

## GLAUCOMA EXPERIMENTAL NO CÃO

### EXPERIMENTAL GLAUCOMA IN THE DOG

Paulo Sérgio de Moraes BARROS<sup>1</sup>; Miguel Noel Nascimentos BURNIER JÚNIOR<sup>2</sup>;  
Sílvia Berlanga de Moraes BARROS<sup>3</sup>; José Ricardo Lima REHDER<sup>3</sup>

#### RESUMO

O glaucoma experimental foi produzido em animais como coelho e macaco na tentativa de explicar os mecanismos da doença. Modelos de glaucoma espontâneo também foram descritos. No presente trabalho a elevação da pressão intraocular (PIO) foi produzida em 12 cães por hemácia autóloga fixada em glutaraldeído injetada na câmara anterior do olho esquerdo, sob microscópio cirúrgico. O olho direito foi o controle. Tonometria pelo Schiøtz foi realizada a cada 24 horas com o animal em posição sentada. Com intervalos de tempo que variavam de 2 a 20 dias após a injeção os animais foram sacrificados, os olhos enucleados e congelados, medidos os diâmetros sagital e transversal e então fixados em solução de formol a 10% e os cortes corados pela hematoxilina-eosina para exame histológico. Em todos os animais a PIO foi maior quando comparado com os controles, o mesmo acontecendo com a medida dos diâmetros que foram também maiores. Os achados histológicos foram compatíveis com glaucoma.

**UNITERMOS:** Glaucoma; Cães

#### INTRODUÇÃO

Muitos dos conhecimentos das doenças dos olhos do homem advêm de modelos experimentais em animais. Embora existam diferenças anatômicas e fisiológicas entre o homem e as diferentes espécies animais, muitas das afecções oculares se processam de maneira similar, senão idêntica, fazendo dos modelos experimentais em animais, meio de real valor na elucidação de vários problemas. O glaucoma - aumento patológico da pressão intraocular (IOP) - é importante afecção do olho humano. Dentre os animais, o cão é o que apresenta maior incidência do glaucoma, particularmente em determinadas raças (GELATT<sup>4</sup>, 1981). As manifestações oculares do glaucoma são dependentes do tempo de evolução, duração e magnitude da elevação da IOP. Animais jovens rapidamente desenvolvem buftalmia que tende a proteger a retina e o disco óptico dos aumentos de IOP por período de tempo curto. Uma elevação crônica da IOP no cão pode ser tolerada por um período de tempo devido a buftalmia e as alterações compensatórias que o olho pode apresentar durante este tempo. Elevações agudas acentuadas da IOP podem rapidamente produzir alterações no globo ocular (GELATT<sup>4</sup>, 1981).

O glaucoma experimentalmente induzido tem sido desenvolvido para estudar os efeitos da elevação da IOP nos tecidos oculares, determinar a eficácia de medicamentos e/ou de tratamentos cirúrgicos na redução da IOP bem como os mecanismos de produção do glaucoma.

HUGGERT<sup>5</sup> (1957) conseguiu bloquear a drenagem de humor aquoso em coelhos mas com aumento não significativo

da IOP, enquanto KUPFER<sup>6</sup> (1962) obteve hipertensão intraocular em coelhos introduzindo tubo de polietileno no ângulo de drenagem da câmara anterior.

CARVALHO<sup>2</sup> (1962) injetando fragmentos de algodão na câmara anterior de coelhos elevou a IOP para 38-40 mmHg; nos animais em que o glaucoma persistiu por mais de 30 dias realizou estudo da retina e disco óptico. KALVIN et al.<sup>7</sup> (1966) produziu IOP elevada em macacos com injeção intraocular de talco ou cimento dentário.

A injeção de alfa-quimotripsina nos olhos pode produzir aumento favorável da IOP. Esta enzima dissolve a zônula do cristalino e estes fragmentos vão obstruir a malha do trabeculado. Esta técnica tem sido utilizada em primatas para estudo de alterações do nervo óptico e alterações vasculares (LESSEL; KUWABARA<sup>8</sup>, 1969). Elevação aguda da IOP menor que 10 mmHg foi observada em cães por BARRIE et al.<sup>1</sup> (1982) após injeção de 500 a 750 unidades de alfa-quimotripsina. A ciclocrioterapia causa uma elevação aguda da IOP em macaco Rhesus, tendo sido utilizada por MINCKLER et al.<sup>12</sup> (1976) para estudar o transporte axoplasmático de células ganglionares e posteriormente MINCKLER et al.<sup>11</sup> (1977) para o controle da elevação da IOP usando técnica de canulação e perfusão.

O "Laser" de argônio foi utilizado por GAASTERLAND e KUPFER<sup>3</sup> (1974) que obtiveram redução da drenagem do humor aquoso, por fotocoagulação repetida do ângulo iridocorneano.

1- Professor Associado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

2- Professor Adjunto - Escola Paulista de Medicina

3- Professor Associado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP

QUIGLEY e ADDICKS<sup>14</sup> (1980) descreveram um método para a produção experimental de glaucoma em macacos pela injeção, na câmara anterior, de hemácias autólogas fixadas em glutaraldeído. Em 1985, REHDER<sup>15</sup> modificou a técnica de Quigley e Addicks obtendo aumento constante e duradouro da pressão intraocular em coelhos.

Com exceção dos modelos de glaucoma espontâneo descrito em cães da raça Beagle (GELATT et al.<sup>3</sup>, 1981) nenhum outro método foi até agora proposto para induzir experimentalmente glaucoma em cães. A ausência deste modelo no cão impossibilitou até o momento o estabelecimento dos padrões de lesões das estruturas do globo ocular frente a elevações da pressão intraocular não só quanto à intensidade como quanto à duração do glaucoma.

Deste modo, propomo-nos a desenvolver técnica para o estabelecimento de glaucoma experimental no cão.

## MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 12 animais da espécie canina, 9 machos e 3 fêmeas, sem raça definida, adultos com idades variadas, pesando entre 8 e 12 kg, clinicamente sadios.

Tonometria por indentação de ambos os olhos foi realizada com o tonômetro de Schiøtz\*, utilizando-se a tabela de calibração preconizada por PEIFFER JÚNIOR et al.<sup>13</sup> (1977), antes e após a injeção de hemácias fixadas, com o animal em posição sentada, com o intervalo de 24 horas nas duas primeiras semanas e com intervalo de 7 dias até que a pressão intraocular (IOP) não mais fosse possível ser medida face a alterações da córnea.

Exame oftalmológico foi efetuado com o auxílio de lupa e foco de luz e biomicroscópio com lâmpada de fenda\*\*.

### Preparo das Hemácias

O sangue autólogo foi obtido da veia jugular em seringa heparinizada. Uma mistura de sangue total e sacarose 0,25M, na proporção de 1:4, foi centrifugada durante 15 minutos a 1000 rpm. O precipitado contendo as hemácias foi ressuspensão em sacarose 0,25M na proporção de 1:4 e a centrifugação repetida. As hemácias foram então fixadas com 10 vezes seu volume com solução de glutaraldeído 5% em tampão fosfato pH 7,0 por uma hora. Após centrifugação as hemácias foram lavadas 7 vezes em salina 0,9% estéril para remoção do fixador. As hemácias foram ressuspensas em igual volume de solução de cloreto de sódio 0,9% estéril e assim utilizadas.

### Injeção Intracamerular de Hemácias

Foi realizada a injeção de 0,5 ml da suspensão de hemácias fixadas na câmara anterior através de paracentese do olho esquerdo, sob microscópio cirúrgico\*\*\*, permanecendo o olho direito como controle.

Para testar a inoquidade da solução usada para ressuspender as hemácias, injetamos 0,5 ml do sobrenadante da solução de hemácias, obtida por decantação, na câmara anterior do olho direito de 2 animais.

### Medida dos Diâmetros Oculares

Após o sacrifício, ambos os olhos foram enucleados e congelados, e os diâmetros transversal e sagital medidos.

As variações dos diâmetros foram analisadas estatisticamente aplicando-se o teste "t" de Student, considerando-se o nível de significância de 5%.

### Exame Histopatológico

Os olhos foram fixados em formol 10% tamponado, pH 7,0, por período de 48 horas, desidratados e incluídos em parafina. Cortes de 4µ de espessura foram corados pela hematoxilina-eosina.

## RESULTADOS

As medidas da pressão intraocular (IOP) estão apresentadas nas Fig. 1,2 e 3. O máximo IOP obtida foi de 88,3 mm de Hg. Todos os animais desenvolveram aumento de IOP a partir de 24 horas após a injeção de hemácias fixadas e esta se manteve por no mínimo 5 dias e no máximo de 21 dias (tempo máximo de observação).

As medidas dos diâmetros sagital e transversal estão representadas na Tab. 1. Estes sofreram aumentos de 2 a 8,5 mm (sagital) e 1 a 4 mm (transversal). Quando cotejados seus valores com os dos olhos controle, constatamos que houve aumento estatisticamente significativo ao nível de 5%.

Os achados anátomo-patológicos incluíram: a) Hemácias na câmara anterior; b) Catarata e aumento da profundidade da câmara anterior; c) Vacuolização das células epiteliais pigmentadas do corpo ciliar; d) Descolamento setorial da retina desorganizada com perda de células ganglionares.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O estabelecimento do glaucoma experimental no cão ainda não foi relatado na literatura, embora tal patologia seja ainda um desafio, não só para a medicina humana como para a veterinária, constituindo, seu estudo, importante meta de vários centros de pesquisa.

No presente trabalho descrevemos um modelo experimental para produção de glaucoma no cão através de método já descrito em outras espécies como o macaco (QUIGLEY; ADDICKS<sup>14</sup>, 1980) e o coelho (REHDER<sup>15</sup>, 1985).

Embora não tenha sido possível medir adequadamente as pressões intraoculares por muitos dias, pois a alteração corneana foi de tal monta que a tonometria de indentação não foi capaz de, após o prazo máximo de 21 dias, ser realizada, obtivemos resultados de aumento de pressão compatíveis com

\* Tonômetro de indentação - Riester - West Germany

\*\* LF-M2 - D.F. Vasconcellos

\*\*\* MC M9 - D.F. Vasconcellos (auxílio CNPq - Proc. 403412/84)

TABELA 1

Medidas dos diâmetros sagital e transversal em milímetros, dos olhos direito (OD) (controle) e esquerdo (OE) (experimental) com suas médias e desvios padrões. São Paulo, 1992.

| Nº do Animal    | Diâmetro Sagital      |                |               | Diâmetro Transversal  |                |               |
|-----------------|-----------------------|----------------|---------------|-----------------------|----------------|---------------|
|                 | O.D.                  | O.E.           | Diferença     | O.D.                  | O.E.           | Diferença     |
| 01              | 21                    | 24             | 4             | 21,5                  | 23             | 1,5           |
| 02              | 23                    | 25             | 2             | 23                    | 24             | 1             |
| 03              | 22,5                  | 31             | 8,5           | 23                    | 26,5           | 3,5           |
| 04              | 22,5                  | 27,5           | 5             | 22                    | 26             | 4             |
| 05              | 22                    | 28             | 6             | 22                    | 24             | 2             |
| 06              | 21                    | 29             | 8             | 21,5                  | 24             | 2,5           |
| 07              | 21                    | 26,5           | 5,5           | 22                    | 25             | 3             |
| 08              | 21                    | 29             | 8             | 21                    | 24             | 3             |
| 09              | 21,5                  | 25             | 4,5           | 21                    | 22,5           | 1,5           |
| 10              | 21                    | 28             | 7             | 22                    | 24,5           | 2,5           |
| 11              | 20                    | 23             | 3             | 20                    | 23             | 3             |
| 12              | 20                    | 24             | 4             | 20                    | 22             | 2             |
| $\bar{x} \pm S$ | $21,4 \pm 1,0$        | $26,8 \pm 2,4$ | $5,5 \pm 2,1$ | $21,6 \pm 1,0$        | $24,0 \pm 1,3$ | $2,5 \pm 0,9$ |
|                 | % de aumento<br>25,5% |                |               | % de aumento<br>11,4% |                |               |

S= desvio padrão

aqueles achados em cães com glaucoma clínico. Tal modelo se presta principalmente ao estudo do glaucoma agudo por obstrução do trabeculado, uma vez que todos os animais apresentavam aumento da pressão intraocular após 24 horas da injeção intracamerular de hemácias fixadas.

Os diâmetros tanto sagital quanto transversal aumentados são compatíveis com o que ocorre normalmente no curso do glaucoma no cão, por peculiaridade da estrutura da esclera, à semelhança do que ocorre nas crianças, em que a buphtalmia é achado freqüente (MAGRANE<sup>10</sup>, 1957).

Os achados anátomo-patológicos se relacionam com os sinais clínicos observados nos diferentes cães. As hemácias fixadas contidas na câmara anterior demonstram que estas não são drenadas rapidamente, ao permanecendo por período de tempo por nós não determinado, provavelmente obstruindo o ângulo iridocorneano.

A catarata observada macro e microscopicamente denota alteração do metabolismo do epitélio da cápsula anterior, o que é esperado quando se aumenta a tensão intraocular.

Uma câmara anterior mais profunda com abaulamento posterior da íris ocorre em consequência da estagnação do humor aquoso nas câmaras, uma vez que este não consegue atravessar o trabeculado e ganhar o plexo venoso da esclera. Um achado não explicado foi a vacuolização das células epiteliais do corpo ciliar embora sendo encontro freqüente e relatado nos tratados de patologia ocular.

A escavação do disco óptico, achado auxiliar no diagnóstico do glaucoma, foi alteração encontrada em todos os animais, bem como gliose do nervo óptico, desorganização da retina e perda das células ganglionares.

Podemos concluir que a injeção intracamerular de hemácias fixadas constitui modelo experimental, embora limitado, de

produção de glaucoma no cão e que poderá levar à luz conhecimentos da etiopatogenia e fisiopatologia desta doença que aflige não só os animais como o próprio homem.

## SUMMARY

Experimental glaucoma was produced in rabbits and monkeys as an effort to explain the mechanisms of this disease. Spontaneous animal model of glaucoma has also been used. Many techniques were employed to produce chronic intraocular pressure (IOP) elevation. Fixed autologous red blood cells were used to produce elevated IOP in rabbits and monkeys. In this paper we present the results of the elevation of the IOP in 12 mongrel dogs injecting autologous red blood cells (RBC) fixed in 5% glutaraldehyde in phosphate buffer pH 7.0. The RBC were injected into the left eye following paracentesis and under surgical microscope. The right eyes were controls. Schiøtz tonometry was performed, each 24 hours, with the dog in the sitting position. The calibration table Schiøtz tonometry in dogs from PEIFFER JUNIOR et al.<sup>13</sup> (1977) was used. The enucleated eyes were freezeed and measured the sagittal and transversal diameters. The eyes were fixed in 10% formalin and sections were stained with hematoxylin-eosin for histological examination. The fixed RBC injected into the anterior chamber produced elevation in the IOP with buphtalmus and keratitis. The IOP was increased in all dogs when compared with the controls, the same occurred with the eyes diameters. The pathologic findings were suggestive of glaucoma.

UNITERMS: Glaucoma; Dogs

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-BARRIE, K.P.; GELATT, K.N.; GUM, G.G.; SAMUELSON, D.A. Effects of alpha chymotrypsin on the canine eye. *Amer. J. vet. Res.*, v. 113, p. 207-16, 1982.

- 02-CARVALHO, C.A. Histopathology of the retina and optic nerve with experimental glaucoma. *Arch. Ophthalm.*, v. 67, p. 123-6, 1962.
- 03-GAASTERLAND, D.; KUPFER, C. Experimental glaucoma in the rhesus monkey. *Invest. Ophthalm.*, v.13, p. 455-7, 1974.
- 04-GELATT, K.N. The canine glaucomas. In: GELATT, K.N., ed. *Textbook of veterinary ophthalmology*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1981. p. 390.
- 05-GELATT, K.N.; GUM, G.G.; GWIN, R.M.; BROMBERG, N.M.; MERIDETH, R.E.; SAMUELSON, D.A. Animal model of human disease. Primary open angle glaucoma. Inherited primary open angle glaucoma in the Beagle. *Amer. J. Path.*, v.102, p. 292-5, 1981.
- 06-HUGGERT, A. Obstruction of the outflow of aqueous humor produced experimentally. *Acta Ophthalm.*, v. 35, p. 1-11, 1957.
- 07-KALVIN, N.H.; HAMASAKI, D.I.; GASS, J.D.M. Experimental glaucoma in monkeys. II. Studies of intraocular vascularity during glaucoma. *Arch. Ophthalm.*, v. 76; p. 82-94, 1966.
- 08-KUPFER, C. Studies of intraocular pressure. II. The histopathology of experimentally increased intraocular pressure in the rabbit. *Invest. Ophthalm.*, v.1. p. 445-79, 1962.
- 09-LESSEL, S.; KUWABARA, T. Experimental alpha-chymotrypsin glaucoma. *Arch. Ophthalm.*, v. 81, p. 853-69, 1969.
- 10-MAGRANE, W.G. Canine glaucoma. I. Methods of diagnosis. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, v. 131, p. 311-4, 1957.
- 11-MINCKLER, D.S.; BUNT, A.J.; JOHANSON, G.W. Orthograde and retrograde axoplasmic transport during acute ocular hypertension in the monkey. *Invest. Ophthalm. Visual Sci.*, v. 16, p. 426-41, 1977.
- 12-MINCKLER, D.S.; TSO, M.O.M.; ZIMMERMAN, L.E. A light microscopic autoradiographic study of axoplasmic transport in the optic nerve head during ocular hypotony, increased intraocular pressure and papilledema. *Amer. J. Ophthalm.*, v. 82, p. 741-57, 1976.
- 13-PEIFFER JÚNIOR, R.L.; GELATT, K.N.; JESSEN, C.R.; GUM, G.G.; GWIN, R.R.; DAVIS, J. Calibration of the Schiøtz tonometer of the normal canine eye. *Amer. J. vet. Res.*, v. 38, p. 1881-9, 1977.
- 14-QUIGLEY, H.A.; ADDICKS, E.M. Chronic experimental glaucoma in primates. I. Production of elevated intraocular pressure by anterior chamber injection of autologous ghost red blood cells. *Invest. Ophthalm. Visual Sci.*, v. 19, p. 126-36, 1980.
- 15-REHDER, J.R.C.L. Método simplificado para o desenvolvimento do glaucoma experimental. *Arq. bras. Oftalm.*, v. 48, p. 6-8, 1985.

Recebido para publicação em 05/06/92  
Aprovado para publicação em 15/12/92

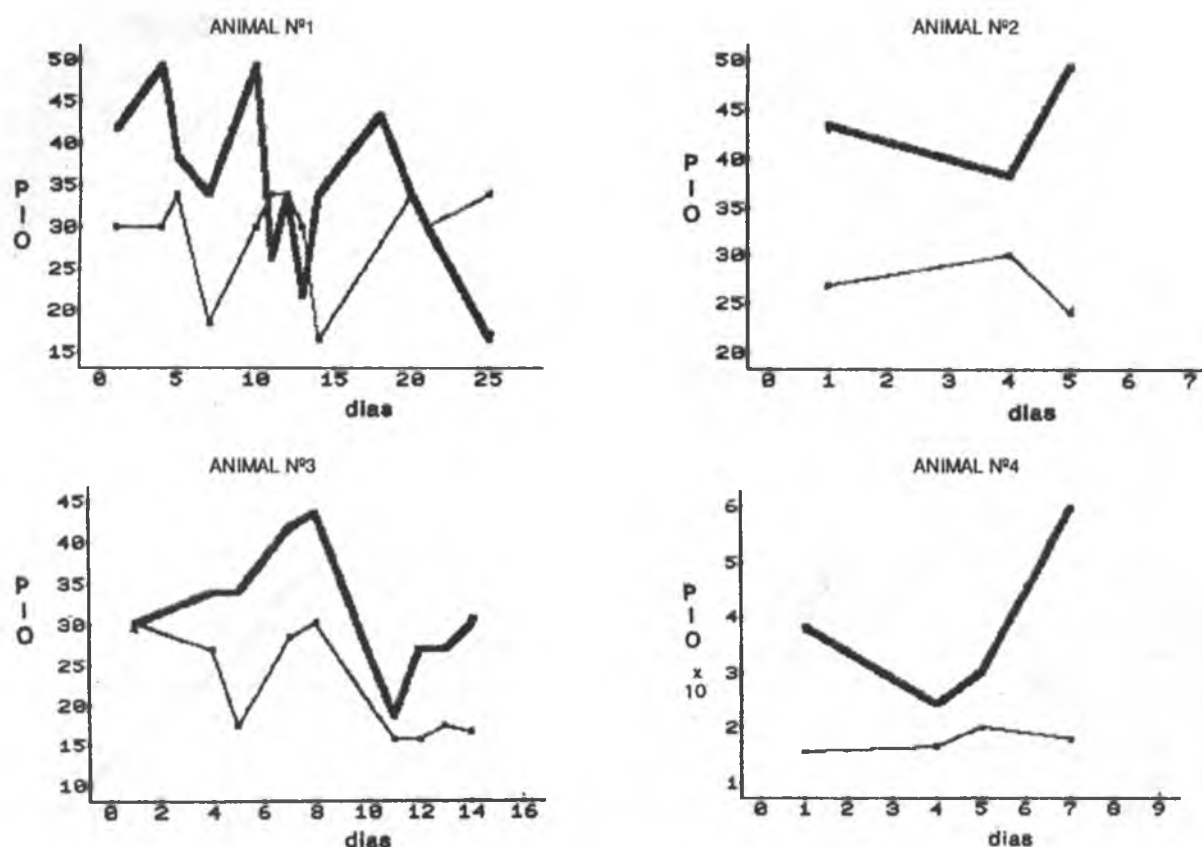


FIGURA 1  
Gráficos dos valores das pressões intraoculares (PIO), em mm de Hg, dos animais 1 a 4.

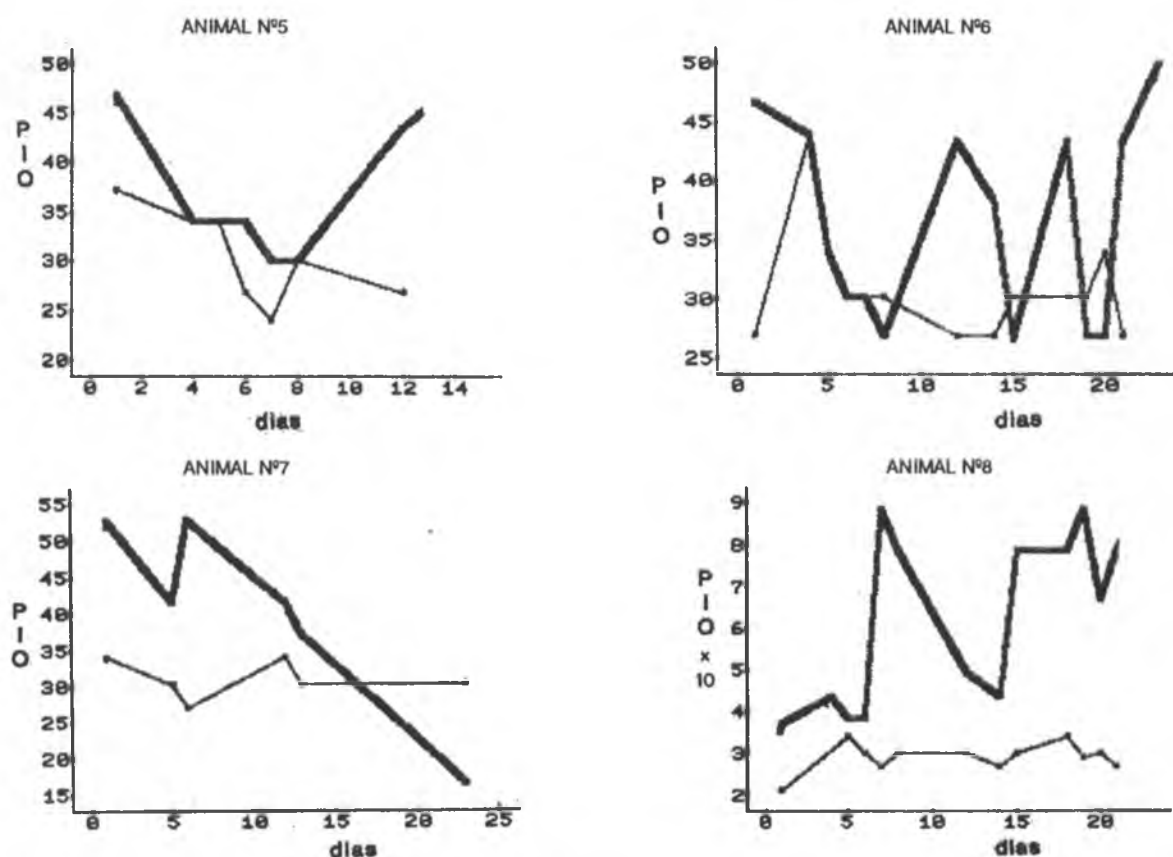
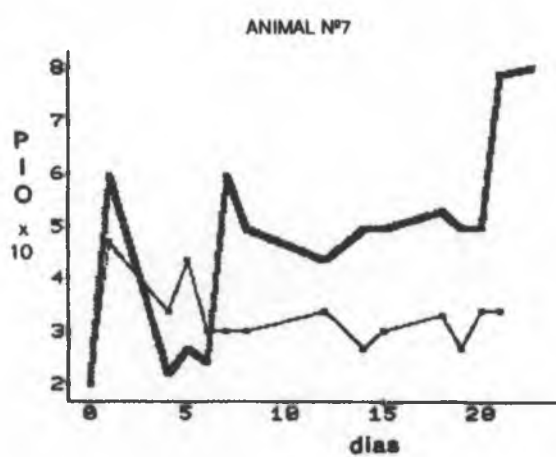


FIGURA 2  
Gráficos dos valores das pressões intraoculares (PIO), em mm de Hg, dos animais 5 a 8.

O gráfico do Animal nº 7, Figura 2, p.37, v.30, n.1, 1993, deverá ser substituído por:



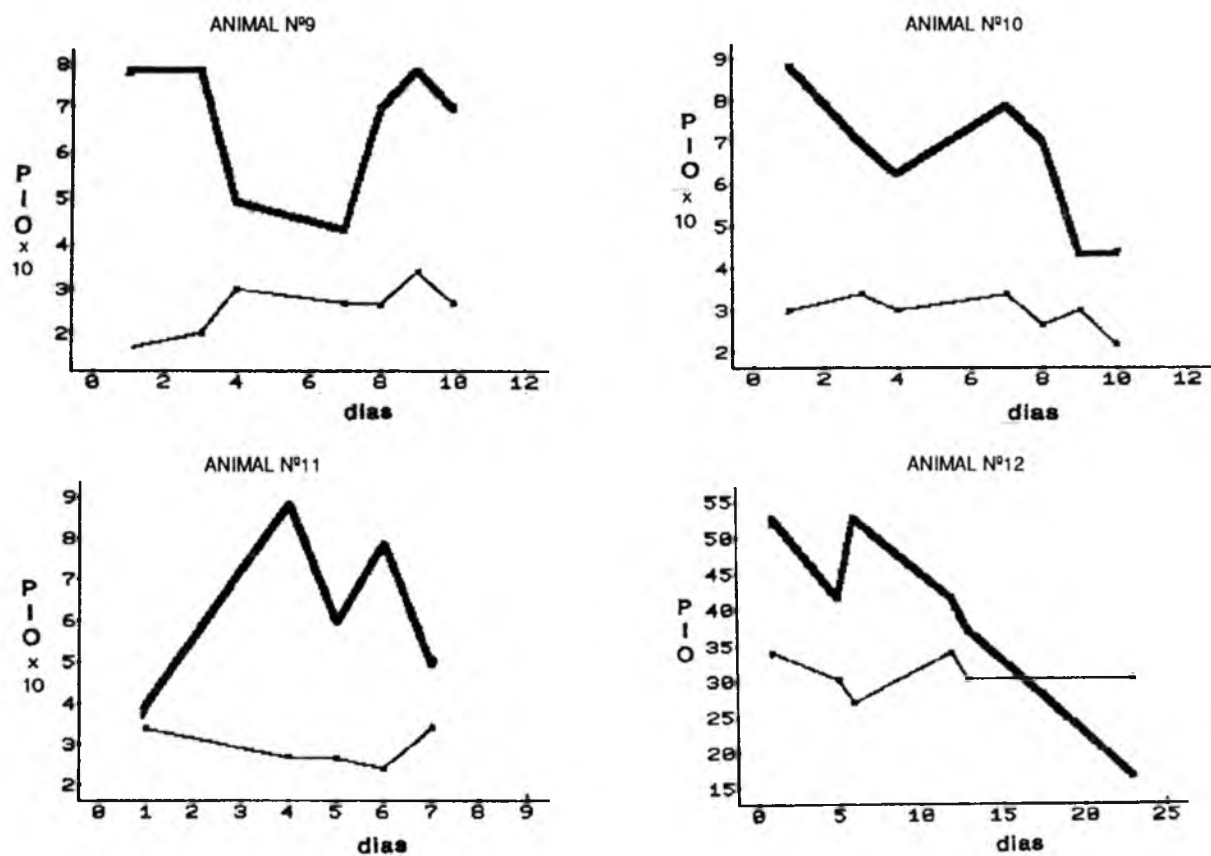


FIGURA 3  
Gráficos dos valores das pressões intraoculares (PIO), em mm de Hg, dos animais 9 a 12.