteriormente ao início dos tratamentos e ao final do experimento, após 120 dias de tratamento.

3.3.2. Teste lacrimal de Schirmer

A avaliação quantitativa do filme lacrimal através do teste lacrimal de Schirmer (TLS) foi realizada anteriormente a qualquer outro procedimento clínico com o intuito de evitar interferências na obtenção dos resultados.

As tiras do TLS foram confeccionadas com papel de filtro Whatman nº. 41 e mediam 5 mm de largura e 50 mm de comprimento. Uma das extremidades da tira foi arredondada e a 5 mm desta, fez-se uma pequena chanfradura. A tira foi dobrada cuidadosamente no local da chanfradura e a extremidade mais curta colocada no terço lateral do saco conjuntival inferior, com cuidado para que não houvesse toque na córnea. Após 60 segundos, a tira foi removida e a quantidade de umidade imediatamente registrada em milímetros.

3.3.3. Teste da fluoresceína

O teste da fluoresceína foi utilizado para verificar a presença de lesões corneanas. Tiras impregnadas com fluoresceína foram colocadas em contato com a conjuntiva bulbar dorsal. Após a retirada do excesso de corante com solução salina, a córnea foi avaliada, em ambiente escuro, com o auxílio de oftalmoscópio direto, utilizando-se filtro azul.

3.3.4. Espessura corneana central

A espessura corneana central (ECC) foi mensurada no início e ao final dos 120 dias de experimento utilizando-se paquímetro ultra sônico³ (Almeida Junior e Faria e Souza, 2006), no serviço de Glaucoma do

Hospital São Geraldo, Hospital das Clínicas da UFMG. A aferição da ECC (Figura 3) foi realizada por um mesmo examinador através de três medidas, obtendo-se como resultado o menor valor entre elas.



Figura 3 – Realização da paquimetria ultra-sônica, demonstrando o toque da sonda na córnea de um coelho.

3.4. Exames laboratoriais

Os valores de referência dos exames laboratoriais foram estabelecidos no Tempo Zero com o intuito de minimizar possíveis alterações causadas por diferentes condições de criação e manejo as quais os animais foram submetidos.

3.4.1. Colheitas

As colheitas de sangue foram realizadas com intervalo de dez dias. O sangue foi coletado na veia marginal da orelha (Harkness & Wagner, 1993; Malley, 1996) em tubos com anticoagulantes (EDTA 10% e Fluoreto de Sódio) e sem anticoagulante. Em seguida, as amostras foram encaminhadas e processadas no Laboratório de Patologia Clínica e no Laboratório de Toxicologia do Departamento de Clínica e Cirurgia da Escola de Veterinária da UFMG.

3.4.2. Técnicas para realização dos exames complementares

A contagem de hemácias, a determinação da concentração de hemoglobina e do volume globular, o cálculo dos índices hematimétricos (volume globular médio, hemoglobina globular média e concentração de hemoglobina globular média) e a contagem total de leucócitos foram determinados em contador eletrônico⁴. Para contagem diferencial de leucócitos foram feitos esfregaços sangüíneos em lâmina de vidro (26 x 76mm), posteriormente fixados e corados pelo método de May-Grunwald-Giemsa (Ferreira Neto et al., 1982).

As análises bioquímicas de glicose, uréia e creatinina foram realizadas através de colorimetria, utilizando-se kits comerciais para dosagem laboratorial⁵. A avaliação da proteína total foi estimada pela técnica de refratometria.

3.5. Exame histopatológico

Ao final do experimento os coelhos foram eutanasiados utilizando-se injeção de pentobarbital sódico na dose de 150 mg por quilograma de peso vivo na veia marginal da orelha (Harkness e Wagner, 1993). Em seguida, os animais foram necropsiados e os bulbos oculares e as pálpebras colhidos para realização de exame histopatológico. Nas primeiras 48 horas, os olhos foram fixados em solução composta por etanol 95%, formol 10%, água destilada e ácido acético glacial. Posteriormente, foram mergulhados em formol 10% e encaminhados ao Setor de Patologia da Escola de Veterinária da UFMG, onde foram embebidos em parafina, seccionados a 5 μ m e corados com hematoxilina e eosina.

3.6. Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o pacote estatístico SAS (2000) e adotando-se um nível de significância de 5%. Antes de serem feitas as análises de comparação entre médias, foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para detectar se as variáveis trabalhadas no estudo apresentavam distribuição normal.

As variáveis que não apresentaram distribuição normal foram submetidas a uma análise de variância seguida do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Nos dados com distribuição normal foram realizadas análises paramétricas utilizando-se o teste de Duncan para comparação entre as médias dos grupos em cada tempo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O glaucoma é uma doença neurodegenerativa que se reveste de singular importância, como afecção de difícil conduta terapêutica e potencial causador de cegueira, sendo a PIO elevada o principal fator de risco para a lesão

progressiva ao nervo óptico. Com o intuito de retardar ou mesmo evitar os danos funcionais irreversíveis do glaucoma, o diagnóstico e o tratamento devem ser estabelecidos o mais precocemente possível.

Com as novas teorias a respeito da fisiopatologia do glaucoma, as bases do tratamento da enfermidade estão englobando, além do controle da PIO, a preservação da função do nervo óptico. O tratamento neuroprotetor visa impedir ou retardar a lesão neuronal secundária sobre as células ainda não afetadas no decurso da doença, possibilitando uma melhor manutenção do patrimônio visual do paciente (Naskar e Dreyer, 2001). Agentes neuroprotetores estão sendo pesquisados e futuramente prometem ser um recurso efetivo no combate ao glaucoma. Entretanto, a atual base para o tratamento antiglaucomatoso continua sendo o controle da PIO, esteja esta associada ou não a lesão do nervo óptico.

Diante da variedade de medicamentos disponíveis, a escolha do melhor fármaco ou da melhor associação depende de uma série de fatores que torna impossível a elaboração de um protocolo aplicável a todo e qualquer paciente. Para cada caso clínico existe um fármaco inicialmente mais recomendável ou uma associação mais conveniente. Os fatores que influenciam a escolha da melhor terapia incluem a posologia da medicação, seus efeitos colaterais, seu mecanismo de ação e a sua eficácia hipotensora.

Na medicina veterinária, apesar dos avanços nos procedimentos cirúrgicos, a terapia médica continua sendo o componente mais importante no tratamento do glaucoma. Desta forma, os inibidores da anidrase carbônica e os análogos de prostaglandinas tópicos representam uma alternativa imediata no controle dos danos provocados pela síndrome.

Em virtude do caráter crônico e progressivo do glaucoma, o sucesso do tratamento dependerá de fármacos capazes de reduzir consideravelmente a PIO e que possam ser usados por períodos prolongados com o mínimo possível de efeitos colaterais locais ou sistêmicos.

4.1. Avaliação oftalmológica

4.1.1. Avaliação clínico oftalmológica

No presente estudo, as observações oftalmológicas diárias, de ambos os olhos de todos os animais, foram caracterizadas de acordo com os critérios adotados no protocolo de avaliação clínico-oftalmológica descrito no material e métodos.

Ao final dos 120 dias de experimento, foram realizadas 1440 observações clínicas por grupo, totalizando 4320 análises. Em decorrência do elevado número de observações, foram criados intervalos de 10 dias, que caracterizaram um tempo. Os escores das alterações clínicas de cada olho foram somados, obtendo-se um escore final para cada tempo, conforme indicam as tabelas 2, 3 e 4. Posteriormente, foi realizada análise estatística utilizando-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para avaliar o efeito dos diferentes tratamentos, nos diferentes tempos.

Alterações clínico-oftalmológicas, variando do grau leve ao moderado, foram evidenciadas nas conjuntivas e pálpebras e através da secreção ocular nos grupos tratados com latanoprost a 0,005% (Grupo I) e dorzolamida a 2% (Grupo II) (Figuras 4 e 5).

No grupo controle (Tabela 2), durante todo o experimento, apenas um olho apresentou hiperemia conjuntival discreta, observada a partir do 10º dia, e secreção ocular em grau leve, evidenciada no 11º dia. Estas reações duraram respectivamente 10 e sete dias e

regrediram espontaneamente, sendo relacionadas a agentes ambientais, como poeira ou outros tipos de alergenos. Nenhuma outra alteração clínica foi verificada nos olhos deste grupo (Figura 6).

No grupo tratado com latanoprost a 0,005% (Tabela 3) foram observadas alterações em dois olhos. Hiperemia conjuntival e secreção ocular, ambas em grau leve, foram evidenciadas, respectivamente, em 13,75% e 9,1% das observações. A hiperemia conjuntival foi caracterizada a partir do 16º dia e perdurou até o final do experimento, corroborando com os dados descritos por Costagliola et al (2001), que relataram presença de alterações na superfície ocular após 14 dias de tratamento. Secreção ocular em grau leve também foi observada nos dois olhos. Em um dos olhos, a presença de secreção foi verificada a partir do 20º dia, sem melhora do quadro até o final do tratamento. No outro olho, a presença de secreção teve um comportamento cíclico, aparecendo em dois momentos distintos, do 58º ao 69º e do 103º ao 120º dias.

O grupo medicado com dorzolamida a 2% (Tabela 4), apresentou o maior número de alterações clínico oftalmológicas. Ao final do tratamento, alterações nas conjuntivas e pálpebras e a presença de secreção ocular, ambas variando do grau leve ao moderado, foram observadas, respectivamente em 60% e 16,32% dos olhos. A primeira alteração foi verificada com cinco dias de tratamento e caracterizada por hiperemia conjuntival leve. A presença de secreção ocular leve foi notada após seis dias. Efeitos adversos semelhantes foram relatados por 45% dos pacientes humanos tratados com este antiglaucomatoso (Willis et al., 2002). Um comportamento cíclico da presença de secreção ocular (Figura 4) também foi observado neste grupo. Alterações em grau moderado (Figura 7), nas pálpebras e conjuntivas (1 olho) e em relação à presença de secreção ocular (2 olhos), foram verificadas apenas no Grupo II.

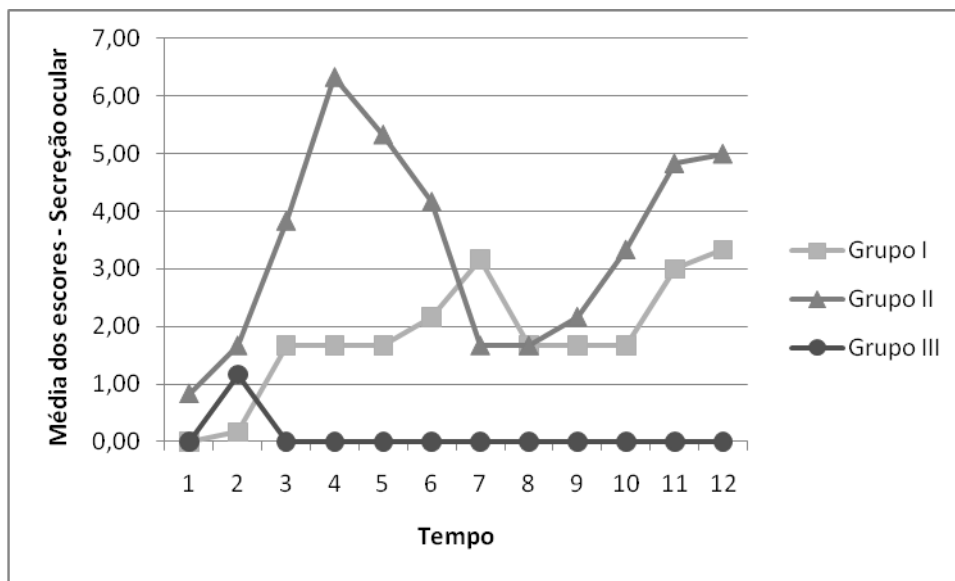


Figura 4 – Apresentação das médias dos escores de secreção ocular observados em olhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle). Cada valor expressa a média de 120 observações, ou seja, um tempo de cada grupo.

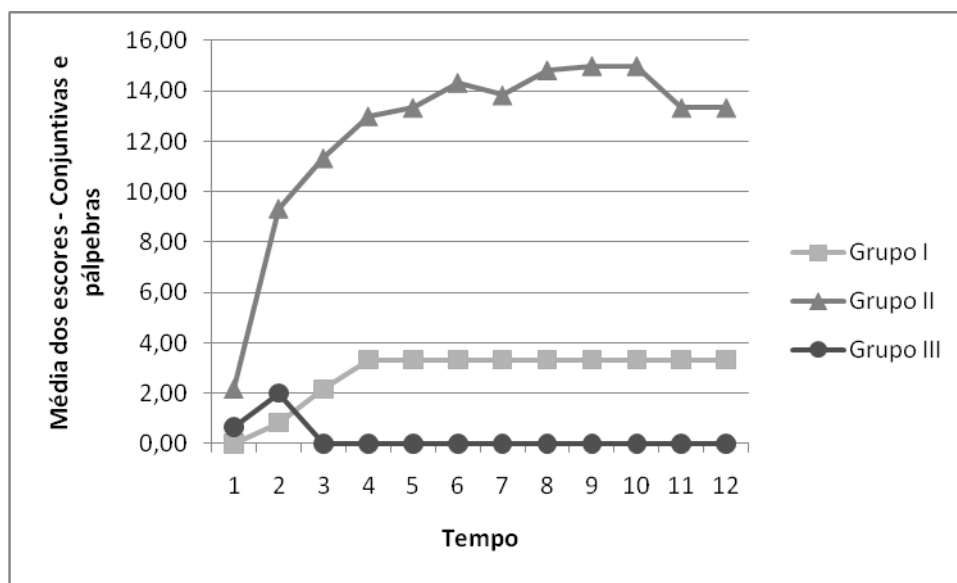


Figura 5 – Apresentação das médias dos escores das conjuntivas e pálpebras observados em olhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle). Cada valor expressa a média de 120 observações, ou seja, um tempo de cada grupo.



Figura 6 – Fotos pertencentes a um olho do Grupo Controle com 100 dias de tratamento. **a** – olho normal, sem presença de secreção e/ou outra alteração; **b** – conjuntivas palpebrais e bulbar normais; **c** – terceira pálpebra normal.

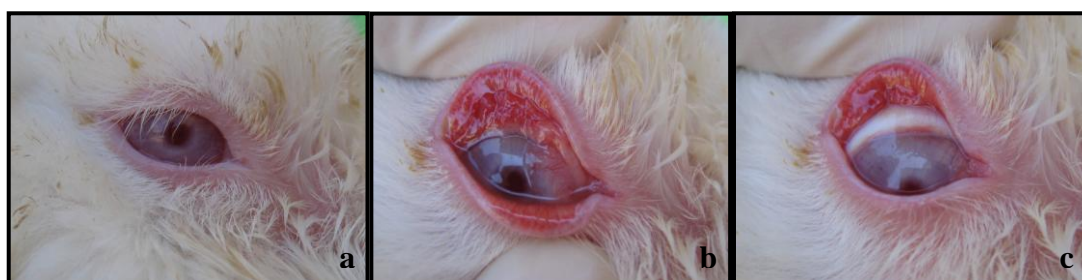


Figura 7 – Fotos pertencentes a um olho do Grupo tratado com dorzolamida a 2% (Grupo II) com 100 dias de tratamento. **a** – olho com presença de secreção em grau moderado; **b** – conjuntivas palpebrais e bulbar com hiperemia moderada e edema discreto; **c** – terceira pálpebra com hiperemia leve, hiperemia em grau moderado das conjuntivas e edema conjuntival discreto.

Diferenças estatisticamente significativas em nível de 5%, foram observadas no Tempo 1, do Grupo II em relação aos Grupos I e III. A partir do Tempo 2, todos os tempos não apresentaram diferença estatística significativa, entre os tratamentos.

Os sinais clínicos observados nos olhos tratados com latanoprost a 0,005% e dorzolamida a 2%, demonstraram manifestações de toxicidade e/ou alergia ocular. Os efeitos adversos relatados podem estar relacionados ao conservante dos colírios, o cloreto de benzalcônio, uma amônia quaternária, que demonstrou toxicidade em tecidos oculares, *in vivo* e *in vitro* (Tripathi et al., 1992; Noecker et al., 2004), até mesmo nas concentrações mais baixas (Costagliola et al., 2001). Esta hipótese justifica principalmente as alterações encontradas no grupo I, tendo em vista que a concentração do cloreto de benzalcônio no latanoprost a 0,005% é de

0,02%, ou seja, duas vezes e meia maior do que a da dorzolamida a 2%, que é de 0,008% (Noecker et al., 2004). É possível associar parte dos efeitos adversos observados no Grupo II ao conservante tendo em vista que efeitos deletérios foram associados ao cloreto de benzalcônio na concentração de 0,005% (Imperia et al., 1986).

A outra hipótese associada aos efeitos adversos observados no Grupo II, está relacionada ao pH dos fármacos. O colírio a base de dorzolamida a 2%, possui um pH de 5,6, enquanto o do latanoprost a 0,005% é de 6,7. Isto indica que a dorzolamida a 2% pode ter induzido, secundariamente, as alterações oculares em virtude de seu pH ácido, conforme descrito por Noecker et al. (2004). A associação destas duas hipóteses poderia explicar o elevado percentual de alterações observadas no Grupo II.

Reações de desconforto ocular imediatamente após a instilação dos tratamentos foram observadas nos grupos I e II. Na maioria dos animais (83,34%) medicados com dorzolamida a 2% (Grupo II), o desconforto foi leve e evidenciado pelo abrupto fechamento das pálpebras, por alguns segundos, e sacudir lateral da cabeça. Dois animais (33,34%), deste mesmo grupo, apresentaram subsequente reações mais intensas que incluíam agitação e prurido ocular. Nos coelhos que receberam latanoprost a 0,005% (Grupo I), apenas um animal (16,67%) apresentou desconforto ocular leve. Efeitos oftálmicos semelhantes, como desconforto, ardor e prurido, foram relatados por pacientes humanos (Balfour e Wilde., 1997; Cawrse et al., 2001; Gray et al., 2003). Estas reações não devem estar relacionadas exclusivamente com os sinais

oftalmológicos observados, tendo em vista que estavam presentes antes dos animais apresentarem qualquer tipo de alteração.

Durante todo o experimento, nos diferentes grupos e tempos, nenhuma alteração corneana, como opacidade, edema ou ceratite puntiforme, foi observada ao exame clínico. Relatos de edema e descompensação irreversível da córnea ocorreram em pacientes humanos tratados com dorzolamida a 2%, mas foram relacionados com comprometimento endotelial (Talluto et al., 1997; Konowal et al., 1999). Entretanto, estes resultados não foram comprovados em outros estudos (Wilkerson et al., 1993; Kaminski et al., 1998). Alterações corneanas semelhantes não foram relatadas em pacientes tratados com latanoprost a 0,005% (Watson, 1999; Costagliola et al., 2000).

Tabela 2 – Olhos tratados com o água ultra pura, que apresentaram alterações, baseadas e classificadas de acordo com o protocolo de avaliação clínica oftalmológica, nos tempos de 1 a 12. Cada tempo (intervalo de 10 dias) expressa 120 observações.

Tempo	Grau da alteração	Avaliação Clínica Oftalmológica (número de observações)		
		Secreção	Conjuntiva e Pálpebras	Córnea
1	leve	0	0	0
1	moderado	0	0	0
1	acentuado	0	0	0
1	TOTAL	0	0	0
2	leve	7 (5,83%)	9 (7,5%)	0
2	moderado	0	0	0
2	acentuado	0	0	0
2	TOTAL	7 (5,83%)	9 (7,5%)	0
3	leve	0	0	0
3	moderado	0	0	0
3	acentuado	0	0	0
3	TOTAL	0	0	0
4	leve	0	0	0
4	moderado	0	0	0
4	acentuado	0	0	0
4	TOTAL	0	0	0
5	leve	0	0	0
5	moderado	0	0	0
5	acentuado	0	0	0
5	TOTAL	0	0	0
6	leve	0	0	0
6	moderado	0	0	0
6	acentuado	0	0	0
6	TOTAL	0	0	0
7	leve	0	0	0
7	moderado	0	0	0
7	acentuado	0	0	0
7	TOTAL	0	0	0
8	leve	0	0	0
8	moderado	0	0	0
8	acentuado	0	0	0
8	TOTAL	0	0	0
9	leve	0	0	0
9	moderado	0	0	0
9	acentuado	0	0	0
9	TOTAL	0	0	0
10	leve	0	0	0
10	moderado	0	0	0
10	acentuado	0	0	0
10	TOTAL	0	0	0
11	leve	0	0	0
11	moderado	0	0	0
11	acentuado	0	0	0
11	TOTAL	0	0	0
12	leve	0	0	0
12	moderado	0	0	0
12	acentuado	0	0	0
12	TOTAL	0	0	0
120 dias	TOTAL	7 (0,48%)	9 (0,62%)	0

Tabela 3 – Olhos tratados com o antiglaucomatoso latanoprost 0,005%, que apresentaram alterações, baseadas e classificadas de acordo com o protocolo de avaliação clínica oftalmológica, nos tempos de 1 a 12. Cada tempo (intervalo de 10 dias) expressa 120 observações.

Tempo	Grau da alteração	Avaliação Clínica Oftalmológica (número de observações)		
		Secreção	Conjuntiva e Pálpebras	Córnea
1	leve	0	0	0
1	moderado	0	0	0
1	acentuado	0	0	0
1	TOTAL	0	0	0
2	leve	1 (0,83%)	5 (4,17%)	0
2	moderado	0	0	0
2	acentuado	0	0	0
2	TOTAL	1 (0,83%)	5 (4,17%)	0
3	leve	10 (8,33%)	13 (10,83%)	0
3	moderado	0	0	0
3	acentuado	0	0	0
3	TOTAL	10 (8,33%)	13 (10,83%)	0
4	leve	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
4	moderado	0	0	0
4	acentuado	0	0	0
4	TOTAL	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
5	leve	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
5	moderado	0	0	0
5	acentuado	0	0	0
5	TOTAL	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
6	leve	13 (10,83%)	20 (16,67%)	0
6	moderado	0	0	0
6	acentuado	0	0	0
6	TOTAL	13 (10,83%)	20 (16,67%)	0
7	leve	19 (15,83%)	20 (16,67%)	0
7	moderado	0	0	0
7	acentuado	0	0	0
7	TOTAL	19 (15,83%)	20 (16,67%)	0
8	leve	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
8	moderado	0	0	0
8	acentuado	0	0	0
8	TOTAL	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
9	leve	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
9	moderado	0	0	0
9	acentuado	0	0	0
9	TOTAL	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
10	leve	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
10	moderado	0	0	0
10	acentuado	0	0	0
10	TOTAL	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
11	leve	18	20 (16,67%)	0
11	moderado	0	0	0
11	acentuado	0	0	0
11	TOTAL	18 (15%)	20 (16,67%)	0
12	leve	20 (16,67%)	20 (16,67%)	0
12	moderado	0	0	0
12	acentuado	0	0	0
12	TOTAL	20 (16,67%)	20 (16,67%)	0
120 dias	TOTAL	131 (9,1%)	198 (13,75%)	0

Tabela 4 – Olhos tratados com o antiglaucomatoso dorzolamida a 2%, que apresentaram alterações, baseadas e classificadas de acordo com o protocolo de avaliação clínica oftalmológica, nos tempos de 1 a 12. Cada tempo (intervalo de 10 dias) expressa 120 observações.

Tempo	Grau da alteração	Avaliação Clínica Oftalmológica (número de observações)		
		Secreção	Conjuntiva e Pálpebras	Córnea
1	leve	5 (4,17%)	13 (10,83%)	0
1	moderado	0	0	0
1	acentuado	0	0	0
1	TOTAL	5 (4,17%)	13 (10,83%)	0
2	leve	10 (8,33%)	56 (46,67%)	0
2	moderado	0	0	0
2	acentuado	0	0	0
2	TOTAL	10 (8,33%)	56 (46,67%)	0
3	leve	23 (19,17%)	68 (56,67%)	0
3	moderado	0	0	0
3	acentuado	0	0	0
3	TOTAL	23 (19,17%)	68 (56,67%)	0
4	leve	22 (18,33%)	78 (65%)	0
4	moderado	8 (6,66%)	0	0
4	acentuado	0	0	0
4	TOTAL	30 (25%)	78 (65%)	0
5	leve	28 (23,33%)	80 (66,67%)	0
5	moderado	2 (1,67%)	0	0
5	acentuado	0	0	0
5	TOTAL	30 (25%)	80 (66,67%)	0
6	leve	25 (20,83%)	86 (71,67%)	0
6	moderado	0	0	0
6	acentuado	0	0	0
6	TOTAL	25 (20,83%)	86 (71,67%)	0
7	leve	10 (8,33%)	83 (69,16%)	0
7	moderado	0	0	0
7	acentuado	0	0	0
7	TOTAL	10 (8,33%)	83 (69,16%)	0
8	leve	10 (8,33%)	71 (59,17%)	0
8	moderado	0	9 (7,5%)	0
8	acentuado	0	0	0
8	TOTAL	10 (8,33%)	80 (66,67%)	0
9	leve	13 (10,83%)	70 (58,33%)	0
9	moderado	0	10 (8,33%)	0
9	acentuado	0	0	0
9	TOTAL	13 (10,83%)	80 (66,67%)	0
10	leve	20 (16,67%)	70 (58,33%)	0
10	moderado	0	10 (8,33%)	0
10	acentuado	0	0	0
10	TOTAL	20 (16,67%)	80 (66,67%)	0
11	leve	29 (24,16%)	80 (66,67%)	0
11	moderado	0	0	0
11	acentuado	0	0	0
11	TOTAL	29 (24,16%)	80 (66,67%)	0
12	leve	30 (25%)	80 (66,67%)	0
12	moderado	0	0	0
12	acentuado	0	0	0
12	TOTAL	30 (25%)	80 (66,67%)	0
120 dias	TOTAL	235 (16,32%)	864 (60%)	0

4.1.2. Teste lacrimal de Schirmer

O teste lacrimal de Schirmer (TLS) é um método semiquantitativo capaz de avaliar o filme lacrimal (Slatter, 2001), com base nos milímetros de umidificação de uma tira de papel de filtro Whatman nº 41, após 60 segundos (Scarpi, 1997). Estas tiras foram confeccionadas conforme descrito no material e métodos.

O TLS foi realizado antes de qualquer outro procedimento, para evitar interferências na obtenção dos resultados, em decorrência de manipulação ocular e/ou da instilação dos colírios (Talieri et al., 2006). O procedimento foi efetuado em todos os olhos a cada 10 dias, obtendo-se 12

observações por grupo, por tempo, que foram representadas por uma média. A análise estatística destes dados demonstrou que eles não seguiram distribuição normal. Desta forma, foi realizada uma análise de variância seguida do teste de Kruskal-Wallis.

Ao final do experimento, todos os valores médios do teste lacrimal de Schirmer permaneceram dentro dos níveis normais (Figura 8), não existindo diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tratamento, em todos os tempos. O intervalo de referência estabelecido com base no Tempo Zero deste estudo foi de 5 a 12 mm/minuto.

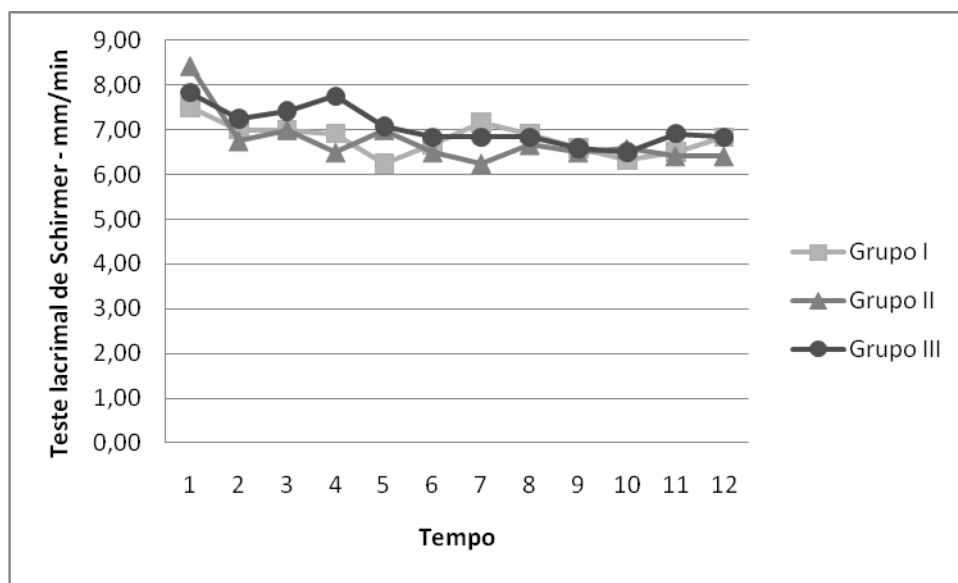


Figura 8 – Apresentação das médias do Teste lacrimal de Schirmer (mm) em olhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle). Cada valor expressa a média de 12 observações (um tempo de cada grupo).

Estes dados corroboram com os relatados por Willis et al (2002) e Noecker et al (2004), que não evidenciaram alterações no filme lacrimal de pacientes que utilizaram antiglaucomatosos tópicos cronicamente. Entretanto, a hipótese de efeito deletério ao filme lacrimal não deve ser descartada completamente. A dorzolamida a 2% é uma sulfã e de acordo com Moore (1998), a

utilização de substâncias a base de sulfonamidas, por períodos prolongados, pode induzir significativa diminuição da produção lacrimal. Segundo Costagliola et al. (2001), a administração crônica de latanoprost 0,005%, apesar de não causar danos à produção lacrimal, pode diminuir a estabilidade da lágrima sobre a superfície ocular, facilitando o aparecimento de

reações adversas. Este efeito foi associado por estes pesquisadores ao cloreto de benzalcônio.

4.1.3. Teste da fluoresceína

O teste da fluoresceína foi realizado para verificar a integridade do epitélio corneano, utilizando-se tiras impregnadas com o corante (bastões). Embora disponível sob a forma de colírios, optou-se pela utilização da fluoresceína em bastões devido à extrema facilidade de colonização dos colírios por *Pseudomonas aeruginosa* (Strubbe e Gelatt, 1999; Felchle e Urbanz, 2001; Taliere et al., 2006) o que poderia comprometer o decorrer do experimento.

Das avaliações oftalmológicas realizadas a cada 10 dias, o teste da fluoresceína era sempre à última etapa a ser executada. Esta precaução foi tomada para evitar que áreas da superfície ocular impregnadas com o corante pudessem interferir na interpretação das alterações oftalmológicas e na visualização do segmento posterior do olho durante a oftalmoscopia.

O teste de fluoresceína negativo indica que o epitélio corneano está íntegro. Por ser um corante hidrossolúvel, a fluoresceína não consegue corar o epitélio hidrofóbico da córnea. Entretanto, em áreas incompletas ou lesadas deste epitélio, o corante penetra no estroma hidrofílico corando-o em verde brilhante, o que indica um teste de fluoresceína positivo (Taliere et al., 2006).

Alterações no epitélio corneano não foram observadas nos olhos, dos diferentes grupos e tempos, até o final do experimento, ou seja, todos os testes da fluoresceína foram negativos, corroborando com os dados descritos na literatura (Herrerias et al., 1992; Noecker et al., 2004).

4.1.4. Espessura central da córnea

A espessura corneana central (ECC) foi mensurada através do paquímetro ultrassônico em dois períodos distintos, antes do início dos tratamentos (Tempo 1) e ao final dos 120 dias de experimento (Tempo 2). As aferições foram realizadas por um mesmo examinador, no período da manhã entre as nove e 10 horas. As medidas foram efetuadas no mesmo horário para evitar os efeitos da variação diurna da ECC relacionada à hidratação da córnea (Lattimore et al., 1999).

Foram realizadas três medidas da ECC em cada olho. Contudo, apenas a aferição de menor valor entre elas foi considerada válida, em decorrência da variabilidade da espessura depender da região da córnea, indicando que quanto mais central, menor é a sua espessura. O contacto da sonda com a córnea foi cuidadoso, de forma a não provocar medições de espessura menores que a realidade (Netto et al., 2005). Não houve a necessidade da instilação de colírio anestésico, devido a extrema cooperação dos animais.

A análise estatística destes dados demonstrou que eles possuem distribuição normal. Portanto, foram realizadas análises paramétricas utilizando-se o teste de Duncan para comparação entre as médias dos grupos em cada tempo e nos diferentes tempos.

Diferenças estatisticamente significativas não foram observadas entre os tratamentos, dentro de cada tempo. Entretanto, no Grupo II verificou-se diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tempos, sendo a média das ECC do Tempo 2 maior que a do Tempo 1 (Tabela 5). Este comportamento não foi evidenciado entre os tempos dos outros tratamentos (Tabela 8).

Tabela 5 – Médias e desvios padrão das ECC de olhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Tempo 1	406,25 ± 22,57 ^{aA}	408,33 ± 15,55 ^{aA}	400,33 ± 26,29 ^{aA}
Tempo 2	428,83 ± 27,54 ^{aA}	443,58 ± 24,31 ^{aB}	417,50 ± 17,27 ^{aA}

Médias com sobrescritos minúsculos iguais não diferem estatisticamente entre os grupos, para cada tempo (p<0,05), mediante o teste de Duncan.

Médias com sobrescritos maiúsculos não diferem estatisticamente entre os tempos, dentro de cada grupo (p<0,05), mediante o teste de Duncan.

Conforme exposto, o aumento estatisticamente significativo da ECC foi verificado nos olhos tratados com dorzolamida a 2%, após 120 dias. Estes dados estão de acordo com os descritos por Herndon et al. (1997), que relataram aumento da ECC em olhos de pacientes humanos glaucomatosos tratados com dorzolamida a 2%. Resultados semelhantes, porém, não foram comprovados por Wilkerson et al. (1993) e Kaminski et al. (1998), que evidenciaram um pequeno, mas não significativo aumento da ECC após tratamento com este antiglaucomatoso. Estudos associando alterações da ECC ao uso do latanoprost a 0,005%, por períodos prologados, são raros. Lass et al. (2001), relataram não haver diferenças estatísticas significativas entre as ECC de olhos tratados com latanoprost a 0,005% após seis meses e um ano.

Uma hipótese para esta elevação da ECC em olhos medicados com dorzolamida a 2% diz respeito ao baixo pH (5,6) deste fármaco. De acordo com Shor e Belfort Júnior (1997), substâncias com pH menor que 6,8 podem causar danos às membranas celulares levando ao edema, com conseqüente aumento da ECC. Outra justificativa aceita, envolve a inibição dos íons cálcio intra-celular. Estes íons possuem um importante papel na bomba celular de Na⁺ e K⁺ e na mobilidade de células endoteliais da córnea. Assim, os antagonistas de íons cálcio intra-celular interferem na homeostase corneana

causando edema (Wu et al., 2006), em virtude, principalmente, da inibição global ou seletiva da bomba (Shor e Belfort Júnior, 1997). Entretanto, mais estudos precisam ser realizados para compreender os mecanismos de regulação do cálcio e da mobilidade das células endoteliais da córnea em olhos tratados com dorzolamida a 2% (Wu et al., 2006).

4.1.5. Avaliação histopatológica

Alterações histopatológicas que pudessem estar comprovadamente relacionadas à utilização de antiglaucomatosos tópicos não foram encontradas neste estudo.

A avaliação histopatológica das conjuntivas permitiu a caracterização de infiltrado epitelial e subepitelial leve de neutrófilos, linfócitos e plasmócitos em todas as amostras, incluindo as do grupo controle. Apesar dos sinais clínicos apresentados no exame oftalmológico diário, principalmente no grupo II, não foram evidenciadas diferenças na intensidade do infiltrado entre os tratamentos. Estes achados podem estar relacionados com a contínua exposição da conjuntiva ao meio externo e com o fato desta atuar como barreira física e imunológica protetora.

O estudo microscópico das córneas não demonstrou alterações em nenhum grupo. As camadas da córnea foram facilmente identificadas, evidenciando-se a presença do epitélio representado por quatro a cinco

camadas de células bem definidas, estroma, membrana de Descemet e epitélio posterior (endotélio) (Figura 9). As células epiteliais apresentaram aparência

pavimentosa na porção mais superficial e colunar nas camadas mais internas do epitélio.

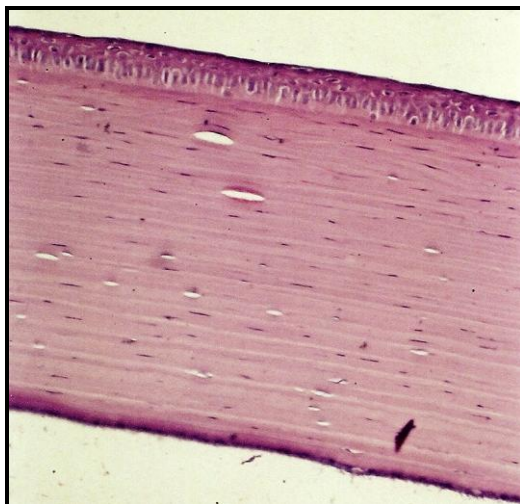


Figura 9 – Fotomicrografia da região central da córnea de um coelho do Grupo Controle, demonstrando as camadas bem definidas e o epitélio íntegro sobre o estroma (Hematoxilina e Eosina, 200x).

Em um olho (8,33%) do grupo tratado com dorzolamida a 2%, foram observados ductos das glândulas tarsais grandemente distendidos, comprimindo e destruindo os ácinos das células glandulares adjacentes, sendo evidenciado material amorfo basofílico na luz destes ductos (Figura 10). Este quadro foi observado no olho que

possuiu o quadro clínico mais severo, podendo estar associado a processo inflamatório. Todavia, de acordo com Moore (1998) e Slatter (2001), a administração prolongada de substâncias tóxicas a base de sulfonamidas podem levar ao quadro de atrofia e fibrose das glândulas lacrimais.

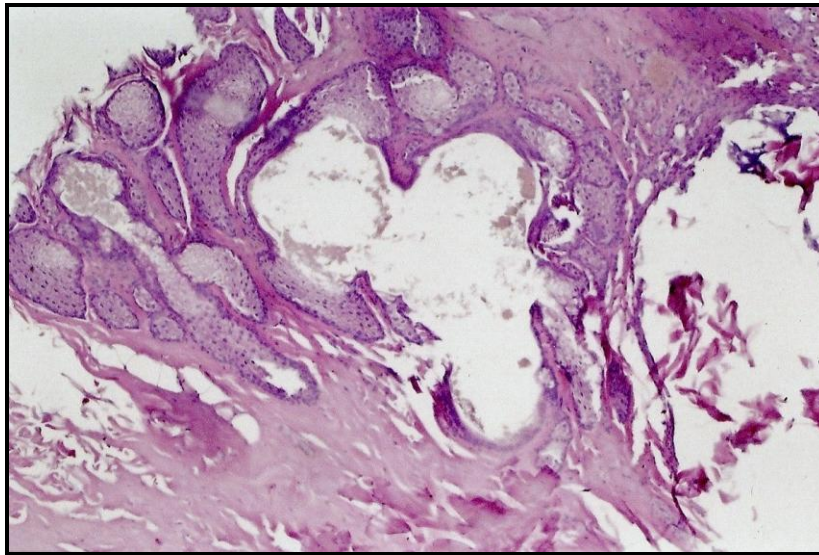


Figura 10 – Fotomicrografia dos ductos das glândulas tarsais de um coelho do Grupo II tratado com o antiglaucomatoso dorzolamida a 2%. Ductos grandemente distendidos, com presença de material amorfo basofílico. Compressão acinar das glândulas adjacentes (Hematoxilina e Eosina, 100x).

Nas análises histopatológicas das retinas foram observadas estruturas preservadas, em todos os grupos. Camadas de cones e bastonetes, nuclear externa, plexiforme

externa, nuclear interna, de células ganglionares e camada de fibras nervosas foram facilmente identificadas e estavam intactas em todas as amostras (Figura 11).

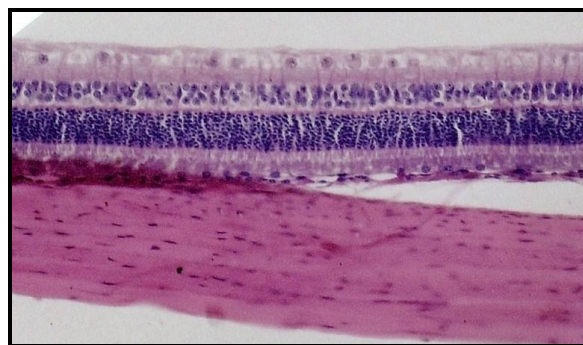


Figura 11 – Fotomicrografia da retina de um coelho do Grupo Controle. Estrutura normal. O desprendimento observado é um artefato técnico (Hematoxilina e Eosina, 200x).

A análise histológica sob microscopia óptica, utilizando a coloração de hematoxilina e eosina, permitiu um adequado estudo dos tecidos em sua totalidade. Entretanto, a ausência quase completa de alterações histopatológicas observadas nas diferentes estruturas oculares deste estudo, deve ser interpretada

com cautela. Avaliações usando microscopia eletrônica de varredura mostraram que as conjuntivas, a córnea (Noecker et al., 2004) e a retina são extremamente sensíveis às influências farmacológicas (Oliveira Neto et al., 2002).

4.2. Avaliação sistêmica

A principal vantagem das medicações tópicas é a diminuição na incidência dos efeitos colaterais sistêmicos (Borges, 2004). Na oftalmologia veterinária, a absorção sistêmica da dorzolamida a 2% foi comprovada e atribuída ao efeito hipotensor no olho contra-lateral de cães glaucomatosos (King et al., 1991; Borges et al., 2006). Estudos confirmando a absorção sistêmica do latanoprost a 0,005% também foram realizados e correlacionados à concentração plasmática do fármaco na primeira hora após sua administração (Willis et al., 2002).

Visando dirimir dúvidas quanto aos possíveis efeitos sistêmicos destes fármacos, fez-se necessário um estudo mais completo que pudesse confirmar a boa tolerabilidade dos tratamentos. Para tanto, a cada intervalo de 10 dias, foram realizados hemogramas, análises bioquímicas de uréia e creatinina, e avaliações das proteínas totais. Conforme citado no material e métodos, todos os valores referenciais foram obtidos, dos 18 coelhos, no Tempo Zero na tentativa de minimizar variações nos resultados decorrentes de diferentes condições de criação e manejo dos animais.

O teste de Kolmogorov-Smirnov detectou para todas as variáveis sistêmicas, exceto número de hemácias, concentração de

hemoglobina e hematócrito, um nível de significância $<0,01$, indicando que estes dados não seguiram distribuição normal. Desta forma, para os dados não normais, foi realizada uma análise de variância seguida do teste de Kruskal-Wallis. Para as variáveis: hemácias, concentração de hemoglobina e hematócrito, foram realizadas análises paramétricas, utilizando-se o teste de Duncan.

A realização de exames laboratoriais, para avaliação do uso contínuo e crônico da dorzolamida a 2% e do latanoprost a 0,005%, foi preconizada, uma vez que, evidências clínicas geralmente dependem da extensão da lesão.

Hemogramas com contagem total e diferencial de leucócitos foram efetuados para verificar possíveis alterações que pudessem refletir o resultado da ação direta ou indireta destes fármacos no organismo, demonstrando indícios de processos inflamatórios, infecciosos ou imunossupressores.

Nos eritogramas dos animais não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, nos diferentes tempos e todas as variáveis permaneceram dentro dos intervalos normais. Os valores destas variáveis, bem como os intervalos normais de referência, foram expressos nas Tabelas 7, 8 e 9.

Tabela 6 - Médias e desvios padrão dos números de hemácias ($\mu\text{l} \times 10^6$) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).

Tempos	Grupo I	Grupo II	Grupo III
1	6.63±0.53	6.87±0.49	6.77±0.54
2	6.41±0.56	6.78±0.51	6.45±0.49
3	6.41±0.58	6.70±0.44	6.74±0.53
4	5.98±0.47	6.50±0.44	6.02±0.35
5	6.15±0.37	6.52±0.26	6.51±0.31
6	6.40±0.52	6.52±0.49	6.59±0.46
7	6.72±0.49	7.18±0.55	6.95±0.43
8	6.72±0.49	7.18±0.55	6.95±0.43
9	6.85±0.30	7.06±0.20	7.06±0.14
10	6.91±0.20	7.31±0.29	7.25±0.23
11	7.37±0.50	7.35±0.39	7.39±0.42
12	7.13±0.65	7.24±0.41	6.83±0.35

Médias não diferem estatisticamente entre os tempos, dentro de cada grupo ($p>0,05$), mediante o teste de Duncan.

Médias não diferem estatisticamente entre os grupos, para cada tempo ($p>0,05$), mediante o teste de Duncan.

Valores de referência: 4,97 a $7,53 \times 10^6 \mu\text{l}$.

Embora não tenham sido observadas alterações no eritrograma, uma contagem elevada de hemácias poderia indicar quadros de policitemia relativa, atribuídos a transtornos gastrintestinais (diarréia) relatados em cães, devido ao uso de inibidores sistêmicos da anidrase carbônica (Abrams, 2001). Redução do número de hemácias também poderia ter sido relatada, no grupo dos animais tratados com dorzolamida a 2% (Grupo II), devido a uma possível redução do consumo alimentar dos

animais, em decorrência do incômodo ou dor provocados pelos efeitos colaterais locais observados. Indícios de que estas alterações pudessem ter sido encontradas, ocorreu nas duas últimas semanas do experimento, em um animal do grupo II que apresentou o quadro local mais severo. O animal tornou-se mais quieto e o seu consumo alimentar foi reduzido. Porém, alterações laboratoriais não foram observadas.

Tabela 7 - Médias e desvios padrão dos valores de hemoglobina (g/dl) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).

Tempo	Grupo I	Grupo II	Grupo III
1	13.58±0.38	14.25±0.66	13.92±0.74
2	13.42±0.53	13.57±0.71	12.97±1.13
3	13.28±0.73	12.33±4.44	14.20±1.38
4	13.25±0.96	12.50±4.38	13.63±0.67
5	13.98±0.86	14.32±0.32	14.28±0.69
6	13.97±0.56	14.10±0.89	14.23±0.67
7	14.07±0.57	14.53±0.48	14.37±0.94
8	14.07±0.57	14.53±0.48	14.37±0.94
9	14.52±0.49	14.93±0.45	14.50±0.53
10	14.38±0.47	14.63±0.47	14.53±0.57
11	14.95±0.45	15.22±0.64	14.98±0.70
12	14.68±0.55	15.05±0.42	14.67±0.39

Médias não diferem estatisticamente entre os tempos, dentro de cada grupo ($p>0,05$), mediante o teste de Duncan.

Médias não diferem estatisticamente entre os grupos, para cada tempo ($p>0,05$), mediante o teste de Duncan.

Valores de referência: 11,34 a 15,22g/dl.

Tabela 8 – Médias e desvios padrão dos valores do hematócrito (%) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).

Tempo	Grupo I	Grupo II	Grupo III
1	38.90±1.56	38.22±1.83	40.15±2.60
2	38.03±2.36	39.47±2.40	39.33±2.56
3	29.07±2.09	29.33±2.41	31.37±2.27
4	35.93±2.92	38.03±3.20	36.43±1.75
5	36.68±1.89	38.22±1.36	39.08±1.70
6	38.57±2.61	38.43±1.22	39.67±3.40
7	39.77±1.98	41.55±2.06	40.77±2.07
8	39.77±1.98	41.55±2.06	40.77±2.07
9	39.60±4.58	42.68±4.01	40.53±2.12
10	39.78±1.28	41.53±1.18	41.70±1.46
11	42.60±1.90	41.70±1.79	41.90±2.54
12	40.82±2.67	40.83±1.90	39.20±1.98

Médias não diferem estatisticamente entre os tempos, dentro de cada grupo ($p>0,05$), mediante o teste de Duncan.

Médias não diferem estatisticamente entre os grupos, para cada tempo ($p>0,05$), mediante o teste de Duncan.

Valores de referência: 28,91 a 48,27%.

Nos índices hematimétricos, também não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, em todos os tempos, e seus valores permaneceram dentro dos intervalos de referência. Por estes motivos, suas tabulações foram, a princípio, dispensadas.

Coforme indica a Tabela 10, os valores absolutos da contagem de leucócitos totais, permaneceram durante todo o experimento dentro dos padrões normais, não sendo encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos, nos diferentes tempos. Estes resultados, não excluem a presença de processos inflamatórios relacionados ao uso

crônico da dorzolamida a 2% e do latanoprost a 0,005%. Na verdade, eles indicam que as alterações inflamatórias

oculares não foram capazes de provocar alterações destes valores sistêmicos.

Tabela 9 – Médias dos valores totais de leucócitos de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).

Tempos	Grupo I	Grupo II	Grupo III
1	7.60	7.24	9.51
2	7.95	7.24	9.37
3	6.50	5.80	7.28
4	6.79	7.08	8.16
5	8.20	7.38	8.64
6	7.57	6.66	8.48
7	8.22	8.86	8.45
8	8.22	8.86	8.45
9	8.22	8.35	9.70
10	8.51	7.58	9.09
11	7.99	7.61	10.08
12	8.21	7.13	9.03

A variável, contagem total de leucócitos, não apresentou diferenças significativas no nível de 5% de significância entre os grupos de tratamento mediante o teste de Kruskal-Wallis, em todos os tempos. Valores de referência: 6.75 a 12 x10³/µl.

A contagem diferencial de leucócitos, representada na Tabela 11, também não revelou diferenças estatísticas significativas entre os grupos, nos distintos tempos, permanecendo dentro dos valores de normalidade estabelecidos.

Alterações nas contagens dos diferentes granulócitos poderiam caracterizar o processo inflamatório. Entretanto, os

valores de eosinófilos, neutrófilos e basófilos, permaneceram dentro da normalidade durante todo o experimento, não havendo diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Por este motivo, foram representados em conjunto (granulócitos) esperando-se, desta forma, facilitar a interpretação e análise dos resultados.

Tabela 10 – Médias dos valores diferenciais de leucócitos de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).

Tempos	Linfócitos (4.47 a 11.5x10 ³ /µl)			Monócitos (0.07 a 0.81x10 ³ /µl)			Granulócitos (0.27 a 2.76x10 ³ /µl)		
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo I	Grupo II	Grupo III
1	6.00	5.79	7.56	0.24	0.17	0.22	1.37	1.44	1.74
2	6.52	5.82	8.18	0.31	0.24	0.26	1.13	1.18	0.95
3	5.77	4.63	6.77	0.17	0.20	0.14	0.59	0.97	0.38
4	3.76	4.45	5.28	0.28	0.27	0.31	2.76	2.69	2.58
5	6.14	4.82	7.00	0.17	0.17	0.24	1.56	2.30	1.61
6	5.98	4.77	7.61	0.21	0.22	0.32	1.38	1.67	0.59
7	5.07	5.70	6.16	0.41	0.60	0.44	2.75	2.73	1.87
8	5.07	5.37	6.16	0.41	0.76	0.44	2.75	2.73	1.87
9	6.34	6.20	6.88	0.36	0.23	0.21	1.54	1.93	2.59
10	5.35	4.74	6.13	0.20	0.40	0.31	2.96	2.44	2.67
11	6.87	6.22	8.79	0.34	0.37	0.27	0.79	1.02	1.05
12	8.21	7.13	9.03	0.26	0.29	0.27	0.96	1.69	2.01

As variáveis, linfócitos, monócitos e granulócitos, não apresentaram diferenças significativas no nível de 5% de significância entre os grupos de tratamento mediante o teste de Kruskal-Wallis, em todos os tempos.

Ao final dos 120 dias de experimento, todos os valores de uréia e creatinina permaneceram dentro dos níveis normais, não existindo diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tratamento, em todos os tempos, conforme indicam as Tabelas 12 e 13. Neste estudo, os intervalos dos níveis de referência estabelecidos, com base no Tempo Zero, para uréia e creatinina foram, respectivamente, de 30,35 a 50,41mg/dl (média de 37,54) e de 1,18 a 1,84mg/dl (média de 1,48).

As mensurações dos níveis de uréia e creatinina foram realizadas para verificar possíveis danos renais em decorrência da via de excreção dos metabólitos da

dorzolamida a 2% e do latanoprost ser predominantemente renal (Willis et al., 2002). Outro fator relevante foi o relato de nefrolitíase associado com o uso crônico da dorzolamida a 2% (Carlsen et al., 1999). Relatos semelhantes, correlacionando problemas renais ao uso do latanoprost a 0,005%, não foram encontrados na literatura consultada. Entretanto, a falta de pesquisas dos efeitos adversos as funções renais, contra-indicam a administração destes fármacos em pacientes com insuficiência renal severa (Willis et al., 2002). A ausência de evidências laboratoriais de lesão renal pode estar associada aos baixos níveis sistêmicos dos colírios.

Tabela 11 – Médias dos níveis séricos de uréia (mg/dl) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).

Tempos	Grupo I	Grupo II	Grupo III
1	39.16	39.20	35.87
2	34.04	44.71	35.56
3	44.89	46.21	44.11
4	42.12	47.31	37.09
5	39.85	42.74	40.81
6	42.98	39.37	36.71
7	35.75	39.80	35.70
8	44.97	47.77	42.85
9	39.09	38.00	39.12
10	45.16	45.35	46.51
11	37.46	47.45	45.31
12	38.01	38.82	35.53

A variável, uréia, não apresentou diferença significativa no nível de 5% de significância entre os grupos de tratamento mediante o teste de Kruskal-Wallis, em todos os tempos.

Tabela 12 – Médias dos níveis séricos de creatinina (mg/dl) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle).

Tempos	Grupo I	Grupo II	Grupo III
1	1.57	1.58	1.61
2	1.44	1.64	1.62
3	1.26	1.32	1.52
4	1.56	1.69	1.67
5	1.79	1.75	1.84
6	1.55	1.83	1.83
7	1.53	1.65	1.78
8	1.45	1.45	1.51
9	1.41	1.25	1.32
10	1.22	1.31	1.31
11	1.34	1.59	1.65
12	1.64	1.71	1.70

A variável, creatinina, não apresentou diferença significativa no nível de 5% de significância entre os grupos de tratamento mediante o teste de Kruskal-Wallis, em todos os tempos.

Os níveis de proteínas séricas totais foram medidos, por fornecerem indícios, quando reduzidos, de alterações renais. Outra justificativa para a avaliação deste parâmetro foram os relatos da literatura que associam a utilização destes fármacos a processos inflamatórios locais envolvendo,

principalmente, as conjuntivas e pálpebras (Balfour e Wilde, 1997; Cawrse et al., 2001; Willis et al., 2002; Gray et al., 2003). Contudo, nestes casos, os níveis de proteínas totais poderiam estar aumentados.

Semelhante ao observado com os valores do hemograma e da uréia e creatinina, os níveis séricos de proteína total também permaneceram dentro do intervalo de referência estabelecido, de 4,53 a 6,38

mg/dl (média de 5,29 mg/dl), não havendo diferença estatística significativa entre os grupos de tratamento, nos diferentes tempos (Tabela 14).

Tabela 13 - Médias dos níveis séricos de proteínas totais (mg/dl) de coelhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III – Controle). Cada valor expressa a média de seis repetições.

Tempos	Grupo I	Grupo II	Grupo III
1	6.33	6.03	5.72
2	4.54	4.73	4.56
3	4.97	5.00	4.37
4	5.08	4.92	5.46
5	6.03	5.77	6.12
6	4.90	4.70	5.10
7	5.54	5.57	5.56
8	6.01	6.29	6.29
9	6.30	6.19	6.18
10	5.59	5.66	5.65
11	5.29	5.35	5.49
12	5.11	5.03	5.21

A variável, proteínas totais, não apresentou diferença significativa no nível de 5% de significância entre os grupos de tratamento mediante o teste de Kruskal-Wallis, em todos os tempos.

O fato dos tratamentos, com antiglaucomatosos tópicos a base de dorzolamida a 2% e de latanoprost a 0,005%, não causarem alteração nos parâmetros sistêmicos avaliados, não determina a ausência completa de reações sistêmicas adversas. Estudos futuros precisam ser realizados por períodos mais longos e em grupos de pacientes que possuam alguma contra-indicação, como por exemplo, insuficiências renal ou hepática, para comprovar, de forma mais eficaz, a segurança destes medicamentos.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e nas condições experimentais descritas, permite-se concluir que:

- O colírio antiglaucomatoso latanoprost a 0,005% produziu reações de desconforto ocular e alterações nas conjuntivas e pálpebras em grau leve após 120 dias de tratamento;
- O colírio antiglaucomatoso dorzolamida a 2% provocou reações de desconforto e alterações nas conjuntivas e pálpebras mais intensas que as observadas nos animais tratados com latanoprost a 0,005% após 120 dias de tratamento;
- A dorzolamida a 2% produziu aumento estatisticamente significativo da espessura central da córnea após tratamento de 120 dias;

- Alterações histopatológicas, do olho e estruturas anexas, comprovadamente relacionada aos fármacos utilizados não foram evidenciadas;
- A avaliação de parâmetros laboratoriais dos animais não demonstrou nenhuma alteração ou diferença estatística significativa entre os grupos nos diferentes tempos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMS, K. L. Medical and Surgical management of the glaucoma patient. **Clin. Tech. Small Anim. Pract.**, v.16, p.71-76, 2001.
- ALMEIDA JUNIOR, G.C.; FARIA E SOUZA, S.J. Effect of topical dorzolamide on rabbit central corneal thickness. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.39, n.2, p.277-281, 2006.
- AMARAL, A.V.C. **Estudo clínico e histológico das pálpebras, conjuntiva e córnea hígdas submetidas a tratamento local com soluções anestésicas em coelhos.** 2005. 39f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- BALFOUR, J. A.; WILDE, M. I. Dorzolamide – A review of its pharmacology and therapeutic potential in the management of glaucoma and ocular hypertension. **Drugs Aging.** v. 10, n. 5, p. 384-402, 1997.
- BANKS, WILLIAM J. **Histologia Veterinária Aplicada.** 2^a ed. São Paulo. Ed. Manole LTDA. p. 629. 1992.
- BORGES, A.G. **Efeitos do cloridrato de dorzolamida 2% maleato de timolol 0,5% e a associação na pressão intra-ocular: estudo experimental em cães.** 2004. 67p. Dissertação (Mestrado em Clínica e Cirurgia Veterinárias). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP.
- BORGES, A.G.; BRANDÃO, C.V.S.; RANZANI, J.J.T.; MARINHO, L.F.L.P.; GALLO, R.N.; CROCCI, A.J. Ação do cloridrato de dorzolamida a 2% como tópico hipotensor ocular: estudo experimental em cães. **Archives of Veterinary Science**, v.11, n.1, p.13-15, 2006.
- BROOKS, D. E.; GARCIA, G. A.; DREYER, E. B.; ZURAKOWSKI, D.; FRANCO-BOURLAND, R. E. Vitreous body glutamate concentration in dogs with glaucoma. **Am. J. Vet. Res.**, v. 58, p. 864-867, 1997.
- BROOKS, D. E.; KOMÀROMY, A. M.; KÄLLBERG, M. E. Comparative optic nerve physiology implications for glaucoma, neuroprotec, and neuroregeneration. **Vet. Ophthalmol.**, v. 2, p. 13-25, 1999a.
- BROOKS, D. E.; KOMÀROMY, A. M.; KÄLLBERG, M. E. Comparative retinal ganglion cell and optic nerve morphology. **Vet. Ophthalmol.**, v. 2, p. 3-11, 1999b.
- BRUBACKER, R.F. Delayed functional loss in glaucoma. **Am. J. Ophthalmol.**, v.121, p.4730483, 1997.
- BURKITT, H.G.; YOUNG, B.; HEATH, J.W. **Wheather Histologia Funcional.** 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.379. 1993.
- CALIXTO, N. Jr.; CRONENBERGER, S.; CALIXTO, N. Pressão Intra-ocular e Glaucoma. In: LIMA, A. L. H.; MELAMED, J.; CALIXTO, N. **Terapêutica Clínica das Afecções**

Oculares. São Paulo: Editora Roca LTDA, 1995. Cap. 10, p. 301-310.

CALLANAN, D.; FELLMAN, R. L.; SAVAGE, J. A. Latanoprost associated cystoid macular edema. **Am. J. Ophthalmol.**, v. 126, p. 134-135, 1998.

CARLSEN, J.; DURCAN, J.; ZABRISKIE, N.; SWARTZ, M.; CRANDALL, A. Nephrolithiasis with dorzolamide. **Arch. Ophthalmol.**, v. 117, n. 8, p. 1087-1088, 1999.

CARLTON, W. W., MCGAVIN, M. D. Patologia do olho e do Ouvido. In: RENDER, J. A. E CARLTON, W. W. **Patologia veterinária especial de Thompson.** Porto Alegre. Ed. Artmed. cap. 14. p. 590-636. 2ª. Ed. 1998.

CAWRSE, M. A.; WARD, D. A.; HENDRIX, D. V. H. Effects of topical application of a 2% solution of dorzolamide on intraocular pressure and aqueous humor flow rate in clinically normal dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v. 62, n. 6, 2001.

COLLINS, W. W., RENDA, J. A. Olho e ouvido. In: THONSON, R. G. **Patologia veterinária especial.** São Paulo. Ed. Manole. cap. 127. p. 1086-1092. 1996.

COSTAGLIOLA, C.; DEL PRETE, A.; INCORVAIA, C.; FUSCO, R.; PARMEGGIANI, F.; DI GIOVANNI, A. Ocular surface changes induced by topical application of latanoprost and timolol: a short-term study in glaucomatous patients with and without allergic conjunctivitis. **Graefe's Arch. Clin. Exp. Ohtalmol.**, n.239, p.809-814, 2001.

COSTAGLIOLA, C.; DEL PRETE, A.; VEROLINO, M.; ANTINOZZI, P.; FUSCO, R.; PARMEGGIANI, F.; MASTROPASQUA, L. Effect of 0,005% latanoprost once daily on intraocular pressure in glaucomatous patients not

adequately controlled by beta-blockers twice daily: a 3-year follow-up. Experience and incidence of side effects in a prospective study on 76 patients. **Graefe's Arch. Clin. Exp. Ohtalmol.**, n. 240, p.379-386, 2000.

COULTER, D.B.; SCHMIDT, G.M. Sentidos especiais I: Visão. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. (Eds). **Dukes: Fisiologia dos animais domésticos.** Ed.11. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap.42, p.729-740, 1996.

DEYER, E.B. A proposed role for excitotoxicity in glaucoma. **J. Glaucoma**, v.7, p.62-67, 1998.

DIELE, C. A.; PEREIRA, J. T.; KUNER. Efeito do travoprost 0,004% tópico na pressão intra-ocular de cavalos hípidos. **Revista da FZVA.** Uruguaiana. v. 13, n. 1, p. 90-102. 2006.

ECCO, R. **Intoxicação por closantel em caprinos.** 2006. 128p. Tese (Doutorado em Patologia Molecular). Faculdade de Medicina da UnB.

FANOUS, M.M.; CHALLA, P.; MAREN, T.H. Comparison of intraocular pressure lowering by topical and systemic carbonic anhydrase inhibitors in the rabbit. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v.15, p.51-57, 1999.

FELCHLE, L.; URBANZ, J.L. Examining the anterior segment of the eye in small animals. **Veterinary Medicine**, v.96, n.10, p.792-799, 2001.

FERREIRA NETO, J. M.; VIANA, E. S.; MAGALHÃES L. M. **Patologia clínica veterinária.** 2.ed. Belo Horizonte: Rabelo. 279p. 1982.

FRANCO-BOURLAND, R. E.; GUÍZAR-SAHAGÚN, G. A.; ODOR-MORALES, A.; ALVAREZ, A.; ESQUIVEL,

- F.;RODRÍGUEZ, S. Retinal vulnerability to glutamate excitotoxicity in canine glaucoma: Induction of neuronal nitric oxid synthase in retinal ganglion cells. **Proc. West Pharmacol Soc.** v. 41, p. 201-204, 1998.
- GALLO, R. N. RANZANNI, J. J. T. Glaucoma Canino. **Associação nacional de clínicos veterinários de pequenos animais, Boletim Informativo ANCLIVEPA-SP.** São Paulo. ano VII, n. 27, p. 6-7, abr/set, 2002.
- GELATT, K. N. **Manual de Oftalmologia Veterinária.** 1.ed. São Paulo: Ed. Manole. p. 165-252. 2003.
- GELATT, K.N. **Veterinary Ophthalmology.** 3ed. Baltimore: Lippincout Willians & Wilkins. 1544p. 1999.
- GELATT, K. N.; BROOKS. D. E. The Canine Glaucomas. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology.** 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p. 701-754. 1999.
- GELATT, K.N.; GELATT, J.P. **Small Animal Ophthalmic Surgery.** 1 ed. Edinburgh: Butterworth Heinemann. 381p. 2001.
- GELATT, K. N.; MACKAY, E. O. Changes in intraocular pressure associated with topical dorzolamide and oral methazolamide in glaucomatous dogs. **Vet. Ophthalmol.**, v.4, p. 61-67, 2001a.
- GELATT, K. N., MACKAY, E. O. Effect of different dose schedules of latanoprost on intraocular pressure and pupil size in the glaucomatous Beagle. **Vet. Ophthalmol.**, v. 4, n. 4, p. 283-288, 2001b.
- GIAMPANI, J. Pressão intra-ocular e dinâmica do humor aquoso. In: SUSANNA JUNIOR, R. **Glaucoma.** Clutura médica: São Paulo. CIBA Vision: CBO, 1999.
- GIONFRIDDO, J. R. Recognizing and managing acute and chronic cases of glaucoma. **Vet. Med.**, v. 90, p. 265-275, 1995.
- GOMES, J.A.P.; PIRES, R.T.F.; ALVES, M.R.; NETTO, A.L. **Doenças da superfície ocular: diagnóstico e tratamento.** Rio de Janeiro: Cultura Médica, 130p. 2002.
- GÓMEZ, D. Tratamento del glaucoma. **Del Sistema Nacional de Salud**, v.23, p.1-6, 1999.
- GRAY, H. E.; WILLIS, A. M.; MORGAN, R. V. Effects of topical administration of 1% brinzolamide on normal cat eyes. **Vet. Ophthalmol.** v. 6, n. 4, p. 285-290, 2003.
- GUM, G.; GELATT, K. N.; OFRI, R. Physiologu of the Eye. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology.** 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 151-181. 1999.
- HARKNESS, J. E.; WAGNER, J. E. **Biologia Clínica de Coelhos e Roedores.** São Paulo: Rocca. 138p. 1993.
- HERNDON, L. W.; CHOUDHRI, S. A.; COX, T.; DAMJI, K. F.; SHIELDS, M. B.; ALLINGHAM, R. R. Central corneal thickness in normal, glaucomatous, and ocular hypertensive eyes. **Arch. Ophthalmol.**, v. 115, n. 9, p. 1137-1141, 1997.
- HERRERAS, J. M.; PASTOR, C. P.; CALONGE, M. C.; ASENSIO, V. M. Ocular surface alteration after long-term treatment with an antiglaucomatous drug. **Ophthalmololy.** v. 99, n. 7, p. 1082-1088, 1992.

- HOLZCHUH, N.; HOLZCHUH, R.; ARIETA, C. E. L.; KARA-JOSÉ, N.; ALVES, M. R. Toxidade da mitomicina C no epitélio corneano de coelhos. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v. 67, n. 5, p. 713-716, 2004.
- IMPERIA, P.S.; LAZARUS, H.M.; BOTTI JUNIOR, R.E.; LASS, J.H. An in vitro method for measuring ophthalmic preservative cytotoxicity. **J. Toxicol. Cuttan. Ocular Toxicol.**, v.5, p.309-317, 1986.
- INGRAM, C. J.; BRUBAKER, R. F. Effects of brinzolamide and dorzolamide on aqueous humor flow in human eyes. **Am. J. Ophthalmol.**, v. 128, p. 292-296, 1999.
- JEGOU, J. P., Lês glaucomes. **Rec. Méd. Vét.**, v. 165, p. 263-278, 1989.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 10. Ed., p.488, 2004.
- KAMINSKI, S.; HOMMER, A.; KOYUNCU, D.; BIOWSKI, R.; BARISANI, T.; BAUMGARTNER, I. Influence of dorzolamide on corneal thickness, endothelial cell count and corneal sensibility. **Acta Ophthalmol. Scand.**, v.76, n.1, p.78-79, 1998.
- KASWAN, R. L., BOUNOUS, D., HIRSH, S. G. Diagnóstico e tratamento da ceratoconjuntivite seca. Trad. **A Hora Veterinária**. n. 97. p. 76-85. 1997.
- KING, T.C.; GUM, G.G.; GELATT, K.N. Evaluation of a topical carbonic anhydrase inhibitor (MK-927) in a normotensive and glaucomatous beagles. **Am. J. Vet. Res.**, v.52, p.2067-2070, 1991.
- KONOWAL, A.; MORRISON, J.C.; BROWN, S.V.; COOKE, D.L.; MAGUIRE, L.J.; VERDIER, D.V.; FRAUNDFELDER, F.T.; DENNIS, R.F.; EPSTEIN, R.J. Irreversible corneal descompensation in patients treated with topical dorzolamide. **Am. J. Ophthalmol.**, v.127, n.4, p.403-407, 1999.
- KURAL, E.; LINDLEY, D.; KROHNE, S., Canine Glaucoma: Clinical Signs and Diagnosis. **The Compendium Collection**. v. 17. n. 8, p. 38-44, 1995a.
- KURAL, E.; LINDLEY, D.; KROHNE, S., Canine Glaucoma: Clinical Signs and Diagnosis. **The Compendium Collection**. v. 17. n. 10, p. 226-233, 1995b.
- LASS, J.H.; ERIKSSON, G.L.; OSTERLING, L.; SIMPSON, C.V. Comparison of the corneal effects of latanoprost, fixed combination latanoprost-timolol, and timolol: A double-masked, randomized, one-year study. **Ophthalmology**, v.108, n.12, p.2152, 2001.
- LATTIMORE JR, M.R.; KAUPP, S.; SCHALLHORN, S.; LEWIS, R. Orbscan pachymetry: implications of a repeated measures and diurnal variation analysis. **Ophthalmology**, v.106, n5, p.977-981, 1999.
- LIPPA, E.A.; CARLSON, L.E.; EHINGER, L.O. Dose response and duration of action of dorzolamide, a topical anhydrase inhibitor. **Arch. Ophthalmol.**, v.102, p.495-499, 1992.
- MALLEY, A.D. The pet rabbit in companion animal practice. **Ir. Vet. J.**, v.49, n.2, p.112-114, 1996.
- MARTINS, A. L. B.; PEREIRA, J. S.; PEREIRA, A. B.; FERREIRA, A. M. Síndrome glaucomatosa no cão (revisão). **Nosso Clínico**, v. 9, p. 14-18, 1999.
- MARTINS, B. C.; VICENTI, F. A. M.; LAUS, J. L. Síndrome glaucomatosa em cães – Parte 1. **Cienc. Rural**. v. 36. n. 6. Santa Maria. nov/dec. 2006.

- MATTAR, D.B.; KARA-JOSÉ, N. Filme Lacrimal. In: BELFORT JR., R e KARA-JOSÉ, N. **Córnea Clínica-Cirúrgica**. São Paulo. Ed.Roca. cap. 4. p. 33-40. 1997.
- MAZZANTI, A.; RAISER, A. G.; PIPPI, N. L., ANDRADE, C. M. Uveíte anterior. **Clínica Veterinária**, v. 21, 1999.
- MIETZ, H.; SCHLÖTZER-SCHREBARDT, U.; STRASSFELD, C.; KRIRGLSTEIN, G. K. Efficacy of latanoprost and timolol on the histopathology of the rabbit conjunctiva. **IOVS**. v. 42, n. 3, p. 679-687, 2001.
- MILLER, P. E.; RHAESA, S. L. Effects of topical administration of 0,5% apraclonidina on intraocular pressure, pupil size, and heart rate in clinically normal dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v. 57, n. 1, p. 79-82, 1996.
- MILLER, P.E.; SCHMIDT, G.M.; VAINISI, S.J.; SWANSON, J.F.; HERRMAN, M.K. The efficacy of topical prophylactic antiglaucoma therapy in primary closed angle glaucoma in dogs: a multicenter clinical trial. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v.36, p.431-438, 2000.
- MOORE, C. P. Afecções das pálpebras, conjuntiva e terceira pálpebra. In: **Mecanismos da moléstia na cirurgia dos pequenos animais**. São Paulo. Ed. Manole. P. 163 – 172. 1996.
- MOORE, C. P. Diseases and surgery of the lacrimal secretory system. In: GELATT, N. K. **Veterinary Ophthalmology**, 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p. 583-606. 1998.
- MOORE, C. P. Qualitative tear film disease. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**. v.20. n.3. 1990.
- MOORE, C. P., COLLIER, L. L. Ocular surface disease associated with loss of conjunctival goblet cell in dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.26. p. 458-466. 1990.
- NASKAR, R.; DREYER, E.B. New horizons in neuroprotection. **Survey Ophthalmol.**, v.45, p.250-255, 2001.
- NETTO, A.L.; MALTA, J.B.N.S.; BARROS, M.A.C.; GIOVEDI FILHO, R.; ALVES, M.R. Confiabilidade das medidas de espessura central da córnea com Orbscan II e paquímetro ultra-sônico. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.68, n.1, p.71-74, 2005.
- NOECKER, R.J.; HERRYGERS, L.A.; ANWARUDDIN, R. Corneal and conjunctival changes caused by commonly used glaucoma medications. **Cornea**, v.23, n.5, p.490-496, 2004.
- NORVACK, G. D.; EVANS, R. Commercially available ocular hypotensive products: preservative concentration, stability, storage, and in-life utilization. **J. Glaucoma.**, v.10, p. 483-486. 2001.
- OLIVEIRA NETO, H.L.; FARAH, M.E.; SMITH, R.L.; MARTINS, M.C. Estudo da retina de coelhos após a injeção intravítrea de bupivacaína. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.67, p.27-2, 2004.
- OLLIVIER, F. J.; SAMUELSON, D. A.; BROOKS, D. E.; LEWIS, P. A.; KALLBERG, M. E.; KOMÁROMY, A. M. Comparative morphology of the tapetum lucidum (among selected species). **Vet. Ophthalmol.** v. 7, N.1. P. 11-22, 2004.
- PINHO, E.C.C.M.; SOUZA, S.J.F.; SHAUD, F.; LACHAT, J.J.; NETTO, J.C. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.65, p.451-455, 2002.

- POLO, V.; LARROSA, J. M.; GOMEZ, M. L.; PABLO, L.; HONRUBIA, F. M. Latanaprost versus combined therapy with timolol plus dorzolamide: iop-lowering effect in open-angle glaucoma. **Acta Ophthalmol. Scand.**, v. 79, n. 1, p. 6-9, 2001.
- RAINBOW, M. E.; DZIEZYC, J. Effects of twice daily application of 2% dorzolamide on intraocular pressure in normal cats. **Vet. Ophthalmol.** v. 6, n. 2, p. 147-150, 2003.
- REGNIER, A. Clinical Ophthalmic Pharmacology and Therapeutics. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 297-354. 1999.
- SAMPAIO, R. L. **Avaliação clínica, histopatológica e imunohistoquímica de córneas tratadas por ceretoplastia com membrana amniótica xenóloga a fresco e conservada em glicerina. Estudo experimental em coelhos.** 2004. 212p. Tese (Doutorado em cirurgia veterinária) Faculdade de medicina veterinária e zootecnia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
- SAMUELSON, D. A. Ophthalmic embryology and anatomy. In: GELLAT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 2. ed. Philadelphia: Lea & Febiger. p. 3-123. 1991.
- SAMUELSON, D.A.; GUM, G.G.; GELATT, K.N. Ultrastructural changes in the aqueous outflow apparatus of beagles with inherited glaucoma. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v.30, p.550-561, 1989.
- SÁNCHEZ, G. A.; BROOKS, D. E. Neurodegeneration in glaucoma. **Ophthalmology Presentations**. Avenca Congress. Buenos Aires. p. 82-97. 1998.
- SCARPI, M. J. Olho seco. In: BELFORT JR., R e KARA-JOSÉ, N. **Córnea Clínica-Cirúrgica**. São Paulo. Ed.Roca. cap. 25. p. 285-299. 1997.
- SCHOR, P.; BELFORT JUNIOR, R. Metabolismo e bioquímica da córnea. In: BELFORT JR., R e KARA-JOSÉ, N. **Córnea Clínica-Cirúrgica**. São Paulo. Ed.Roca. cap. 5. p. 41-50. 1997.
- SCHWARTZ, M. Neuroprotection as a treatment for glaucoma: pharmacological and immunological approaches. **European Journal Ophthalmology**, v.11, p.7-11, 2001.
- SEARS, M.L. Physiology and pharmacology of aqueous humor formation: implications with respect to treatment. **Ophthalmol. Clin. North Am.**, v.4, p.767-780, 1991.
- SLATTER, D. **Fundamentals of veterinary ophthalmology**. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company. 340p. 2001.
- SOUZA FILHO, J. P.; DIAS, A. B. T.; LIMA FILHO, A. A. S.; SARTORI, M. F.; MARTINS, M. C. A evolução do mercado farmacêutico brasileiro no tratamento do glaucoma nos últimos 30 anos. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v. 66, n. 8, p. 811-817, 2003.
- SHIELDS, M. B. **Texbook of glaucoma**. 41. ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1998.
- STADES, F. C., BOEVÉ, M. H., NEUMANN, W.; WYMAN, M. **Fundamentos de Oftalmologia Veterinária**. 1ª. ed. Ed. Manole. São Paulo. p. 54-63. 1999.
- STROHMAIER, K.; SNYDER, E.; DUBINER, H.; ADAMSONS, I. The efficacy and safety of the dorzolamide-

timolol combination versus the concomitant administration of its components. **Ophthalmology**, v.105, p.1936-1944, 1998.

STRUBBE, D. T.; GELATT, K. N. Ophthalmic Examination and Diagnostic Procedures. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p. 427-466. 1999.

STUDER, M. E.; CHARLES. L. M.; STILES, J. Effects of 0,005% latanoprost solution on intraocular pressure in healthy dogs and cats. **Am. J. Vet. Res.**, v. 61, p. 1220-1224, 2000.

TALIERI, I.C.; BRUNELLI, A.T.J.; ORIÁ, A.P.; LAUS, J.L. Exame oftálmico em cães e gatos. **Clínica Veterinária**, n.61, p.42-54, 2006.

TALLUTO, D.M.; WYSE, T.B.; KRUPIN, T. Topical carbonic anhydrase inhibitors. **Curr. Opin. Ophthalmol.**, v.8, n2, p.2-6, 1997.

TINSLEY, D. M.; BETTS, D. M. Glaucoma: Past and present management techniques. **Iowa State Univ. Vet.**, v. 55, p. 36-45, 1993.

TRIPATHI, B.J.; TRIPATHI, R.C.; KOLLI, S.P. Cytotoxicity of ophthalmic preservatives on human corneal epithelium. **Lens Eye Toxic. Res.**, n.9, p.361-375, 1992.

VANLANDINGHAM, B. D.; BRUBAKER, R. F. Combined Effect of Dorzolamide and Latanoprost on the Rate of Aqueous Humor Flow. **Am. J. Ophthalmol.**, v. 126, n. 2. p. 191-196, 1998.

WATSON, P.G. Latanoprost in the treatment of glaucoma and ocular

hypertension. **Drugs Today**, v.35, n.6, p.449-459, 1999.

WHITLEY, R. D. Manejo cirúrgico do glaucoma. In: BOJRAB, M. J. **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Roca. p. 100-108. 1996.

WILKERSON, M.; CYRLIN, M.; LIPPA, E.A.; ESPOSITO, D.; DEASY, D.; PANEBIANCO, D.; FAZIO, R.; YABLONSKY, M.; SHIELDS, M.B. Four-week safety and efficacy study of dorzolamide, a novel, active topical carbonic anidrase inhibitor. **Arch. Ophthalmol.**, v.111, n.10, p.1343-1350, 1993.

WILKIE, D.A.; LATIMER, C.A. Effects of topical administration of timolol maleate on intraocular pressure and pupil size in dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v.53, p.432-435, 1991.

WILLIS, A. M.; DIEHL, K. A.; ROBBIN, T. E. Advances in topical glaucoma therapy. **Vet. Ophthalmol.** v. 5, n. 1, p. 9-7, 2002.

WISCH, N.; FISCHBEIN, F. I.; SIEGEL, R.; GLASS, J. L.; LEOPOLD, I. Aplastic anemia resulting from the use of carbonic anhydrase inhibitors. **Am. J. Ophthalmol.** 75(1) jan. p. 130-132. 1973.

WOUK, A.F.P.F.; CÍRIO, S.; KASECKER, G.G.; RAMOS, C.; RICHTER, R.K. Novo modelo experimental de glaucoma em cão para o estudo da cicatrização após cirurgia filtrante associada ao uso de agente antifibrótico. **Arch. Vet. Scienc.**, v.4, n.1, p.103-109, 1999.

WU, K.Y.; HONG, S.J.; WANG, H.Z. Effects of antiglaucoma drugs on calcium mobility in cultured corneal endothelial cells. **Kaohsiung J. Med. Sci.**, v.22, n.2, p.60-67, 2006.

YALVAÇ, I. S.; GEDIKOGLU, G.;
KARAGÖZ, Y.; AKGÜN, U.;
NURÖZLER, A.; KOÇ, F.; KASIM, R.;
DUMAN, S. Effects of antiglaucoma drugs
on ocular surface. **Acta Ophthalmol.
Scand.**, v. 73, p. 246-248, 1995.