



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE
EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES COM PROTRUSÃO DA GLÂNDULA
LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA**

Maria Caroline Pereira Brito

Areia/PB

Julho de 2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE
EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES COM PROTRUSÃO DA GLÂNDULA
LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA**

Maria Caroline Pereira Brito

Orientadora: Prof. Dra. Danila Barreiro Campos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

B862a Brito, Maria Caroline Pereira.

Avaliação das alterações morfológicas e tempo de
exposição glandular em cães com protrusão da glândula
lacrimal da terceira pálpebra / Maria Caroline Pereira
Brito. - Areia, 2019.
36 f. : il.

Orientação: Profa Dra Danila Barreiro Campos Campos.
Coorientação: Profa Dra Ivira Carmen Talieri Talieri.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/Cca.

1. Cherry eye; acinos; ducto glandular. I.
Campos,
Profa Dra Danila Barreiro Campos. II. Talieri, Profa
Dra Ivira Carmen Talieri. III. Título.

UFPB/BC

MARIA CAROLINE PEREIRA BRITO

**CORRELAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E
TEMPO DE EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES COM
PROTRUSÃO DA GLÂNDULA LACRIMAL DA TERCEIRA
PÁLPEBRA**

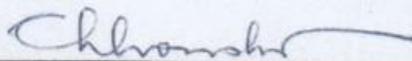
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração Saúde Animal no Brejo Paraibano.

APROVADA EM 30/07/2019

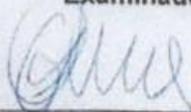
BANCA EXAMINADORA



Dra. IVIA CARMEM TALIERI
UFPB
Coorientadora



Dra. CRISTIANE DOS SANTOS HONSHO
Examinadora



Dra. GISELE DE CASTRO MENEZES
Examinadora

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Maria Caroline Pereira Brito - nascida em 06 de março de 1986, na cidade de Monteiro-Paraíba. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia – PB, em 2016 e Pós-graduação em Dermatologia Veterinária pela Equalis, Recife-Pernambuco, em 2018. É membro da Comissão de Ética, Bioética e Bem –estar Animal do Conselho Regional de Medicina Veterinária da Paraíba, desde 2016. Bombeira Militar desde 2011 e atualmente é Médica Veterinária do Departamento de Operações com Cães do Corpo de Bombeiros Militar da Paraíba. Possui experiência nas áreas de clínica médica, oftalmologia e dermatologia veterinária de cães e gatos, além de experiência na utilização de cães de busca e resgate de pessoas perdidas e corpos, em estruturas colapsadas, matas, desmoronamentos e alagamentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que foi minha maior fortaleza nos momentos de angústia e desespero, meu incentivo para não desistir. Sem ELE, nada disso seria possível.

À minha mãe Margarete (*in memoriam*), que lutou para que pudesse ter uma educação de qualidade, torcia por um futuro brilhante para seus filhos, me fez estudar para buscar sempre o melhor como profissional. Ao meu irmão Augusto que foi meu maior incentivo a batalhar depois da morte da nossa mãe.

Agradeço a todos professores que tive a satisfação de conhecer durante o curso, em especial à professora Ivya Carmem Talieri, que simplesmente fez o papel de mãe adotiva e cuidou da minha orientação nesse projeto para que pudesse chegar ao final de forma tão plena, obrigada pela incansável dedicação e confiança. Aos professores Danila Campos e Ricardo Guerra, por toda ajuda ofertada aos trabalhos de pesquisa e na minha formação.

Aos colegas que trabalham no Hospital Veterinário de Areia, onde tive a honra de participar e ter o apoio de todos para que a pesquisa e experimento se realizasse da melhor forma possível. Aos residentes do hospital que deram sua contribuição de forma brilhante. Em especial ao colega Edjânio que foi peça fundamental para o término das análises, e com sua competência auxiliou em tudo.

Um agradecimento especial a todos os colegas de curso, que deixaram as aulas, projeto e experimento muito melhor, auxiliando em cada etapa a ser executada.

Agradeço ao meu marido Daniel Alisson, que ao longo desses meses foi compreensivo com minha ausência e me ajudou em diversos momentos.

Não posso deixar de agradecer imensamente a todos os animais que participaram desta pesquisa, sem eles nada seria possível. E aos tutores que confiaram no nosso trabalho.

A todos um abraço e um muito obrigado por tudo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	9
Resumo	9
Abstract	10
Considerações Gerais	11
Capítulo I	16
AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES PROTRUSÃO DA GLÂNDULA LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA	16
RESUMO	17
ABSTRACT	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL e MÉTODOS	19
RESULTADOS	23
DISCUSSÃO	27
CONCLUSÕES	29
REFERÊNCIAS	30
Considerações Finais	32
Anexo	33
Referências	34

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Bulldog francês, macho, 10 meses de idade, com protrusão unilateral da glândula lacrimal da terceira pálpebra há dois meses..... 20
- Figura 2-** Média dos valores do teste lacrimal de Schirmer tipo 1 em 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula da terceira pálpebra. 23
- Figura 3 –** Média do tamanho da área dos ácinos da glândula lacrimal da terceira pálpebra em 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra..... 24
- Figura 4 -**Média da espessura da parede da glândula dos 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula da terceira pálpebra. 25
- Figura 5-** Fotomicrografias de glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão (A: 0-6 meses; B: 7-12 meses; C: acima de 12 meses de protrusão). Observar que o epitélio (linha preta) das glândulas do grupo “A” é mais espesso que nos demais grupos (B, C). Observar também que em média, as glândulas (asterisco) do grupo “A” tem maior área que as dos demais grupos (B, C). Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 400x. 25
- Figura 6 -** Fotomicrografias representativas de glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão. Observar que quando da protrusão há um acúmulo de tecido conjuntivo (asteriscos) periglandular levando a uma hipertrofia glandular. Coloração de Picrossírius. Aumento de 400x..... 26
- Figura 7 -** Infiltrado inflamatório misto moderado, composto por linfócitos (seta grossa), plasmócitos (seta média) e neutrófilos (seta fina) em canino com protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra há mais de 12 meses. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 1000x. 26
- Figura 8 -** Fotomicrografias de imunohistoquímica para anti-PCNA (positividade nuclear) em glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão. (A: 0-6 meses; B: 7-12 meses; C: acima de 12 meses de protrusão; D: Controle negativo). Poucas células PCNA positivas (pontas de setas), ou seja, escassas células do epitélio glandular encontravam-se em proliferação celular nos diferentes grupos. Coloração de hematoxilina + cromófo DAB (diaminobenzidina). Aumento de 400x. 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Raça, sexo , idade, olho acometido (*) e valores do teste lacrimal de Schirmer tipo 1 (TLS-1) dos cães dos Grupos 1, 2 e 3, mensurados no dia da realização do procedimento cirúrgico para sepultamento da glândula lacrimal da terceira pálpebra e 15 dias após, em mm/minuto.....	24
---	----

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES COM PROTRUSÃO DA GLÂNDULA LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA

Resumo Geral

A protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra é uma afecção de etiologia incerta, comum em cães jovens. Acredita-se que ocorram inflamação e enfraquecimento do tecido conjuntivo que fixa anatomicamente a glândula lacrimal aos tecidos periorbitais, expondo-a e sendo capaz de produzir alterações patológicas no tecido glandular e, conseqüentemente, interferindo na produção do filme lacrimal. O estudo teve o propósito de correlacionar o tempo de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra às alterações morfométricas decorrentes no tecido glandular e seus efeitos sobre a produção lacrimal. Foram analisadas 18 glândulas de 15 cães (oito fêmeas e sete machos) portadores de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra, hígdios, com idade, peso e raça variados. Os cães foram divididos em três grupos de acordo com o tempo de exposição da glândula. O Grupo 1 foi composto por cães com até seis meses de protrusão, o Grupo 2, por cães com sete a 12 meses de protrusão e o Grupo 3 por animais que apresentavam a doença há mais de 12 meses. Em todos os cães foi realizado o reposicionamento glandular utilizando-se a técnica de Morgan. Com os animais anestesiados, imediatamente antes do sepultamento cirúrgico, procedeu-se à coleta de um fragmento da glândula para a análise histopatológica e morfométrica. O Grupo 1 apresentou maior área e maior espessura dos ácinos glandulares, comparativamente aos Grupos 2 e 3. O Grupo 3 apresentou menor produção de lágrima de acordo com o teste de Schirmer, comparativamente aos Grupos 1 e 2. Houve predominância de hipertrofia celular nos tecidos analisados. O Grupo 3 apresentou infiltrado inflamatório de moderado a acentuado. Para a produção de colágeno não foi encontrada diferença significativa entre os grupos. A exposição da glândula lacrimal da terceira pálpebra pode reduzir a produção da lágrima, e esta alteração parece ser diretamente proporcional ao tempo de exposição da glândula, com atrofia dos ácinos glandulares e diminuição da área de tecido secretor da lágrima. Desta forma, salienta-se a relevância do reposicionamento cirúrgico precoce da glândula.

Palavras-chave: *Cherry eye*; ácinos; ducto glandular.

EVALUATION OF MORPHOMETRIC CHANGES AND GLANDULAR EXPOSURE TIME IN DOGS WITH THIRD EYELID GLAND PROTRUSION

Abstract

Third eyelid gland protrusion is a condition of uncertain etiology, common in young dogs. It is believed that inflammation and weakening of the connective tissue that anatomically fixes the lacrimal gland to the periorbital tissues occurs, exposing it and triggering pathological changes in the glandular tissue, which will consequently interfere in the tear film production. The purpose of the study was to correlate the protrusion time of the third eyelid gland to the morphometric changes that occurred in the glandular tissue and its effects on lacrimal production. Eighteen glands of 15 dogs (eight females and seven males) with third eyelid gland protrusion were analyzed. The animals were healthy, with varying age, weight and breed. The dogs were divided into three groups according to the time of exposure of the gland. Group 1 was composed of dogs with up to six months of protrusion, Group 2, by dogs with seven to 12 months of protrusion and Group 3 by animals that had the disease for more than 12 months. In all dogs the glandular repositioning was performed using the Morgan technique. During anesthesia, immediately before surgical burial, a fragment of the gland was collected for histopathological and morphometric analysis. Group 1 presented a larger area and greater thickness of glandular acini, compared to Groups 2 and 3. Group 3 presented lower tear production according to the Schirmer test, compared to Groups 1 and 2. There was a predominance of cellular hypertrophy. Group 3 presented moderate to severe inflammatory infiltrate. No significant difference was found between groups in relation to collagen production. Exposure of the lacrimal gland of the third eyelid may reduce tear production, and this change seems to be directly proportional to the time of exposure of the gland, with atrophy of the glandular acini and decrease of the area of tear secreting tissue. Thus, the relevance of early surgical repositioning is emphasized.

Keywords: Cherry eye; acini; glandular duct.

Considerações Gerais

A terceira pálpebra em cães, ou membrana nictitante, faz parte da porção secretora do aparelho lacrimal e está localizada entre a pálpebra inferior e o bulbo do olho, possuindo em seu interior, uma cartilagem em formato de 'T' que provê sua sustentação (SLATTER, 2005; COLITZ *et al.*, 2008). A glândula lacrimal da terceira pálpebra situa-se na porção ventral do eixo vertical da cartilagem, posterior ao arco orbital, tão profundamente que não pode ser visibilizada quando em sua posição anatômica (GIULIANO, 2013). A face convexa da conjuntiva da terceira pálpebra é contígua à conjuntiva da pálpebra inferior, sendo chamada de face palpebral, e a parte côncava está em contato com o bulbo do olho, denominada de face bulbar (MOORE *et al.*, 1996; SLATTER, 2005; COLITZ *et al.*, 2008).

A defesa mecânica da superfície ocular é uma das principais funções da terceira pálpebra, que se projeta no sentido dorsolateral quando o olho é retraído pelo músculo retrator do bulbo ocular. A sua movimentação é passiva, pois a terceira pálpebra é desprovida de musculatura (GIULIANO, 2013). A terceira pálpebra também auxilia as pálpebras superior e inferior a distribuir o filme lacrimal sobre a córnea, fazendo a remoção de debris celulares e sujidades (MOORE, 1998; SLATTER, 2005). Além disso, a sua glândula lacrimal produz uma proporção significativa do total da lágrima produzida no olho (30% da porção aquosa do filme lacrimal precorneal), sendo o restante 70% produzido pela glândula lacrimal principal, situada na periórbita (STADES *et al.*, 1999; SLATTER, 2005).

A presença de tecido linfóide na constituição tecidual da terceira pálpebra auxilia nos mecanismos de defesa imunológica da superfície ocular, produzindo anticorpos e lisozima que se integram à lágrima. O anticorpo predominante é a imunoglobulina A, secretada pelas células gigantes e conferem imunidade humoral (GIULIANO, 2013).

O filme lacrimal precorneal, ou simplesmente lágrima, é composto por três camadas com diferentes composições: uma camada superficial externa de lipídios, produzida pelas glândulas tarsais; uma camada intermediária, formada basicamente por 98,2 % de água e 1,8 % de sólidos, produzida pelas glândulas lacrimais principal e da terceira pálpebra; e a camada mais interna, consistindo de mucina, produzida pelas

células caliciformes da conjuntiva (SLATTER, 2005; COLITZ *et al.*, 2008; GIULIANO, 2013).

A quantidade de filme lacrimal produzida é mensurada pelo teste lacrimal de Schirmer (TLS). O teste é composto por tiras milimetradas de papel filtro Whatman n.41, colocadas no saco conjuntival inferior durante um minuto para medir a produção lacrimal neste intervalo de tempo, em mm/minuto. O TLS tipo 1 é realizado sem anestesia tópica, medindo as produções basal e reflexa, e o TLS tipo 2 é conduzido com o uso de colírio anestésico, instilado anteriormente para abolir a produção reflexa de lágrima pela presença da tira do teste (SLATTER, 2005; GIULIANO, 2013). No TLS tipo 1 valores abaixo de 5 mm/min confirmam o diagnóstico de ceratoconjuntivite seca no cão e valores menores do que 10 mm/min, associados aos sinais clínicos, são considerados suspeitos para a doença. Dessa maneira, para a espécie canina, os valores normais do TLS-1 é de $18,64 \pm 4,47$ mm/min a $23,90 \pm 5,12$ mm/min, de acordo com Giuliano (2013).

As glândulas exócrinas, das quais fazem parte as glândulas lacrimais, podem ser unicelulares e multicelulares, apresentando o parênquima como tecido funcional. Elas são formadas por dois componentes, as unidades secretoras, que sintetizam e secretam substâncias, e os ductos secretores que transportam a secreção para a superfície epitelial. As glândulas com um único ducto não ramificado são chamadas de glândulas simples. Já as maiores possuem um sistema de glândulas compostas, as quais são envolvidas por uma cápsula de tecido conjuntivo que envia septos para o interior do parênquima glandular, tornando-o subdividido em lobos. Os septos mais finos dividem os lobos em unidades menores denominadas lóbulos (GENESER, 2003; KIERSZENBAUM, 2008).

Histologicamente, as glândulas lacrimais são constituídas por unidades secretoras, ductos e tecido conjuntivo de sustentação (DUGAN, 1992; CORMACK, 1996; SLATTER, 2005, CABRAL *et al.*, 2005; GIULIANO, 2013). Os ductos e unidades secretoras das glândulas lacrimais, que são componentes epiteliais, compõem o parênquima glandular. O estroma, que é formado por tecido conjuntivo frouxo a denso, inclui vasos sanguíneos e nervos (CORMACK, 1996). Nos quadros de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra, a exposição glandular continuada pode suscitar alterações celulares como hiperplasia e/ou hipertrofia e adenite discreta (READ *et al.*, 1996).

A glândula lacrimal da terceira pálpebra é do tipo acinosa serosa com células mioepiteliais, configuradas por lobos, separados com ductos excretores. Estas glândulas

recebem estímulos aferentes de fibras nervosas simpáticas e parassimpáticas. No momento das incursões palpebrais, o movimento de piscar dos olhos produz compressão suave e a lágrima é liberada, mantendo a superfície conjuntival e a córnea umedecidas, além de remover as sujidades (GENESER, 2003; KIERSZENBAUM, 2008).

Na classificação histológica, a glândula lacrimal é considerada uma glândula tubular constituída somente por células glandulares serosas em suas terminações secretoras. As células mioepiteliais, citadas anteriormente, encontram-se inseridas nestas porções terminais secretoras e nos condutos excretores, entremeadas entre as células epiteliais e a membrana basal, e todos são envolvidos em estroma de tecido conjuntivo, que costuma ser rico em linfócitos e plasmócitos, os quais são, também, liberados no filme lacrimal (GENESER, 2003).

A protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra é uma afecção comum em cães, e rara em gatos, causada por processos de hiperplasia e de hipertrofia glandular, sendo também denominada de *cherry eye*, em virtude de sua aparência arredondada e de coloração aververmelhada (CHAHORY *et al.*, 2004; SLATTER, 2005; COLITZ *et al.*, 2008, GIULIANO, 2013).

A etiologia ainda é desconhecida, contudo, acredita-se que ocorram inflamação e enfraquecimento do tecido conjuntivo que mantém a glândula lacrimal à sua posição anatômica, permitindo que ela migre dorsalmente para se projetar acima da margem principal da terceira pálpebra (SLATTER, 2005; MAZZUCHELLI *et al.*, 2012).

Os sinais clínicos associados à hiperplasia/ hipertrofia da glândula lacrimal da terceira pálpebra incluem epífora, hiperemia conjuntival e súbito desenvolvimento de massa de coloração rósea a aververmelhada, presente no canto medial do olho (MARTIN, 2009; DEGHAN *et al.*, 2012). É mais comum em cães jovens e existe predisposição racial do Cocker Spaniel, Basset Hound, Beagle, Boston Terrier, Bulldog Inglês e Francês, Pug, Lhasa Apso, Pequinês e Shih Tzu (MORGAN *et al.*, 1993; HENDRIX, 2007; WOUK *et al.*, 2009; DOMENICO *et al.*, 2016). Sugere-se também que a protrusão esteja relacionada à conformação anatômica da órbita em raças braquicefálicas, podendo ser unilateral ou bilateral (MORGAN *et al.*, 1993).

Antes de 1980, o tratamento de escolha para a protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra era a remoção completa da glândula lacrimal, procedimento que poderia engendrar redução da produção lacrimal e conseguinte ceratoconjuntivite seca em cães (MORGAN *et al.*, 1993; SAITO *et al.*, 2001; PLUMMER *et al.*, 2008;

DEHGHAN *et al.*, 2012, GIULIANO, 2013). O uso de medicações anti-inflamatórias tópicas à base de esteroides resulta em uma pequena diminuição da glândula, sendo o reposicionamento cirúrgico a técnica de escolha para correção da protrusão (MORGAN *et al.*, 1993; MOORE *et al.*, 1996). Saito *et al.* (2001) mostraram que microlesões na córnea foram observadas em cães da raça Beagle após um ano da excisão cirúrgica da glândula lacrimal da terceira pálpebra, comprovando a interferência sobre a quantidade de lágrima produzida.

A técnica cirúrgica de sepultamento da glândula lacrimal é uma das opções mais utilizadas para a correção de protrusão da glândula da terceira pálpebra. É denominada de técnica de *pocket* de Morgan devido à criação de uma bolsa na conjuntiva da própria terceira pálpebra, confeccionada para reposicionar a glândula. Duas incisões paralelas à superfície conjuntival bulbar, ao redor da glândula, são realizadas e as bordas externas de cada incisão são unidas por um plano de sutura simples contínua. Quando a sutura é finalizada, a glândula é empurrada ventralmente e retorna ao seu local anatômico, dentro do saco conjuntival da terceira pálpebra (MORGAN *et al.*, 1993; MOORE *et al.*, 1996; MARTIN, 2009; GIULIANO, 2013).

De acordo com a preferência, alguns médicos veterinários ainda realizam um segundo plano de sutura invaginante, do tipo “Conneg” para recobrir o fio e evitar que ele toque a córnea. A ancoragem da sutura é feita no lado externo da terceira pálpebra a fim de se evitar abrasão da córnea pelo fio de sutura (MORGAN *et al.*, 1993; MOORE *et al.*, 1996; MARTIN, 2009).

A técnica de ancoramento no perióstio é segunda técnica cirúrgica mais empregada, dentre outras, principalmente quando a hipertrofia glandular é acentuada e a glândula protruída se torna opulenta. O ancoramento é realizado através da fixação a glândula lacrimal ao perióstio do osso lacrimal, com sutura em “U”. Para tanto, realiza-se uma incisão na pele abaixo da pálpebra inferior, faz-se a fixação com um fio de náilon 4.0 ou vicryl 4.0 no perióstio e outra no saco conjuntival, o ponto final é feito na pele no mesmo ponto de incisão (WOUK *et al.*, 2009, GIULIANO, 2013).

Múltiplos fatores podem influenciar a produção lacrimal, dentre eles estão os fatores fisiológicos, como idade, gênero e raça, os ambientais (umidade relativa e temperatura, uso de alguns fármacos) e os patológicos. A ceratoconjuntivite seca, em suas várias etiologias, é elencada como a principal causa patológica da diminuição da produção de lágrima no cão, suspeita-se ainda que hiperplasia/hipertrofia da glândula lacrimal da terceira pálpebra possa também influenciar negativamente na produção

lacrimal, a depender do tempo de protrusão da glândula lacrimal e das alterações histopatológicas que ela sofre durante essa exposição (GIULIANO, 2013).

O trabalho tem como propósito correlacionar o tempo de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra às alterações morfométricas decorrentes no tecido glandular e à produção do filme lacrimal, posto que não existem informações na literatura sobre tal interdependência. Dessa maneira, espera-se averiguar se o tempo de exposição glandular interfere na sua função secretora e quais alterações histopatológicas podem ser evidenciadas.

Capítulo I

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES PROTRUSÃO DA GLÂNDULA LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA

Manuscrito submetido à revista

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

1 **AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE**
2 **EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES COM PROTRUSÃO DA GLÂNDULA**
3 **LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA**

4
5 **RESUMO** - A protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra é uma afecção de
6 etiologia incerta comum em cães, onde a exposição continuada da glândula pode
7 suscitar alterações patológicas em seu tecido e, conseqüentemente, interferir na produção
8 lacrimal. Objetivou-se correlacionar o tempo de protrusão da glândula lacrimal às
9 alterações histopatológicas e seus efeitos sobre a produção lacrimal. Foram analisadas
10 18 glândulas de cães portadores da doença divididas em 3 grupos (Grupo 1: até seis
11 meses de protrusão; Grupo 2: sete a 12 meses de protrusão; e Grupo 3: mais de 12
12 meses de protrusão). O reposicionamento glandular foi realizado pela técnica de
13 Morgan e houve coleta de fragmento glandular para análise histopatológica. O Grupo 1
14 apresentou maiores área e espessura dos ácinos, comparativamente aos Grupos 2 e 3.
15 No Grupo 3 houve menor produção de lágrima, comparativamente aos Grupos 1 e 2, e o
16 infiltrado inflamatório apresentou-se de moderado a acentuado. A produção de colágeno
17 não diferiu entre os grupos. Na imunohistoquímica poucas núcleos celulares
18 encontravam-se em proliferação. A exposição da glândula lacrimal provoca alterações
19 histopatológicas diretamente proporcionais ao tempo de protrusão, com atrofia dos
20 ácinos glandulares e diminuição da área de tecido secretor da lágrima, salientando-se a
21 relevância do reposicionamento cirúrgico precoce.

22
23 **Palavras-chave:** *Cherry eye*; ácinos; ducto glandular

24
25
26 **EVALUATION OF MORPHOMETRIC CHANGES AND GLANDULAR**
27 **EXPOSURE TIME IN DOGS WITH THIRD EYELID GLAND PROTRUSION**

28
29
30 **ABSTRACT** - Third eyelid gland protrusion is a condition of uncertain etiology, which
31 its continuous exposure can trigger pathological changes in its tissue, and consequently
32 interfere in tear production. This study aims to correlate protrusion time of third eyelid
33 gland with histopathologic changes and its effects on lacrimal production. Eighteen
34 glands of 15 dogs (eight females and seven males) with third eyelid gland protrusion
35 were divided in 3 groups (Group 1: up to six months of protrusion; Group 2: seven to 12
36 months of protrusion; Group 3: more than 12 months of protrusion) and analyzed.
37 Glandular repositioning was performed using the Morgan technique. Gland fragments

38 were collected for histopathological analysis. Group 1 presented a larger area and
39 greater thickness of glandular acini, compared to Groups 2 and 3. Group 3 presented
40 lower tear production compared to Groups 1 and 2, with moderate to severe
41 inflammatory infiltrate. No difference was found between groups in relation to collagen
42 production. Exposure of third eyelid gland causes histopathological changes directly
43 related with the time of protrusion, being found atrophy of glandular acini and decrease
44 of the tear secreting tissue area. Thus, the relevance of early surgical repositioning is
45 emphasized.

46

47 Keywords: Cherry eye; acini; glandular duct

48

49 **INTRODUÇÃO**

50

51 A protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra é uma afecção comum em
52 cães, que pode suscitar processos de hiperplasia e de hipertrofia, em decorrência de sua
53 exposição continuada (Slatter, 2005; Colitz *et al.*, 2008). A causa da protrusão
54 permanece desconhecida, todavia acredita-se que ocorram inflamação e
55 enfraquecimento do tecido conjuntivo que mantém a glândula lacrimal em sua posição
56 anatômica (Slatter, 2005; Mazzucchelli *et al.*, 2012; Giuliano, 2013). Sugere-se também
57 que a protrusão pode ser decorrente da conformação anatômica da órbita em raças
58 braquicefálicas, podendo ser unilateral ou bilateral (Morgan *et al.*, 1993).

59 Os sinais clínicos incluem epífora, hiperemia conjuntival e súbito
60 desenvolvimento de massa rósea avermelhada no canto medial do olho, motivo pelo
61 qual a doença pode também ser denominada *Cherry eye* (Martin, 2009; Dehghan *et al.*,
62 2012). É comum em cães jovens e existe predisposição racial do Cocker Spaniel, Basset
63 Hound, Beagle, Boston Terrier, Bulldog Inglês e Francês, Pug, Lhasa Apso, Pequinês e
64 Shih Tzu (Morgan *et al.*, 1993; Hendrix, 2007; Wouk *et al.*, 2009; Giuliano, 2013;
65 Domenico *et al.*, 2016).

66 As glândulas lacrimais são constituídas por unidades secretoras, ductos e tecido
67 conjuntival de sustentação, que são componentes epiteliais e formam o parênquima
68 glandular. O estroma glandular é formado por tecido conjuntivo frouxo a denso,
69 incluindo vasos sanguíneos e nervos (Dugan, 1992; Cormack, 1996; Slatter, 2005,
70 Cabral *et al.*, 2005). Nos quadros de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra,

71 a exposição glandular pode causar alterações celulares como hiperplasia e/ou hipertrofia
72 e adenite discreta (Read *et al.*, 1996).

73 Múltiplos fatores podem influenciar a produção lacrimal, dentre eles estão os
74 fatores fisiológicos (idade, gênero e raça), os ambientais (umidade relativa e
75 temperatura, uso de alguns fármacos) e os patológicos (Wouk *et al.*, 2009). A
76 ceratoconjuntivite seca, em suas várias etiologias, é elencada como a principal causa
77 patológica da diminuição da produção de lágrima no cão (Giuliano, 2013). Suspeita-se
78 que hiperplasia/hipertrofia da glândula lacrimal da terceira pálpebra possa também
79 influenciar negativamente na produção lacrimal, a depender do tempo de protrusão da
80 glândula lacrimal e das alterações histopatológicas sofridas durante a exposição.

81 Assim, esse trabalho tem como objetivo correlacionar o tempo de protrusão da
82 glândula lacrimal da terceira pálpebra às alterações morfométricas decorrentes no tecido
83 glandular e à produção do filme lacrimal, posto que não existem informações na
84 literatura sobre tal interdependência. Espera-se averiguar se o tempo de exposição
85 glandular interfere na sua função secretora e quais alterações histopatológicas podem
86 ser evidenciadas.

87 **MATERIAL e MÉTODOS**

88
89 O estudo foi realizado após a aprovação do projeto de pesquisa pela Comissão de
90 Ética para Uso de Animais (CEUA) da UFPB sob protocolo nº 1115110319/2019, e de
91 acordo com as normas da Association for Research in Vision and Ophthalmology
92 (1985). Quinze cães (oito fêmeas e sete machos), diagnosticados com protrusão da
93 glândula lacrimal da terceira pálpebra, participaram da pesquisa (Fig. 1). Os animais
94 foram oriundos do atendimento do Serviço de Oftalmologia Veterinária do Hospital
95 Veterinário da UFPB. Os tutores dos cães foram esclarecidos sobre o estudo e
96 concederam a participação do seu animal na pesquisa, após acordarem e assinarem o
97 Termo de Consentimento (Anexo 1).

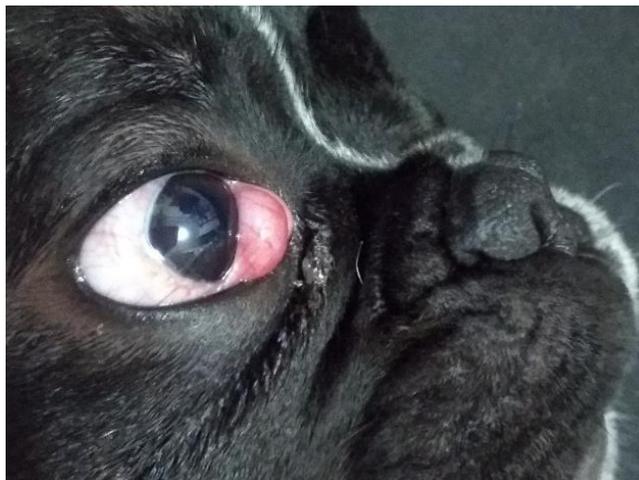


Figura 1- Bulldog francês, macho, 10 meses de idade, com protrusão unilateral da glândula lacrimal da terceira pálpebra há dois meses.

A idade dos cães variou de cinco meses a oito anos, e o peso corpóreo de 4,1 kg a 47,5 kg. Com relação às raças, quatro cães eram sem raça definida, três Poodles, três Bulldog Franceses, dois Lhasa Apsos, um Yorkshire terrier, um Beagle e um São Bernardo. A protrusão da glândula da terceira pálpebra foi unilateral em 12 animais, e em três foi observada bilateralmente, totalizando 18 glândulas lacrimais.

Os animais foram submetidos ao exame físico geral e ao exame oftalmológico, incluindo o teste lacrimal de Schirmer tipo 1 (TLS-1), reflexo de ameaça, reflexo pupilar à luz, a inspeção das estruturas do bulbo do olho e dos anexos oculares, com auxílio de lupa e lanterna, tonometria de aplanção, oftalmoscopia indireta e teste da fluoresceína.

Os cães (18 glândulas) foram divididos em grupos de acordo com o tempo de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra, percebido pelo tutor. O Grupo 1 foi constituído por cães que apresentavam tempo de protrusão glandular de zero a seis meses, o Grupo 2, de sete a 12 meses, e o Grupo 3 foi composto por cães que apresentavam a afecção há mais de 12 meses. Devido ao fato de alguns animais apresentarem a protrusão glandular bilateralmente, o Grupo 1 foi constituído por sete amostras, o Grupo 2 por seis amostras e o Grupo 3 por cinco amostras.

Todos os animais foram submetidos à cirurgia para o reposicionamento da glândula lacrimal da terceira pálpebra. Para tanto, foram realizados exames laboratoriais pré-operatórios como hemograma e bioquímica sérica para compor o perfil renal e hepático de cada animal.

123 O TLS-1 foi realizado novamente em ambos os olhos de todos os animais no dia
124 da cirurgia, imediatamente antes da aplicação da medicação pré-anestésica, valendo-se
125 destes valores para posterior comparação após o reposicionamento cirúrgico.

126 Os cães foram premedicados com meperidina (Dolantina®, Cristália, Brasil) na
127 dose de 4 mg/kg e acepromazina (Acepran®, Vetnil, Brasil) na dose de 0,02 mg/kg,
128 aplicadas na mesma seringa pela via intramuscular. A indução anestésica foi realizada
129 com propofol (Propofol®, Biossintética, Brasil), em dose de 4 mg/kg, IV. Ato contínuo,
130 efetuou-se a intubação orotraqueal e a oferta de isoflurano (Isoforine®, Cristália, Brasil),
131 com fração inspirada de 100% ($FiO_2 = 1,0$), mantendo-se os animais em ventilação
132 espontânea.

133 A técnica cirúrgica empregada em todos os casos foi o sepultamento da glândula
134 lacrimal dentro da bolsa conjuntival da terceira pálpebra, empregando-se a técnica de
135 *pocket* de Morgan, valendo-se de dois planos de sutura, sendo um simples contínuo e
136 um invaginante, com fio absorvível de ácido poliglicólico 4-0 ou 5-0 (Ácido
137 Poliglicólico, Bioline®, Brasil).

138 No período pós-operatório, os cães foram medicados com pomada oftálmica à
139 base de cloranfenicol, aminoácidos, metionina e acetato de retinol (Regencil®,
140 Latinofarma, Brasil), BID/10 dias, e mantidos com colar elizabetano durante 15 dias. Os
141 protocolos anti-inflamatório com meloxicam (Flamavet®, Agener União, Brasil) na
142 dose de 0,1 mg/kg/SID/4 dias/VO e analgésico com tramadol (Cronidor®, Agener
143 União, Brasil) na dose de 2 mg/kg/BID/4 dias/VO, foram prescritos.

144 Aos 15 dias após a realização da cirurgia os animais foram reavaliados e a
145 produção lacrimal foi novamente aferida por meio do TLS-1, com a finalidade de
146 compará-la aos valores pré-operatórios.

147 Imediatamente antes do início da cirurgia, um fragmento da glândula lacrimal da
148 terceira pálpebra de todos os cães foi excisado com auxílio de *punch* de biópsia de dois
149 ou quatro milímetros de diâmetro. Os fragmentos, foram retirados da parte medial da
150 glândula e variaram de 0,2 mm³ a 0,4 mm³, proporcionalmente ao tamanho da glândula,
151 foram fixados por imersão em formol tamponado a 10% e inclusos em parafina segundo
152 processamento histológico padrão (Ramos *et al.*, 2011) e, em seguida, realizou-se a
153 microtomia a 5 µm de espessura de cada bloco de parafina.

154 As amostras foram submetidas a exame histopatológico e análise morfométrica,
155 onde foram analisados o tamanho das células e a dilatação dos ductos glandulares. Para
156 tanto, as lâminas histológicas submetidas à coloração de hematoxilina-eosina padrão e

157 digitalizadas em câmera acoplada em microscópio óptico (Microscópio Olympus BX-
158 53®, Olympus Microscopy, Europa).

159 As análises histomorfométricas foram realizadas por um único avaliador (MCPB)
160 para evitar erros de interpretação. No estudo morfométrico de área glandular foram
161 realizadas quatro fotomicrografias de cada glândula, mensurando-se cinco campos
162 diferentes com contagem de 20 ácinos glandulares, medindo-se a área total da glândula
163 em micrômetros quadrados. No estudo morfométrico da altura do epitélio das células
164 glandulares, foram elaboradas quatro fotomicrografias de cada glândula, e mensurado a
165 altura do epitélio de 20 ácinos glandulares. Ambas as análises foram realizadas através
166 do programa Motic Image Plus 2.0, perfazendo-se um número de 1440 amostras (18
167 amostras animais x 4 fotomicrografias x 20 mensurações) para cada análise.

168 Para quantificar a formação de colágeno no tecido glandular as lâminas
169 histológicas foram coradas com Picrossírius, utilizando-se a metodologia descrita por
170 Hotchkiss (1948). Cada lâmina foi fotomicrografada três vezes, em objetiva de 40 x, em
171 três campos diferentes, a fim se atribuir um escore de avaliação para cada glândula
172 analisada, as amostras foram vistas em microscópio óptico (Microscópio Olympus BX-
173 53®, Olympus Microscopy, Europa). Para a concentração de colágeno atribuiu-se
174 escores de acordo com a presença de colágeno, ou seja, quantidade e intensidade da
175 coloração vermelha no tecido, sendo que 0 (zero) significava ausência de colágeno; 1
176 pouco colágeno; 2 quantidade intermediária de colágeno entre os ácinos glandulares e
177 envolvendo a glândula; e 3, grande quantidade de colágeno entre os ácinos glandulares e
178 envolvendo a glândula, seguindo de forma modificada o Score Semi Quantitativo de
179 Ishank (Ishank *et al.*, 1995).

180 Para avaliar a ocorrência de hiperplasia ou hipertrofia glandular, o estudo
181 imunohistoquímico foi realizado com o Antígeno Nuclear de Proliferação Celular –
182 PCNA (Sigma, Clone C13000), que visa verificar células na fase S do ciclo celular. As
183 lâminas foram reidratadas, submetidas ao bloqueio com três banhos de peróxido de
184 hidrogênio durante 10 minutos cada e lavadas com tampão fosfato (PBS) por três vezes
185 de três minutos. O desmascaramento foi realizado com tampão citrato (pH 6,0) por 10
186 minutos em micro-ondas. As lâminas foram novamente lavadas em PBS e incubadas a
187 4°C overnight com os anticorpos diluídos em PBS (1: 200). No dia seguinte foi
188 adicionado o anticorpo secundário biotilado por 15 minutos, seguido da incubação em
189 complexo streptavidina-peroxidase (DAKO-LSAB) por 30 minutos. As células
190 positivas foram marcadas pelo cromógeno DAB (DAKO) por cinco minutos. As

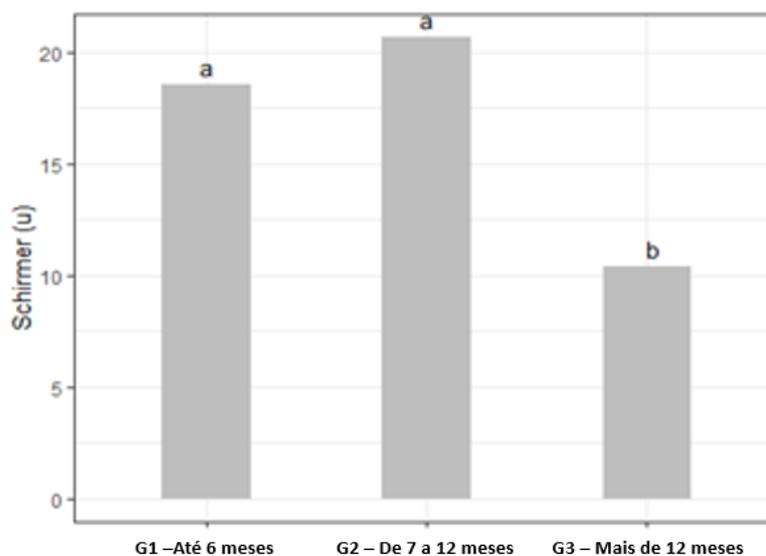
191 fotomicrografias foram realizadas em Microscópio Olympus BX-53 (Olympus
192 Microscopy, Europa) com o programa analisador de imagens Motic Image Plus 2.0
193 (Motic, Europa). A positividade foi avaliada pelo número de núcleos positivos ao anti-
194 pcna.

195 Foi utilizado o software Prism 7.0 para as análises estatísticas de morfometria.
196 Realizou-se análise ANOVA entre os grupos para a análise morfométrica com post test
197 de Tukey com 5% de probabilidade (Team, 2018).

198 RESULTADOS

199

200 Animais com menores tempos de protrusão da glândula da terceira pálpebra,
201 Grupos 1 e 2, apresentaram maior produção de lágrima do que os animais do Grupo 3,
202 com maior tempo de protrusão ($p < 0,05$; Fig. 2). Quinze dias após o procedimento
203 cirúrgico de sepultamento da glândula lacrimal da terceira pálpebra observou-se
204 aumento na produção de lágrima nos animais do estudo, demonstrada pelo teste lacrimal
205 de Schirmer (Tab 1). Em três cães, sendo um da raça Poodle, um São Bernardo e um
206 Beagle (todos do Grupo 3), observaram-se sinais clínicos de ceratoconjuntivite seca,
207 com presença de grande quantidade de secreção do tipo mucopurulenta, hiperemia
208 conjuntival e neovascularização corneal. Nos três pacientes, no período pré-operatório
209 os valores do teste lacrimal de Schirmer foram 5 mm/min, 8 mm/min e 9 mm/min,
210 respectivamente. No período pós-operatório, decorridos 15 dias, os valores aumentaram
211 para 10 mm/min, 15 mm/min e 17 mm/min, respectivamente, e os sinais clínicos
212 evidenciados diminuíram.



213

214

Figura 2- Média dos valores do teste lacrimal de Schirmer tipo 1 em 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula da terceira pálpebra.

215

Grupo	Raça	Sexo	Idade	Olho Direito	TLS -1 antes	TLS -1 depois	Olho Esquerdo	TLS -1 antes	TLS -1 depois
Grupo 1 0 a 6 meses	Poodle	F	3 a	*OD	14	15	*OE	16	20
	Bulldog Francês	M	10 m	*OD	19	22	*OE	12	19
	Bulldog Francês	M	5 m	*OD	24	27	OE	22	23
	SRD	F	5 a	OD	16	16	*OE	13	20
	Yorkhire	F	8 m	OD	22	23	*OE	17	22
Grupo 2 7 a 12 meses	Lhasa Apso	M	2 a	*OD	15	19	OE	18	22
	Bulldog Francês	F	11 m	*OD	15	25	*OE	20	25
	Poodle	F	2 a	*OD	20	23	OE	22	25
	SRD	M	7 a	OD	25	26	*OE	24	30
	SRD	M	2 a	OD	30	28	*OE	24	24
Grupo 3 Acima de 12 meses	Poodle	F	3 a	OD	15	15	*OE	5	10
	SRD	F	8 a	*OD	10	13	OE	20	21
	Beagle	M	3 a	*OD	9	17	OE	16	16
	São Bernardo	F	3 a	*OD	8	15	OE	14	14
	Lhasa Apso	M	5 a	*OD	13	14	OE	17	17

216

217

218

219

Tabela 1 – Raça, sexo, idade, olho acometido (*) e valores do teste lacrimal de Schirmer tipo 1 (TLS-1) dos cães dos Grupos 1, 2 e 3, mensurados no dia da realização do procedimento cirúrgico para sepultamento da glândula lacrimal da terceira pálpebra e 15 dias após, em mm/minuto.

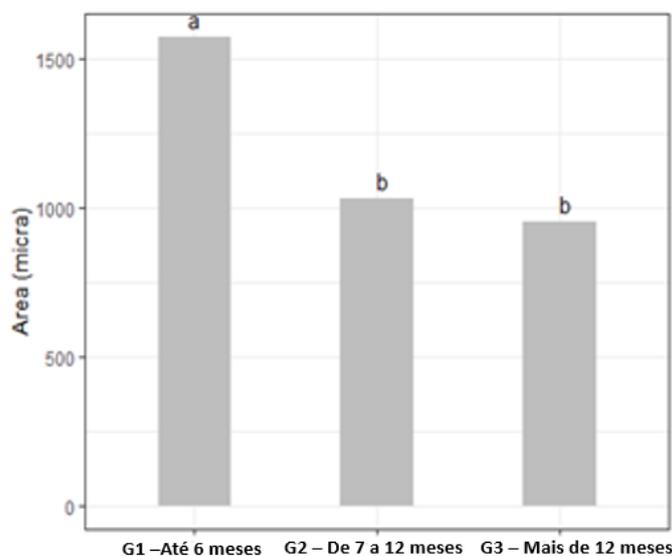
220

221

222

223

Nos resultados encontrados na mensuração da área dos ácinos glandulares, observou-se que os animais do Grupo 1 apresentaram uma área média significativamente maior do que a média dos cães dos Grupos 2 e 3, os quais não apresentaram diferença entre eles (Fig. 3).



224

225

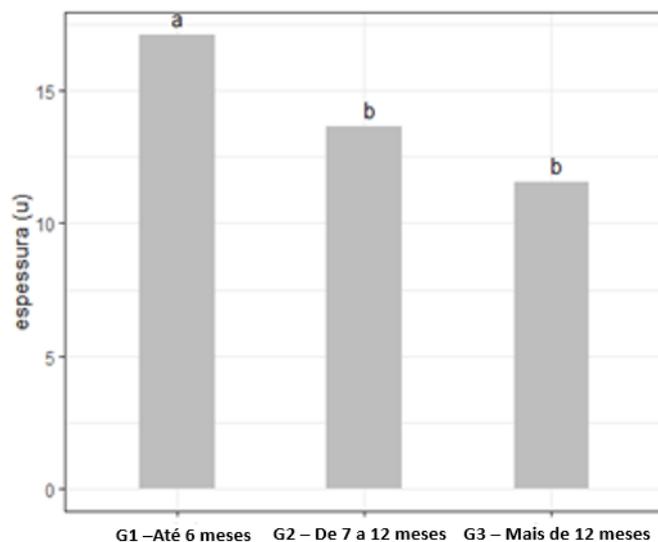
Figura 3 – Média do tamanho da área dos ácinos da glândula lacrimal da terceira pálpebra em 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra.

226

227

228

229 No que se refere à espessura da glândula, os animais com até seis meses de
 230 protrusão (Grupo 1) apresentaram um tamanho significativamente maior da parede do
 231 ácino, comparativamente aos animais dos Grupos 2 e 3, que não apresentaram diferença
 232 significativa entre as suas médias (Fig. 4 e 5).



233

234

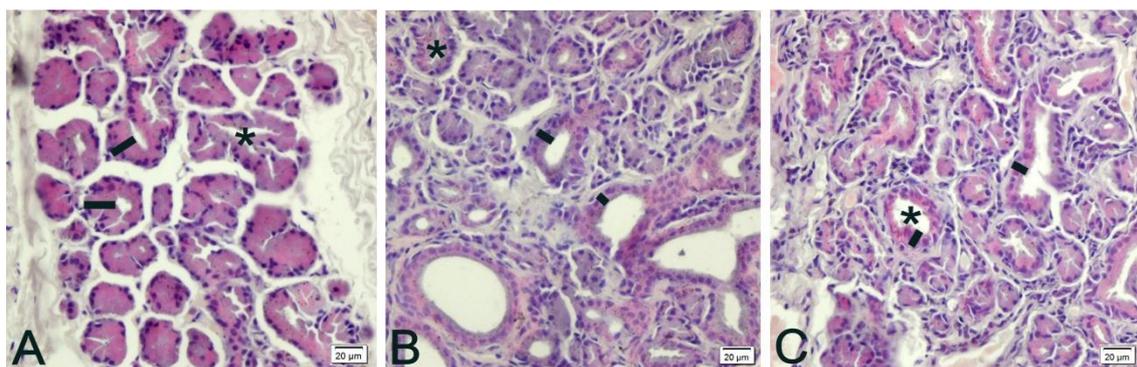
235

236

237

Figura 4 -Média da espessura da parede da glândula dos 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula da terceira pálpebra.

238



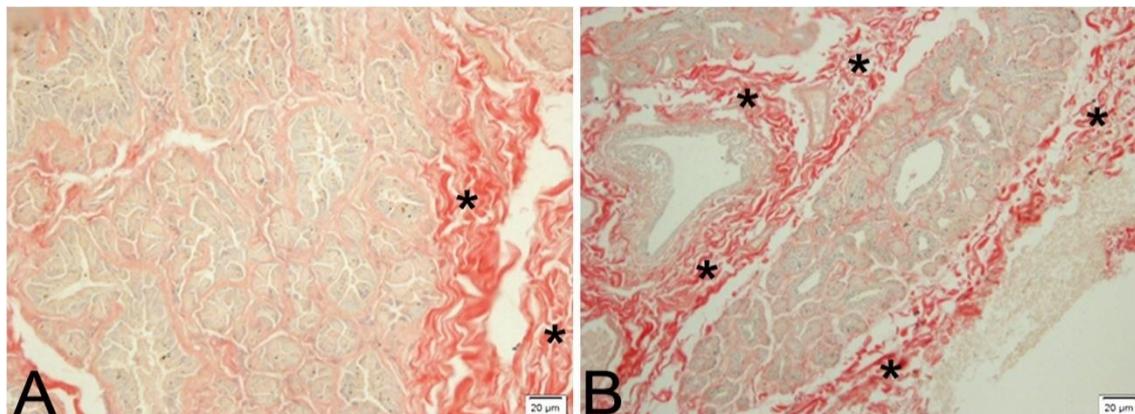
239

Figura 5- Fotomicrografias de glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão (A: 0-6 meses; B: 7-12 meses; C: acima de 12 meses de protrusão). Observar que o epitélio (linha preta) das glândulas do grupo “A” é mais espesso que nos demais grupos (B, C). Observar também que em média, as glândulas (asterisco) do grupo “A” tem maior área que as dos demais grupos (B, C). Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 400x.

240

241 Não houve diferença significativa em relação à quantidade de colágeno
 242 encontrada entre cada estrutura dos ductos e ácinos entre os três grupos analisados (Fig.
 243 6). O colágeno estava presente em quantidade moderada nos três grupos.

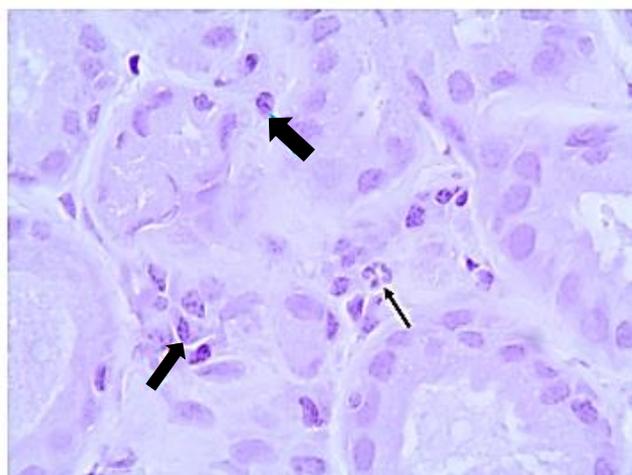
244
 245



246

Figura 6 - Fotomicrografias representativas de glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão. Observar que quando da protrusão há um acúmulo de tecido conjuntivo (asteriscos) periglandular levando a uma hipertrofia glandular. Coloração de Picrosirius. Aumento de 400x.

247 Na análise histopatológica, o Grupo 1 apresentou 85,71% (6/7) de infiltrado
 248 inflamatório discreto com presença de linfócitos, e apenas uma glândula (1/7 - 14,29%)
 249 apresentou grau acentuado de inflamação com presença de linfócitos, plasmócitos,
 250 macrófagos e neutrófilos. No Grupo 2 havia uma glândula (1/6 - 17%) com presença de
 251 infiltrado celular discreto, duas glândulas (2/6 - 33%) com infiltrado moderado e três
 252 glândulas (3/6 - 50%) com infiltrado inflamatório acentuado. Observaram-se no Grupo
 253 3, duas glândulas (2/5 - 40%) com infiltrado moderado (Fig. 6) e três (3/5 - 60%) com
 254 infiltrado celular acentuado.



255

256

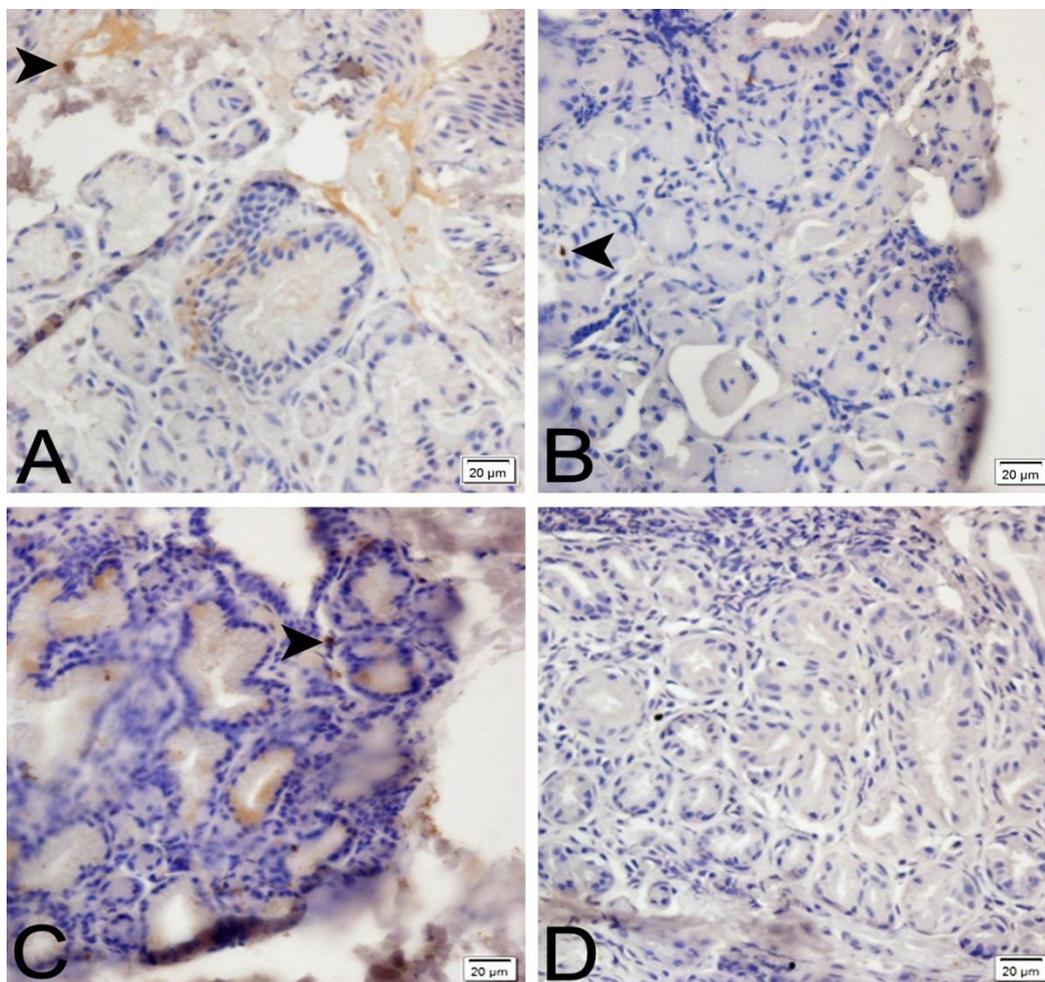
257

Figura 7 - Infiltrado inflamatório misto moderado, composto por linfócitos (seta grossa), plasmócitos (seta média) e neutrófilos (seta fina) em canino com protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra há mais de 12 meses. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 1000x.

258

259

260 Na imunohistoquímica poucas células do epitélio glandular encontravam-se em
 261 proliferação celular nos diferentes grupos (Fig. 8).



262

263

264 **Figura 8** - Fotomicrografias de imunohistoquímica para anti-PCNA (positividade nuclear) em
 265 glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão. (A: 0-6 meses;
 266 B: 7-12 meses; C: acima de 12 meses de protrusão; D: Controle negativo). Poucas células PCNA
 267 positivas (pontas de setas), ou seja, escassas células do epitélio glandular encontravam-se em
 proliferação celular nos diferentes grupos. Coloração de hematoxilina + cromófo DAB
 (diaminobenzidina). Aumento de 400x.

268

DISCUSSÃO

269

270

271

272

273

274

A menor espessura da parede dos ácinos e da área acinar encontradas nos animais com mais de seis meses de protrusão glandular (Grupos 2 e 3), quando comparadas aos animais com até seis meses de protrusão (Grupo 1), associada à maior porcentagem de infiltrado celular inflamatório, sugerem que o tempo de protrusão esteja associado às alterações patológicas glandulares. O maior tempo de protrusão e

275 exposição da glândula lacrimal reduziu a área e a espessura dos ácinos glandulares,
276 provocando a redução da sua funcionalidade, caracterizada pela diminuição na produção
277 do filme lacrimal, o que pode conduzir ao aparecimento de complicações oftálmicas,
278 como a ceratoconjuntivite seca. Estes achados caracterizam um processo de atrofia do
279 tecido glandular, posto que o infiltrado de células inflamatórias aumenta e a produção
280 lacrimal diminui após seis meses de protrusão da glândula.

281 As alterações histopatológicas encontradas nesse estudo são similares àquelas
282 relatadas por Brandão *et al.* (2007), que observaram, após a excisão de glândulas
283 lacrimais da terceira pálpebra de cães com protrusão, infiltrado inflamatório
284 predominantemente mononuclear em região periacinar e dilatação do lúmen dos ductos
285 e metaplasia. Os autores consideraram, ainda, que as mudanças histopatológicas
286 encontradas nos cães, eram discretas, caracterizando um quadro de adenite suave. No
287 entanto, os autores não relataram o tempo que os cães estavam acometidos com a
288 protrusão. Nos cães desse estudo, o maior tempo de protrusão glandular esteve
289 relacionado somente à presença de infiltrados inflamatórios moderados e acentuados, e
290 não discretos.

291 As glândulas dos três cães com presença de sinais clínicos de ceratoconjuntivite
292 seca, confirmados pelo teste lacrimal de Schirmer, apresentavam infiltrado inflamatório
293 acentuado, constituído por linfócitos, plasmócitos e macrófagos, e os três animais
294 pertenciam ao grupo com maior tempo de exposição glandular (acima de 12 meses).
295 Canapp *et al.* (2001) já haviam relatado graus variados de adenite crônica em um gato
296 com Síndrome semelhante a de Sjögren no homem (mucosas ocular e oral ressecadas),
297 caracterizada por atrofia dos ácinos e quantidade expressiva de tecido fibroso
298 interacinar, com número aumentado de plasmócitos e linfócitos. Da mesma maneira,
299 Martin (2009) descreveu adenite crônica com predominância de linfócitos nas glândulas
300 lacrimais da terceira pálpebra de cães portadores de ceratoconjuntivite seca, sugerindo
301 que a inflamação poderia ser de origem imunológica. Essas informações sugerem que o
302 tempo de exposição e o agravamento do processo inflamatório nos animais com
303 protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra estão relacionados ao aparecimento
304 da ceratoconjuntivite seca.

305 Nesse estudo foi possível perceber que, decorridos 15 dias do procedimento
306 cirúrgico de sepultamento da glândula lacrimal da terceira pálpebra, os valores de
307 Schirmer encontravam-se maiores comparativamente aos valores observados antes do
308 procedimento, com maior destaque àqueles três cães do grupo com mais de doze meses

309 de protrusão que apresentaram valores condizentes com ceratoconjuntivite seca antes da
310 cirurgia. Dugan *et al.* (1992) já haviam constatado o valor de Schirmer maior em
311 animais submetidos ao sepultamento glandular, relativamente àqueles cujas glândulas
312 mantiveram-se protruídas ou foram excisadas. A produção lacrimal notadamente maior
313 após o reposicionamento cirúrgico da glândula lacrimal ressalta a importância da
314 correção cirúrgica o mais precoce possível.

315 Relativamente à quantidade de colágeno verificada nesse trabalho, não houve
316 diferença significativa dentre as amostras, entretanto a coloração por Picrossírius
317 revelou que o colágeno estava presente em quantidade moderada nos três grupos. O
318 colágeno desempenha importantes funções estruturais em muitos tecidos e órgãos,
319 auxiliando na resistência e elasticidade (Verhaegen *et al.*, 2012) e as glândulas lacrimais
320 apresentam, em sua constituição, finas fibras colágenas do tipo I e II, dispostas em
321 forma de placas paralelas (Laus, Oriá, 1999). Acredita-se que nos momentos iniciais da
322 protrusão da glândula da terceira pálpebra, juntamente com a infiltração de células
323 inflamatórias no tecido glandular, ocorra uma proliferação de fibras colágenas, e que
324 esta proliferação não seja proporcional ao tempo de protrusão.

325 A proliferação celular foi observada pelo estudo imunohistoquímico, em
326 pequena quantidade, em três glândulas, sendo possível inferir que o processo de
327 hiperplasia no tecido glandular não é predominante, assim como também não é o
328 processo de hipertrofia. Os processos de hipertrofia e de hiperplasia celulares, que
329 fazem parte da denominação consagrada da doença (Hiperplasia/hipertrofia da glândula
330 da terceira pálpebra), já descritas por Read *et al.* (1996), não são predominantes na
331 protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra, pelo menos nos tempos estudados.

332 Dessa maneira, é possível afirmar que com o decorrer do tempo de exposição da
333 glândula lacrimal parece haver a diminuição da área e da espessura da parede de seus
334 ácinos, com conseqüente redução de sua função ímpar, que é a lubrificação da
335 superfície ocular, salientando-se a importância do reposicionamento cirúrgico precoce
336 da glândula lacrimal da terceira pálpebra, pelas mais variadas técnicas, a fim de se evitar
337 tais lesões permanentes ao seu tecido e à sua função.

338

339 **CONCLUSÕES**

340 A exposição prolongada da glândula lacrimal da terceira pálpebra promove
341 alterações ductais e acinares, com presença de infiltrado inflamatório, em graus
342 proporcionalmente maiores, de acordo com o tempo de protrusão. Quanto maior é o

343 tempo de exposição desta glândula maior é o dano tecidual com atrofia dos ácinos
344 glandulares e consequente diminuição da área total para produção da lágrima.

345

346 REFERÊNCIAS

347

348 ARVO, Association for Research in Vision and Ophthalmology. National Institutes of
349 Health Publications. Sarasota- Flórida, 1985. n.85-23. 4p.

350

351 BRANDÃO, C.V.; ROCHA, N.S.; RANZANI, J.J. *et al.* Prolapsed third eyelid gland in
352 dogs: cytologic and histopathologic evaluation. *Arc. of Vet. Sci.*, v 12, n.3. p.21-25,
353 2007.

354

355 CABRAL, V. P.; LAUS, J. L.; TALIERI, I. C.; *et al.* Canine lacrimal and third eyelid
356 superficial gland's macroscopic and morphometric characteristics. *Cien. Rur.* v. 35, n. 2,
357 p. 391-397, 2005.

358

359 CANAPP, S.O. *et al.* Xerostomia, xerophthalmia, and plasmacytic infiltrates of the
360 salivary glands (Sjögren's-like syndrome) in a cat. *Jour. of Ame. Vet. Med Ass.*, v.218,
361 n.1, p.59-65, 2001.

362

363 COLITZ, C. M. H.; BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. Doenças do sistema lacrimal.
364 In: *Manual Saunders: clínica de pequenos animais*. 3 ed. São Paulo: Roca, cap. 139, p.
365 1416-1421, 2008.

366

367 CORMACK, D.H. Tecido epitelial. In: _____. *Fundamentos de histologia*. Rio de
368 Janeiro: Guanabara Koogan. cap.3, 1996, p.70-83.

369

370 DEGHAN M. M; PEDRAM, M.S, AZARI, O; *et al.* Clinical evaluation of the pocket
371 technique for replacement of prolapsed gland of the third eyelid in dogs. *Turkish .Jour.*
372 *of Vet. and Ani. Sci.*; 36: 352–356, 2012.

373

374 DOMENICO, M.; ANNA P.; BARBARA, C., GIADA, D.; *et al.* Pocket technique or
375 pocket technique combined with modified orbital rim anchorage for the replacement of
376 a prolapsed gland of the third eyelid in dogs: 353 dogs. *Vet. Oph.* 19, 3, 214–219, 2016.

377

378 DUGAN, S.J. Clinical and histologic evaluation of the prolapsed third eyelid gland in
379 dogs. *Jou. of Ame. Vet. Med. Ass.*, v.201, n.12, p.1861-1867, 1992.

380

381 GIULIANO, E. A. Diseases and surgery of the canine lacrimal secretory system. In:
382 GELATT, K.; GILGER, B.; KERN, T. *Vet. Oph.: Two Vol. Set, 5th Ed.*, Ed Wiley-
383 Blackwell, 912-944, 2013.

384

385 ISLANK, K.; BAPTISTA A.; L. BIANCHI, L.; *et al.* Histological grading and staging
386 of chronic hepatitis. *Jour. of Hep.* 22:696-699, 1995.

387

388 HENDRIX, D.V.H. Canine conjunctiva and nictitating membrane. In: *Vet. Oph.*,
389 Blackwell Publishing, Ames, 4th edn, ed. Gelatt KN, pag 676, 2007.

390

- 391 HOTCHKISS, RD. A microchemical reaction resulting in the standing of polysaccharide
392 structures in fixed tissue preparations. Arch Bioch; 16: 131,1948.
393
- 394 LAUS, J. L; ORIÁ, A. P. Doenças corneanas em pequenos animais. Rev. de Edu. Cont.
395 do CRMV-SP / São Paulo. Vol. 2. Fascículo I. 1999, pag.26 - 33.
396
- 397 MARTIN, C.L. Conjunctiva and third eyelid. In: _____. Ophthalmic Disease
398 in Veterinary Medicine. Manson Publishing Ltda, London. 2009, pag. 183-214.
399
- 400 MORGAN, R.V.; DUDDY, J. M.; McCLURG, K. Prolapse of the gland of the third
401 eyelid in dogs: a retrospective study of 89 cases (1980 to 1990). Jour. of the Amer. Ani.
402 Hosp. Ass., 29, pag.56–60, 1993.
- 403 RAMOS, A.; SANTOS, L.; GUERRA, R. et al. Biometria, histologia e morfometria do
404 sistema digestório do cachorro-do-mato (*Cercopithecus thomasi*) de vida livre. Revista
405 Biotemas, 24 (4), 111, 2011.
- 406 READ, R. A.; DUNK, K. A.; SMITH, K. C.; BARNETT, K. C. A histological study of
407 nictitans glands from dogs with tear overflow of unknown cause. Vet. Comp. Oph., v. 6,
408 n. 3, p. 195-204, 1996.
409
- 410 SLATTER, D. Sistema lacrimal. In: _____. Fundamentos de oftalmologia veterinária.
411 3. ed. São Paulo: Roca. cap. 10, 2005, p. 259-282.
- 412 TEAM, C. A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for
413 Statistical Computing, Vienna, Áustria., 2018. Disponível em: < [https://www.R-](https://www.R-project.org/)
414 [project.org/](https://www.R-project.org/)>. Acessado 06 de junho de 2019.
- 415 VERHAEGEN, P.D.; SCHOUTEN, H. J.; TIGCHERLAAR-GUTTER, W. *et al.*
416 Adaptation of the dermal collagen structure of human skin and scar tissue in
417 response to stretch: an experimental study. Wou. Rep. Regen., v.20, p.658-666, 2012.
418
- 419 WOUK, A.; SOUZA, A. L.; FARIAS, M.R. Afecções dos anexos oftálmicos.
420 In:_____ Oftalmologia Clínica e Cirúrgica em cães e em gatos. Editora Rocca. 1^a
421 edição, cap 3, 2009, pág 33- 60.
422
423

Considerações Finais

A exposição da glândula lacrimal da terceira pálpebra, que ocorre nos casos de protrusão ou *Cherry eye*, pode promover diminuição da produção do filme lacrimal, decorrente da redução de tecido glandular funcional. Os danos teciduais, caracterizados pela atrofia dos ácinos e presença de infiltrado inflamatório em larga escala, tendem a ser proporcionalmente maiores, quanto maior for o tempo de protrusão da glândula lacrimal.

Estudos futuros, com tempos de exposição glandular maiores e número amostral maior em cada escala de tempo, são necessários para averiguar esta correlação do tempo de doença com as alterações histopatológicas e funcionais que a glândula lacrimal da terceira pálpebra pode sofrer quando protruída.

A implicância clínica destes achados são as consequências oftálmicas que esta afecção, tão frequente, podem produzir para a superfície ocular, com sinais clínicos de ceratoconjuntivite seca. Desse modo, salienta-se a importância do reposicionamento cirúrgico da glândula lacrimal, pelas mais variadas técnicas, a fim de se evitar tais lesões permanentes ao seu tecido e à sua função.

Anexo

Nº de identificação

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Prezado Sr. (a):

Esta pesquisa faz parte do experimento sobre “**Correlação das alterações morfológicas e tempo de protrusão glandular em cães com hiperplasia/hipertrofia da glândula lacrimal da terceira pálpebra**” e está sendo desenvolvida pela médica veterinária Maria Caroline Pereira Brito, mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação da Profª Drª Ivia Carmem Talieri.

O estudo tem por objetivo avaliar, por meio do exame histopatológico, as glândulas lacrimais da terceira pálpebra que sofreram protrusão, observando se há aumento dos parâmetros inflamatórios em decorrência do tempo de exposição desta glândula, assim como sua influência sobre a diminuição da produção de lágrima.

No experimento o animal que apresenta protrusão da glândula da terceira pálpebra será submetido à avaliação pré-operatória, anestesia e cirurgia para sepultamento da glândula da terceira pálpebra. Durante o procedimento será mensurado o tamanho da glândula e retirado um fragmento glandular para o exame histopatológico. No período pós-operatório serão prescritos medicação analgésica e anti-inflamatória por via oral, aplicação de antibiótico por via tópica e colocação de colar elisabetano.

Atenciosamente,
Maria Caroline Pereira Brito

Eu: _____,
CPF: _____ - ____ ou RG: _____, declaro, para fins do exposto no presente documento, que fui informado(a) dos objetivos e da relevância do estudo proposto e aceitei colaborar com o experimento do mestrado, realizado no Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba, na qualidade de coparticipante autorizando a manipulação do animal que está sob minha responsabilidade, bem como a anestesia e cirurgia para correção da protrusão da glândula da terceira pálpebra, além de retornar com o animal para a retirada dos pontos. Também concordo que os dados obtidos sejam utilizados para fins científicos.

Areia, ____ de _____ de 2019.

Assinatura

Referências

ARVO, Association for Research in Vision and Ophthalmology. **National Institutes of Health Publications**. Sarasota- Flórida, 1985. n.85-23. 4p.

BRANDÃO, C.V.; ROCHA, N.S.; RANZANI, J.J. *et al.* Prolapsed third eyelid gland in dogs: cytologic and histopathologic evaluation. **Archives of Veterinary Science**, v 12, n.3. P.21-25, 2007.

CABRAL, V. P.; LAUS, J. L.; TALIERI, I. C.; *et al.* Canine lacrimal and third eyelid superficial gland's macroscopic and morphometric characteristics. **Ciência rural**. v. 35, n. 2, p. 391-397, 2005.

CANAPP, S.O. *et al.* Xerostomia, xerophthalmia, and plasmacytic infiltrates of the salivary glands (Sjögren's-like syndrome) in a cat. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.218, n.1, p.59-65, 2001.

COLITZ, C. M. H.; BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. Doenças do sistema lacrimal. In: _____ **Manual Saunders: clínica de pequenos animais**. 3 ed. São Paulo: Roca, 2008, cap. 139, p. 1416-1421.

CHAHORY S., CRASTA M., TRIO S. *et al.* Three cases of prolapse of the nictitans gland in cats. **Veterinary Ophthalmology** 2004;7:417–419.

CORMACK, D.H. Tecido epitelial. In: _____. **Fundamentos de histologia**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1996. Cap.3, p.70-83.

DEGHAN, M.M.; PEDRAM, M.S.; AZARI, O. *et al.* Clinical evaluation of the pocket technique for replacement of prolapsed gland of the third eyelid in dogs. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**. 2012; 36: 352–356.

DOMENICO, M.; ANNA, P.; BARBARA, C.; GIADA, D. M.; ILARIA, I. Pocket technique or pocket technique combined with modified orbital rim anchorage for the replacement of a prolapsed gland of the third eyelid in dogs: 353 dogs **Veterinary Ophthalmology**, 2016, 19, 3, 214–219.

DUGAN, S.J. Clinical and histologic evaluation of the prolapsed third eyelid gland in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.201, n.12, p.1861-1867, 1992.

FOULKES, G.N; BRON, A.J. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. **Ocul Surf** 1: 107–126, 2003.

GENESER, F. **Histologia com bases biomoleculares**. Terceira edição. Editora Guanabara Koogan S.A. Cap 07, pag 141-149; cap 24, pag 571-574. Rio de Janeiro, 2003.

- GIULIANO, E. A. Diseases and surgery of the canine lacrimal secretory system. In: GELATT, K.; GILGER, B.; KERN, T. **Veterinary Ophthalmology**. Two Vol. Set, 5th Ed., Ed Wiley-Blackwell, 912-944, 2013.
- KIERSZENBAUM, A L. **Histologia e biologia celular**: uma introdução a patologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. Cap 2, pag 59 – 65 e cap 9 pag 273.
- ISLANK, K.; BAPTISTA, A.; BIANCHI, L.; CALLEA, F.; *et al.* Histological grading and staging of chronic hepatitis. **Journal of Hepatology**. 1995. 22:696-699.
- HENDRIX, D.V.H. Canine conjunctiva and nictitating membrane. In: **Veterinary Ophthalmology**, 4th edn. (ed. Gelatt KN). Blackwell Publishing, Ames, IA, 2007; 676.
- HOTCHKISS, R. D. A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. **Arch Bioch** 1948; 16: 131.
- LAUS, J. L. Afecções dos anexos oftálmicos. In: _____ **Oftalmologia Clínica e Cirúrgica em cães e em gatos**. Editora Rocca. 1ª edição. Cap 3, pag 33- 60, 2009.
- MARTIN, C.L.: Conjunctiva and third eyelid. In: Martin, C.L., Ed. Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine. **Manson Publishing Ltd.**, London. 2009; 183-214
- MAZZUCHELLI, S; VAILLANT, M. D.; WEVERBERG, F. *et al.* Retrospective study of 155 cases of prolapse of the nictitating membrane gland in dogs. **Veterinary Record** 2012; 170: 443–445.
- MOORE, C.P., FRAPPEIR, B.L.; LINTON, L.L.: Distribution and course of ducts of the canine third eyelid gland: effects of two surgical replacement techniques. **Vet. Comp. Ophthalmol.**, 1996; 6: 258-264
- MOORE, C. P. Terceira pálpebra. In: ____ SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, v. 2, 1998, p. 1428-1435.
- MORGAN, R.V.; DUDDY, J.M.; McCLURG, K. Prolapse of the gland of the third eyelid in dogs: a retrospective study of 89 cases (1980 to 1990). **Journal of the American Animal Hospital Association** 1993; 29:56–60.
- PLUMMER, C.E.; KALLBERG, M.E.; GELLAT, K.N. *et al.* Intranictitanstacking for replacement of prolapsed gland of the third eyelid in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, 2008;11: 228–233.
- RAMOS, A.; SANTOS, L.; GUERRA, R. *et al.* Biometria, histologia e morfometria do sistema digestório do cachorro-do-mato (*Cercopithecus thomasi*) de vida livre. **Revista Biotemas**, 24 (4), 111, 2011.
- READ, R. A.; DUNK, K. A.; SMITH, K. C.; BARNETT, K. C. A histological study of nictitans glands from dogs with tear overflow of unknown cause. **Veterinary comparative ophthalmology**, v. 6, n. 3, p. 195-204,1996.

SAITO, A.; IZUMISAWA, Y.; YAMASHITA, K. *et al.* The effect of thirdeyelid gland removal on the ocular surface of dogs. **VeterinaryOphthalmology** 2001;4:13–18

SLATTER, D. Sistema lacrimal. In: _____. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. 3. ed. São Paulo: Roca. 2005, cap. 10, p. 259-282.

STADES, F. C. *et al.* Aparelho lacrimal. In: _____. **Fundamentos de Oftalmologia Veterinária**. São Paulo: Manole, 1999, cap. 6, p. 54-63.

VERHAEGEN, P.D.; SCHOUTEN, H.J.; TIGCHELAAR-GUTTER; W. *et al.* Adaptation of the dermal collagen structure of human skin and scar tissue in response to stretch: an experimental study. **Wound Repair Regen.**, v.20, p.658-666, 2012.