

AÇÃO DO SULFATO DE CONDROITINA "A" ASSOCIADO A CIPROFLOXACINA EM ÚLCERAS DE CÓRNEA EM CAVALOS

WOUK, A. F. P.F.¹ ; ZULIAN, I.² ; MÜLLER, G.³ ; SOUZA, A. L. G.⁴

Os glicosaminoglicanos polissulfatados (GAGPs), como o sulfato de condroitina, possuem ação inibitória da plasmina, uma enzima fibrinolítica encontrada em altas concentrações em córneas lesadas, além de ação anabólica sobre fibroblastos, condrócitos e sinoviócitos. O objetivo desta pesquisa foi estudar os efeitos clínicos da instilação tópica de uma associação de ciprofloxacina e sulfato de condroitina "A" sobre a cicatrização de úlceras corneanas experimentais produzidas em cavalos. Para isto, utilizaram-se 10 olhos de 5 cavalos, nos quais a córnea foi submetida à trefinação central e observação durante 24 horas para o início dos tratamentos.

Considerando-se cada animal como seu próprio controle, os olhos direitos compuseram o grupo controle, e os olhos esquerdos, o grupo tratamento, submetidos à instilação de uma associação de ciprofloxacina com sulfato de condroitina "A", duas vezes ao dia. Os cavalos foram examinados a cada dois dias, durante 30 dias, para avaliação dos sinais clínicos. A cicatrização das úlceras foi confirmada por prova de retenção de fluoresceína negativa.

Os olhos tratados com sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina apresentaram redução precoce dos sinais clínicos e preenchimento do leito da úlcera com tecido cicatricial de melhor qualidade, obtendo cicatrização sem leucoma em 80% dos olhos em 14 dias. Os olhos controle apresentaram edema corneano e neovascularização mais importantes e a redução dos sinais clínicos e a cicatrização iniciaram-se tardiamente, resultando em discreto leucoma.

Palavras-chave: úlcera, córnea, GAGPs (glicosaminoglicanos polissulfatados), eqüino.

1 Professor Titular de Clínica Cirúrgica e Oftalmológica da UFPR e PUCPR.

2 Professor Assistente de Clínica Médica de Eqüinos da UFPR

3 Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFPR

4 Médica Veterinária Residente do Hospital Veterinário para Animais de Companhia da PUCPR.

METODOLOGIA

Foram utilizados dez olhos de cinco cavalos (*Equus caballus*), de propriedade da Polícia Militar de Curitiba, onde a pesquisa foi realizada durante o ano de 2001. Selecionaram-se animais adultos, do sexo masculino e, de raças variadas. Estes últimos, passaram inicialmente por exame geral e oftalmológico específico para padronização dos indivíduos e eliminação das variáveis indesejáveis. Na semiologia oftálmica, consideraram-se os seguintes exames: teste lacrimal de Schirmer, biomicroscopia em lâmpada de fenda, tonometria de aplanção, oftalmoscopia binocular indireta e prova de fluoresceína⁵. Após a seleção, os animais foram identificados e mantidos em baias individuais apropriadas, com a alimentação e cuidados adequados. Inicialmente, realizaram-se úlceras experimentais, e os animais foram tranqüilizados com neuroleptoanalgesia - uma associação de butorfanol⁶ na dose de 2 ml com acepromazina⁷ a 1% na dose de 3 ml – por via intravenosa. Após alguns minutos, realizou-se bloqueio anestésico dos nervos auriculopalpebral e supraorbital com 5 ml de lidocaína⁸ a 2 %, sem vasoconstritor, promovendo analgesia e anestesia retrobulbar. A anestesia da córnea foi complementada com pomada oftálmica anestésica a base de prilocaína⁹. A trepanação das córneas foi realizada com um “punch” de 0,6 mm em posição de 12 horas, no eixo pupilar. Os dez olhos foram divididos em dois grupos: controle, composto pelos olhos direito, e tratamento, composto pelos olhos esquerdo. Para estes últimos, adotou-se um protocolo de instilação de colírio com associação de sulfato de condroitina “A” 20% e ciprofloxacina¹⁰, em intervalos de 12 horas, até retenção negativa de fluoresceína. Nos olhos direito, utilizou-se solução oftálmica estéril de tobramicina¹¹, na concentração de 0,3%, a cada 6 horas, até cicatrização das úlceras. Cada animal constituiu-se em uma unidade experimental, sendo seu próprio controle.

As córneas foram avaliadas diariamente com oftalmoscopia direta e prova de retenção de fluoresceína (figura 1) e, em dias alternados, com oftalmoscopia indireta e biomicroscopia em lâmpada de fenda durante 30 dias. Após o período de 30 dias, os eqüinos sofreram exame oftálmico quinzenal durante cinco meses.

5 Tiras de fluoresceína – Ophtalmos/PR

6 Torbugesic ® - Fort Dodge S.A.

7 Acepran ® - Univet S.A.

8 Lidocaína2% ® - Apsen do Brasil Ind. Quim. E Farm. Ltda.

9 Emla® - Astra Química e Farmacêutica Ltda.

10 Ciprovet ® - Labyes S.A.

11 Tobrex ® - Alcon Ltda.

RESULTADOS

Os olhos do grupo controle e os olhos do tratamento (100%) apresentaram blefarospasmo e fotofobia e 80% dos mesmos manifestaram epífora, com duração média de 3 dias. O desaparecimento destes sinais clínicos ocorreu, no grupo de cinco olhos tratados com associação de

sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina, dois dias antes do grupo controle, o qual permaneceu apresentando sinais de intensidade leve até o quinto dia (figura 2). A remissão do edema de córnea, observado em todos os olhos, ocorreu num período de três dias e num período médio de 5 dias, nos olhos tratado e controle, respectivamente.

No quinto dia de tratamento com associação de sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina, três olhos apresentaram preenchimento do leito da úlcera em plano estromal (figura 3), porém ainda positivo ao teste de fluoresceína. Os outros dois olhos apresentaram início de preenchimento da úlcera com tecido cicatricial a termo e, através da oftalmoscopia direta, observou-se leve neovascularização da córnea.

No décimo dia de tratamento com sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina, constatou-se em quatro olhos maior evolução da organização tecidual e ausência de leucoma (figura 4). Nesta fase, o quinto olho apresentou preenchimento do leito da úlcera por tecido cicatricial em plano epitelial. Com 16 dias de evolução do tratamento, 80% dos olhos tratados apresentaram completa cicatrização, constatada pelo resultado negativo da prova de fluoresceína. As córneas apresentavam-se transparentes, avasculares e sem leucoma. Os demais 20% tiveram a resolução da úlcera completada em média com 21 dias de tratamento. Todas as cicatrizações do grupo de tratamento ocorreram sem a formação de leucoma ou neovascularização.

Nos olhos do grupo controle, aos nove dias, observou-se 80% das córneas ainda ulceradas e início do preenchimento do leito da úlcera em 20% delas (figura 5). Em todos os olhos do grupo controle verificou-se edema e neovascularização intensos – "pannus". O início do preenchimento do leito das úlceras com tecido cicatricial e diminuição do "pannus" foi verificada após 10 e 15 dias de tratamento, respectivamente. A completa cicatrização das úlceras e o teste de retenção de fluoresceína negativo, somente foram verificados após 20 dias de tratamento com colírio de tobramicina. Com 30 dias, observava-se ainda a presença de discreto leucoma. Aos 90 dias de observação, notou-se transparência corneana completa, sem leucoma em quase todos os olhos do grupo controle e, aos cinco meses, verificou-se ainda em um olho, discreto leucoma.

DISCUSSÃO

A cicatrização corneana normal ocorre por meio de migração celular e mitose, que cobrem os pequenos e grandes defeitos, respectivamente. Sua ocorrência parece ser dependente da formação e adesão da membrana basal às células epiteliais da córnea. Esses eventos, por sua vez, são beneficiados pela fibronectina, importante glicoproteína envolvida na migração celular e capaz de promover um leito para as células epiteliais em regeneração aderirem-se ao estroma. No entanto, devido à susceptibilidade desta molécula às proteinases envolvidas na patogenia das lesões corneanas, o processo de cicatrização da córnea apresentar-se-ia prejudicado se sua destruição ocorresse. Muito embora, conforme conclusão de PHAN et al. (1989), a matriz fibrina-

fibronectina não seja essencial para a migração de células epiteliais em um modelo experimental de ferida superficial de córnea, o mesmo parece não acontecer na cicatrização de modelos de lesões envolvendo extenso dano tecidual infiltração de células inflamatórias.

Considerando-se que altos níveis de plasmina foram demonstrados em córneas humanas ulceradas (Salone apud WOUK et al., 1998) e, ainda, que isto poderia ocorrer também em córneas animais ulceradas, o uso de substâncias inibidoras da plasmina no tratamento dessas lesões, como os GAGPs, impediria a destruição da fibronectina e, portanto, permitiria a ocorrência do processo de cicatrização das células epiteliais da córnea em menos tempo, quando comparado ao tratamento convencional. Isto explicaria o menor período de tempo gasto na cicatrização das córneas ulceradas dos cavalos tratadas com sulfato de condroitina "A" e o percentual de sucesso de 80%, semelhante aos obtidos por MILLER (1996) e WOUK et al. (1998).

Após 24 horas da lesão corneana experimental, todos os animais apresentaram sinais clínicos compatíveis com ceratite ulcerativa, concordando com a descrição feita por KERN (1990). No entanto, não se observou uveíte reflexa em nenhum dos cavalos estudados. O blefarospasmo observado em todos os olhos e a fotofobia vista na maioria deles são sinais clínicos compatíveis com dor ocular e consequência do quadro inflamatório instalado. Por conseguinte, a redução destes sinais e da inflamação ocular ocorrida antecipadamente nos olhos do grupo tratado, é decorrente do uso dos GAGPs, sugerindo assim um efeito antiinflamatório tópico, conforme feito por MILLER (1996) e WOUK et al. (1998). Esta última ação dos GAGPs é explicada por sua capacidade de varrer radicais livres, diminuir a síntese de prostaglandina E₂, bloquear a ação do sistema do complemento e reduzir a produção de interleucina-1.

Outro importante efeito relacionado à utilização dos GAGPs refere-se à qualidade da cicatrização corneana. Nenhum dos olhos tratados com a associação de ciprofloxacina e sulfato de condroitina "A" (100%) apresentou opacidades como nébula, mácula ou leucoma ao final da cicatrização corneana.

Os resultados obtidos com a pesquisa permitiram concluir que a instilação tópica de uma associação de sulfato de condroitina "A" 20% com ciprofloxacina promove a cicatrização mais rápida de úlceras de córnea produzidas experimentalmente em cavalos, além de evitar a formação de cicatriz corneana e reduzir as manifestações oculares de origem inflamatória. Em decorrência dos bons resultados obtidos nessa e em outras pesquisas, os GAGPs têm se mostrado muito promissores no tratamento de alguns tipos de lesões corneanas. Portanto, novos estudos submetendo-s a novos desafios devem ser perseguidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREW, S.E., GELATT, K.N. Erosiones corneales persistentes em los perros. **Waltham Focus**, v. 11, n.1, p. 10-15, 2001.

- BANKS, W.J.. Olho e ouvido. In:_____. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2 ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 589-617.
- BARNETT, K.C., CRISPIN, S. M., LAVACH, J. D. et al. Cornea. In: **Equine Ophthalmology**. London: Mosby-Wolf, 1995, p.98-135.
- BURNS, F.R. et al. Inhibition of purified collagenase from alkali-burned rabbit corneas. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.30, n.7, p. 1569-1575, 1989.
- CLEGG, P.D. et al. The effects of drugs commonly used in the treatment of equine articular disorders on the activity of equine matrix metalloproteinase-2 and 9. **Journal Veterinary Pharmacology Therapeutics**, v. 21, p. 406-413, 1998.
- DAVIDSON, M.G. Equine Ophthalmology. IN: GELATT, K.N. **Veterinary Ophthalmology**. 2nd ed. London: Lea&Febiger, 1991. p.576-610.
- DAVIDSON, G. Glucosamine and chondroitin sulfate. **Compendium**, p. 454-458, 1999.
- DUA, H.S., AZUARA-BLANCO, A. Allo-limbal transplantation in patients with limbal stem cell deficiency. **Brazilian Journal Ophthalmology**, v. 83, p.414-419, 1999.
- HAAMANN, P. et al. Limbal autograf transplantation. **Acta ophthalmol. Scand.**, v. 76, p. 117-118, 1998.
- HAMOR, R. E., WHELAN, N.C. Equine Infectious keratitis. Clinical pharmacology and therapeutics. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 15, n3, p.623-646, 1999.
- HELPER, L.C. Diseases and surgery of the cornea and sclera. In: _____. **Magrane's Canine Ophthalmology**. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989. p.102-149.
- KERN, T.J. Ulcerative keratitis. **The Veterinary Clinics of North American Small Practice**, v. 20, n.3, p. 643-666, 1999.
- MILLER, W.W. Using polysulfated glycosaminoglycan to treat persistent corneal erosions in dogs. **Veterinary Medicine**, v. 91, p. 916-922, 1996.
- MORI, E. M.. et al. Fibronectina tópica no tratamento de úlceras de córnea de coelho após queimadura por álcali. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 56, n. 5, p. 254-257, 1993.
- NASSISSE, M.P. Canine ulcerative keratitis. **Compendium of Continuous Education**, v. 7, n. 9, p. 686-701, 1985.
- NISHIDA, T. et al. Fibronectin promotes epithelial migration of cultured rabbit cornea in situ. **The Journal of Cell Biology**, v. 97, n. 5, p. 1653-1657, 1983.
- PHAN et al. Role of fibronectin and fibrinogen in healing of corneal epithelial scrape wounds. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**.
- RASHIMIR – RAVEN, A.M. et al. Inhibition of equine complement activity by polysulfated glycosaminoglycans. **Americans Journal Veterinary Research.**, v. 53, n. 1, p. 87-90, 1992.
- SLATTER, D. Cornea and sclera. In: _____. **Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001. p.260-313.
- STARTUP, F.C. Corneal ulceration in the dog. *Journal Small Animal Practice*, v. 25, p. 737-752, 1984. HALL, P.A., WATT, F.M. Stem cells: the regeneration and maintenance of cellular diversity, **Development**, v. 106, p. 619-633, 1989.
- SWIFT, G.J. et al. Survival of rabbit limbal stem cell allografts. **Transplantation**, v. 62, n.5, p. 568-574, 1996.

WAGONER, M.D. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. **Survey Ophthalmology**. V. 41, n.4, p. 275-313, 1997.

WHITLEY, R.D. Canine corneas. In: GELATT, K.N. **Veterinary Ophthalmology**. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 307-356.

WHITLEY, R.D. Infectious disease and the eye. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 30 n. 5, p. 1098-1380, 2000.

WOUK, A.F.P.F. et al. Polysulfated glycosaminoglycans used for the treatment of indolent corneal ulcers in equine patients. **Rivista Società Italiana di Ippologia**, v. 4, n. 1, p. 87-90, 1998.

FIGURAS

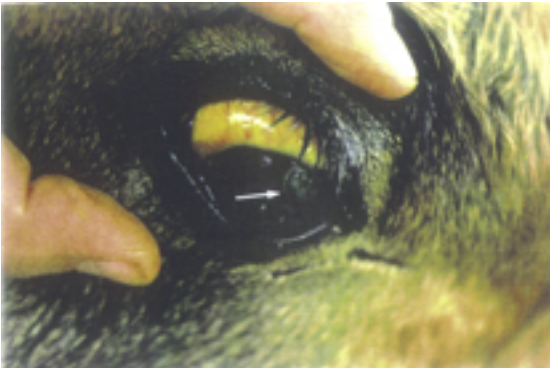


Figura 1. Imagem de olho equino com úlcera experimental de córnea corada pela fluoresceína (seta)

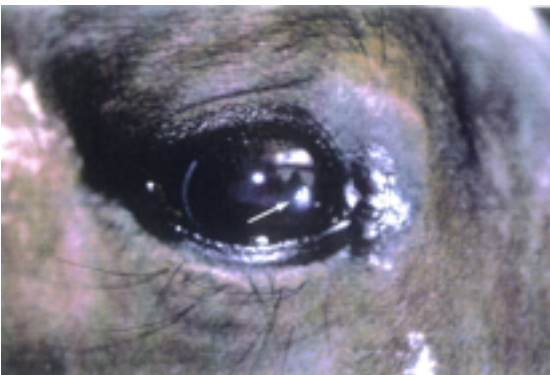


Figura 2. Imagem de olho direito (controle) eqüino com cinco dias de evolução: notar a presença de edema e úlcera com fundo transparente em posição de "11 horas" (seta)

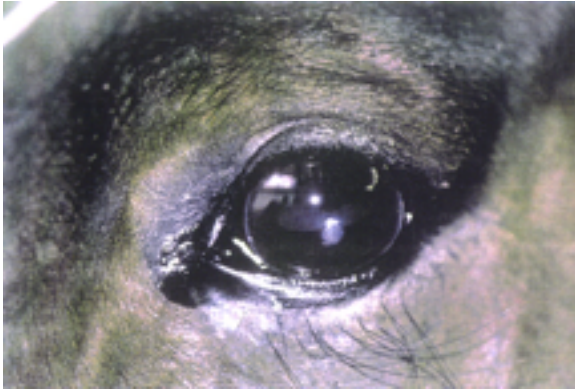


Figura 3. Imagem de olho esquerdo eqüino (tratamento com associação de sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina) com 5 dias de evolução: ausência de edema e epitelação presente.

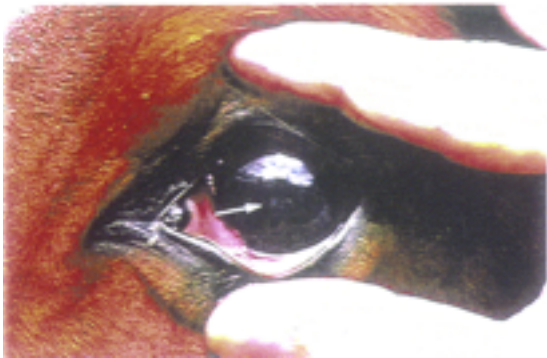


Figura 4. Imagem de olho esquerdo eqüino aos nove dias de tratamento com associação de sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina: notar cicatrização a termo com discreto leucoma (seta)



Figura 5. Imagem de olho direito (controle) eqüino aos dez dias de tratamento: notar presença de úlcera corneana recém epitelizada (seta)