



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**COMPOSIÇÃO E FUNÇÃO DO FILME LACRIMAL E SUA
IMPORTÂNCIA PARA A SAÚDE DA SUPERFÍCIE OCULAR DOS
CÃES: REVISÃO DE LITERATURA**

Brendha Mendes Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Ismar Silva Santana

BRASÍLIA - DF
FEVEREIRO/2023



BRENDHA MENDES FERREIRA

**COMPOSIÇÃO E FUNÇÃO DO FILME LACRIMAL E SUA
IMPORTÂNCIA PARA A SAÚDE DA SUPERFÍCIE OCULAR DOS
CÃES: REVISÃO DE LITERATURA**

Trabalho de conclusão de curso de
graduação em Medicina Veterinária
apresentado junto à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Ismar Silva
Santana

BRASÍLIA - DF
FEVEREIRO/2023

MF383c Ferreira, Brendha

Composição e função do filme lacrimal e sua importância para a saúde da superfície ocular dos cães: revisão de literatura / Brendha Mendes, Ferreira ; orientador Marcelo Ismar Silva Santana; co-orientador Paula Diniz Galera. -- Brasília, 2023.

43 p.

Monografia (Graduação - Medicina Veterinária) -- Universidade de Brasília, 2023.

1. Oftalmologia veterinária. 2. Superfície ocular. I. , Ferreira. II. Ismar Silva Santana, Marcelo, orient. III. Diniz Galera, Paula, co-orient. IV. Título.

Cessão de Direitos

Nome da Autora: Brendha Mendes Ferreira

Título: composição e função do filme lacrimal e sua importância para a saúde da superfície ocular dos cães: revisão de literatura

Ano: 2023

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.



Brendha Mendes Ferreira

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: FERREIRA, Brendha Mendes

Título: composição e função do filme lacrimal e sua importância para a saúde da superfície ocular dos cães: revisão de literatura

Trabalho de conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília

Aprovado em: 03/02/2023

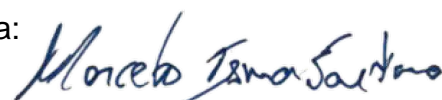
Banca examinadora

Prof. Dr. Marcelo Ismar Silva Santana

Julgamento: Aprovada

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura:



Prof. Dra. Paula Diniz Galera

Julgamento: Aprovada

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura:



Dr. Mário Sérgio Almeida Falcão

Julgamento: Aprovada

Instituição: Centro Veterinário da Visão

Assinatura:



MSc. DSc. Mário Falcão
Médico Veterinário
CRMV 1572



DEDICATÓRIA

À todas as mulheres que me inspiraram e me inspiram nessa jornada de aprendizado. Obrigada por me mostrarem suas cicatrizes e me fazerem uma mulher mais forte.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Elizabeth e Valter, pelo apoio e amor incondicional.

À fonte de amor mais sincera: minhas companheiras Kya (*in memoriam*) Frida, Kim e Taylor. Talvez elas nunca saibam o quanto eu as amo, mas expresso aqui minha profunda gratidão por tê-las ao meu lado.

Aos meus avós, Noete, Maria, Luiz e José (*in memoriam*), que são parte essencial de minha formação e quem me deram a base para me tornar a pessoa que sou hoje.

Aos meus irmãos Deborah, Michela, Tiago e Nicolás, que sempre acreditaram no meu potencial e me apoiaram em minhas decisões, além de contribuírem significativamente para meu crescimento profissional.

Ao meu querido Pedro, obrigada por toda compreensão e por toda ajuda nos piores momentos. Sem você eu não teria chegado aonde cheguei.

À professora Paula Galera, por despertar em mim o fascínio e a paixão pela oftalmologia veterinária. Obrigada por acreditar em mim.

Ao orientador Marcelo Ismar, que desde o início da faculdade despertou em mim a vontade de aprender. Obrigada por ser um excelente professor, isso faz toda diferença, especialmente nos primeiros semestres da faculdade.

Aos meus companheiros de graduação e vida, Aline Stephanie e Thiago Araújo, por estarem presentes nos melhores e nos piores momentos da graduação. Sem vocês a faculdade teria sido bem mais difícil. Obrigada por tudo.

Aos funcionários do Centro Veterinário da Visão: Keila, Patrícia e Vinícius. Obrigada por me ensinarem lições de vida valiosas e por sempre cuidarem de mim.

Aos veterinários do Centro Veterinário da Visão: Mário, Layla e Paulo por todos os ensinamentos e por todo o apoio. Minha trajetória na veterinária mudou drasticamente quando conheci vocês. Obrigada por me mostrarem que os sonhos podem se tornar realidade e por tornarem minha paixão pela oftalmologia cada dia maior.

A todos os professores que ajudaram a me moldar uma boa profissional, em especial: Mário Falcão, Paula Galera, Marcelo Ismar, Rômulo Vitelli, Giane

Paludo, Christine Martins, Jair Duarte, Ivo Pivato, Rita Campebell, Bergmann Ribeiro. Vocês são fundamentais para minha formação.

Todas nós seguimos em frente quando percebemos como são
fortes e admiráveis as mulheres à nossa volta.

Rupi Kaur

SUMÁRIO

RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. FILME LACRIMAL PRÉ-CORNEANO.....	2
2.1. Composição	2
2.2. Tensão superficial	6
2.3. Evaporação e hiperosmolaridade.....	6
2.5. Inervação sensorial da córnea.....	8
2.6. Lacrimejamento reflexo.....	10
2.7. Lacrimejamento basal.....	11
2.8. Sensibilidade.....	11
2.9. Distribuição do FL.....	12
2.10. Drenagem.....	13
3. PERFIL BIOQUÍMICO DA LÁGRIMA.....	18
3.1. Proteômica.....	18
3.2. Glicômica	20
3.3. Lipidômica.....	22
3.4. Metabolômica.....	23
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
5. REFERÊNCIAS.....	26

RESUMO

O filme lacrimal é uma estrutura complexa que mantém a superfície corneana uniforme ao suavizar irregularidades, remover corpos estranhos da córnea e conjuntiva, lubrificar a conjuntiva e a córnea e prover nutrientes para a córnea. Pode ser dividido em duas camadas: lipídica e mucoaquosa e apresenta em sua composição molecular proteínas, lipídios, metabólitos e diferentes tipos de açúcares. Esse trabalho teve como objetivo descrever as características físicas e químicas do filme lacrimal, especialmente em cães, e abordou acerca da composição, tensão superficial, evaporação e hiperosmolaridade, inervação corneana e sua relação com a produção de lágrima, além de mecanismos de distribuição e drenagem lacrimal. Ainda, foi abordada a composição molecular da lágrima, discorrendo sobre seus componentes proteicos, lipídicos, metabólicos e açúcares. Além disso foram feitas comparações entre estruturas oculares dos cães e dos humanos, uma vez que o cão pode ser considerado um modelo translacional para estudo de doenças oculares em humanos. Para chegar ao objetivo supracitado, foi realizada uma revisão bibliográfica. Alguns pontos acerca do filme lacrimal precisam de mais estudos, como sua espessura em cães, especificidades relacionadas a osmolaridade lacrimal em cães com síndrome do olho seco e diferenças na drenagem e inervação lacrimal em cães com diferentes morfologias craniofaciais. Ainda, mais estudos são necessários na procura por biomarcadores lacrimais de doenças sistêmicas e oculares.

Palavras-chave: lágrima; composição; visão; oftalmologia; canina.

ABSTRACT

The tear film is a complex structure responsible for maintaining a uniform corneal surface by smoothing out minor irregularities. Furthermore, the preocular film removes foreign bodies from the cornea and conjunctiva, hydrates the conjunctiva and cornea, and provides nutrients to the avascular cornea. It can be divided into two layers: lipid and mucoaqueous and has molecular compounds such as proteins, lipids, metabolites, and different kinds of sugars. This work aimed to describe tears' physical and chemical characteristics, especially in dogs. It approached the composition, superficial tension, evaporation and hyperosmolarity, corneal innervation, and its relation to reflex and basal production of tears. It was also possible to describe the mechanisms of distribution and drainage of preocular film. Moreover, the work describes tears' molecular composition, discussing lipids, proteins, metabolites, and sugars. It compared the ocular structures of dogs and humans since the dog can be considered a translational model for studying ocular diseases in humans. To reach the goal of this work, a literature review was done. Some points related to the tear film need more studies, like its thickness in dogs, specificities related to the osmolarity in dogs with dry eye disease, and differences in drainage and innervation in dogs with different craniofacial morphology. Also, more studies are necessary for the search for lacrimal biomarkers of systemic and ophthalmic diseases.

Keywords: tear; composition; vision; ophthalmology; canine.

1. INTRODUÇÃO

A superfície ocular pode ser definida como a junção das estruturas oculares e anexas, incluindo córnea, conjuntiva, pálpebras, cílios, filme lacrimal, glândula lacrimal principal, além das glândulas de Meibômio e da glândula da terceira pálpebra (CRAIG et al., 2017; SAITO et al., 2001). Todas estas estruturas possuem a mesma origem embriológica. O epitélio corneano e conjuntival continuam no epitélio acinar das glândulas principal e acessória e das glândulas de Meibômio através do epitélio dos ductos (LEMP; FOULKS, 2007). A córnea apresenta várias funções essenciais para a saúde da superfície ocular por se tratar de uma barreira física contra patógenos e debris externos, além de ser a primeira interface onde a luz sofre refração quando penetra no globo ocular (LEONARD et al., 2019).

O filme lacrimal pré-corneano (FLPC), ou filme lacrimal (FL), se espalha sobre a superfície ocular e contém diversas substâncias, como por exemplo proteínas, metabólitos, peptídeos antimicrobianos, eletrólitos e imunoglobulinas (PFLUGFELDER; STERN, 2020; WILLCOX et al., 2017). A saúde da superfície ocular é promovida pelos compostos citados acima e através de sua complexa interação (LEONARD et al., 2016), e a lágrima é considerada parte da superfície ocular (WILLCOX et al., 2017).

As principais estruturas relacionadas com a produção do filme lacrimal no cão são a glândula lacrimal principal, que tem um papel importante na produção de proteínas, água e eletrólitos (IWASHITA et al., 2022; WILLCOX et al., 2017), além da glândula lacrimal da terceira pálpebra, que contribui com uma porcentagem considerável da sua porção aquosa (SAITO et al., 2001). Ainda, as glândulas de Meibômio produzem o meibum, que contém a maior parte dos lipídeos do filme lacrimal. Por fim, as células caliciformes e as células estratificadas escamosas da conjuntiva, em conjunto com o epitélio corneano, secretam mucina, eletrólitos e água (GELATT et al., 2021; WILLCOX et al., 2017).

Esse trabalho possui como objetivos aprofundar o conhecimento acerca da composição, produção e função do filme lacrimal em cães. Abordará também a relação entre a baixa qualidade do filme lacrimal e a doença do olho seco. Objetiva-

se ainda informar acerca de dados do filme lacrimal em humanos e correlacioná-los com os dados do filme lacrimal em cães. Por fim, o trabalho adentrará no perfil bioquímico da lágrima.

2. FILME LACRIMAL PRÉ-CORNEANO

2.1. Composição

O filme lacrimal pré-corneano é uma estrutura complexa de extrema importância para a saúde da superfície ocular (ORÍÁ et al., 2018). Apresentar uma lágrima estável é essencial, uma vez que suas funções englobam hidratar a córnea, ser uma superfície de refração para a entrada de luz, proteger o olho contra agentes externos, prover nutrientes para a córnea e possibilitar que células sanguíneas tenham acesso à córnea e à conjuntiva (DAVIDSON; KUONEN, 2004). O filme lacrimal cobre a córnea e a conjuntiva, e sua espessura em humanos indica uma camada fina, de aproximadamente 2-5,5 μ m (WILLCOX et al., 2017). Não existe ainda estudo similar acerca da espessura do filme lacrimal em cães, mas humanos e cães compartilham características lacrimais importantes (MAGGIO, 2019).

Descrever o filme lacrimal como uma estrutura trilaminar (uma camada mucosa interna, uma camada aquosa intermediária e uma camada lipídica superficial) não é preciso o suficiente. Considerando que a camada mucosa e aquosa se sobrepõem, é mais exato dividir o filme lacrimal em camada mucoaquosa e lipídica. A concentração de mucinas na camada mucoaquosa diminui à medida que o espaço entre a córnea e o filme lacrimal aumenta (CHER, 2008).

A porção aquosa da camada mucoaquosa contém diversos compostos (figura 1) (GERMAN; HALL; DAY, 1998; IWATA, 1973). A porção aquosa é composta majoritariamente por água (98,2%) e por sólidos (1,8%) (IWATA, 1973) e representa cerca de 60% de todo o filme lacrimal. A produção desta porção nos cães se dá pelas glândulas lacrimais principais e da terceira pálpebra (HARTLEY; WILLIAMS; ADAMS, 2006). A terceira pálpebra serve como proteção física para a

córnea e dá apoio para a parte imunológica (PRÉMONT et al., 2012). A sua glândula contribui com aproximadamente 30% da porção aquosa do filme lacrimal em cães, enquanto a glândula lacrimal contribui com os outros 70% (SAITO et al., 2001). Também responsáveis pela secreção da porção aquosa, ambas as glândulas são ponto de origem de múltiplos ductos, que derivam das aberturas glandulares no fórnice dorso-temporal e na superfície da glândula da terceira pálpebra (MAGGIO, 2019).

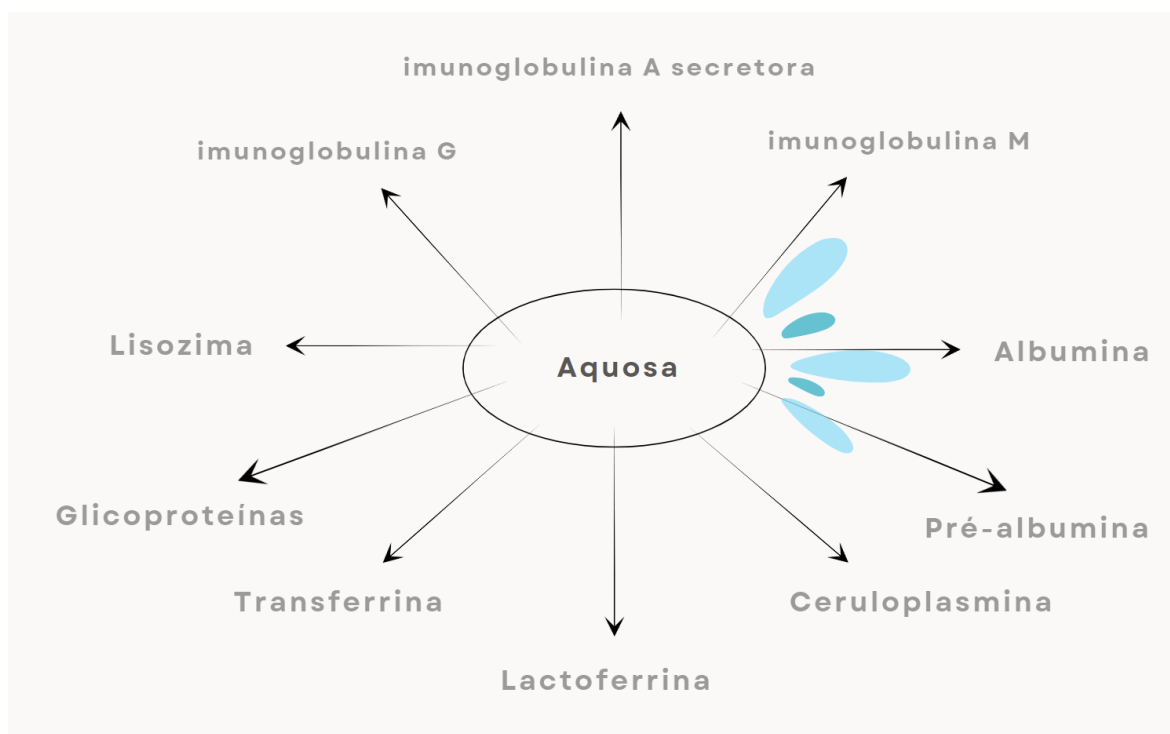


FIGURA 1 – Principais componentes da porção aquosa da lágrima (GERMAN; HALL; DAY, 1998; IWATA, 1973).

A porção mucosa, que também é parte da camada mucoaquosa, é composta por mucina, dentre outros compostos (figura 2). Também possui uma estrutura de glicocálix, uma rede de mucinas que atravessam a membrana celular e se projetam vertical e lateralmente. O glicocálix permite a aderência da porção aquosa, prevenindo a desidratação da córnea. A porção mucosa é secretada essencialmente pelas células calciformes da conjuntiva, que são células secretórias apócrinas (DAVIDSON; KUONEN, 2004).

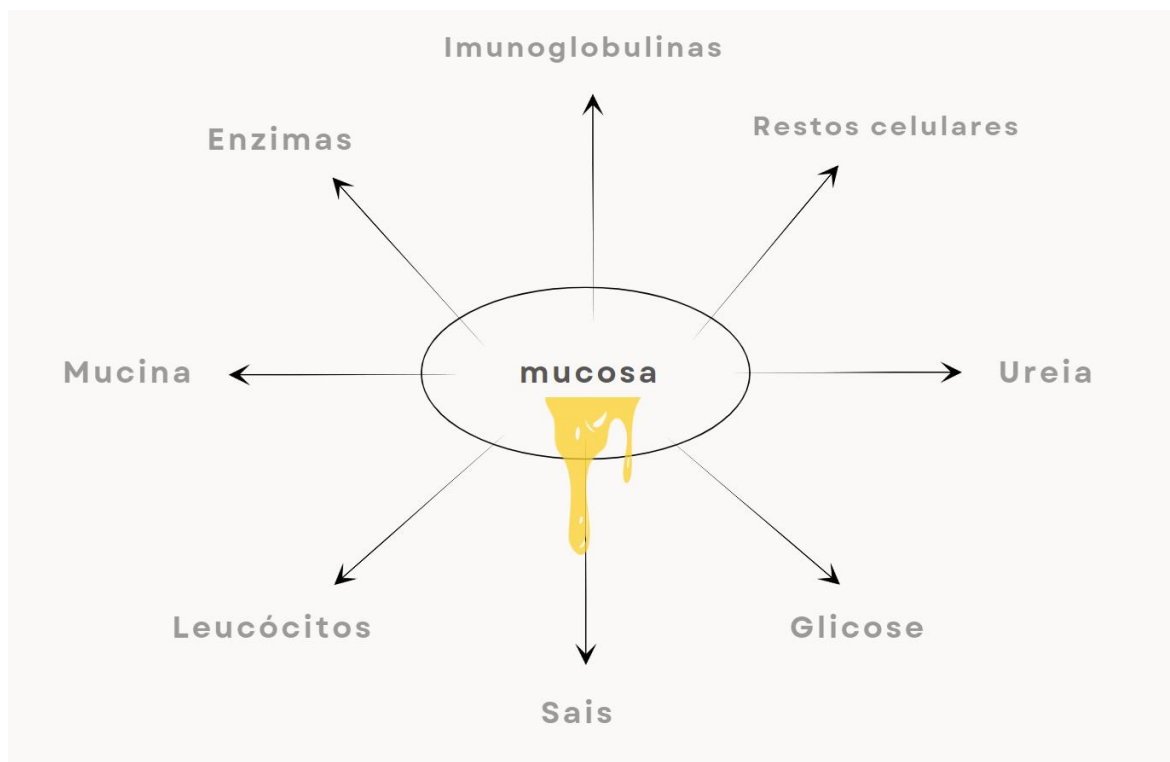


FIGURA 2 – Principais componentes da porção mucosa da lágrima (DAVIDSON; KUONEN, 2004).

A camada mais externa do filme lacrimal, a lipídica, é composta por lipídios polares e apolares, chamados de meibum, que são secretados pelas glândulas de Meibômio (glândulas sebáceas modificadas). Quando atinge a superfície ocular, o meibum se torna fluido, constituído por partículas lipídicas lamelares imersas em uma fase líquida contínua (WILLCOX et al., 2017). A camada lipídica se espalha sobre a camada mucoaquosa, prevenindo a evaporação lacrimal e protegendo contra debris. Ademais, a camada lipídica diminui a tensão superficial da lágrima (MAGGIO, 2019).

A porção polar da camada lipídica, composta em sua maioria por fosfolipídios, fica em contato direto com a porção aquosa (DAVIDSON; KUONEN, 2004), e níveis baixos de fosfolipídios na secreção das glândulas de Meibômio estão diretamente associados com a síndrome do olho seco (PETERS; MILLAR, 2002). A porção apolar, composta majoritariamente por ésteres de esteroide, está voltada para a superfície (DAVIDSON; KUONEN, 2004). Essa parte é encarregada da transmissão de gases e serve como uma reserva de ésteres, triglicerídeos e

outros lipídeos que controlam a estabilidade da fase polar da camada lipídica (figura 3) (MCCULLEY; SHINE, 1997).

A camada lipídica ajuda a diminuir a tensão superficial do filme lacrimal, o que atrai água, aumentando a espessura da lágrima. A secreção das glândulas de Meibômio é modulada pela síntese de lipídeos ou pela maturação celular (as glândulas de Meibômio são holócrinas, o que significa que, durante a secreção do conteúdo, toda a célula é liberada). Não existem estudos que mostram se a inervação destas glândulas é simpática ou parassimpática. Fibras nervosas foram identificadas ao redor dos alvéolos da glândula, mas o papel dessas estruturas não foi identificado. Acredita-se que esteroides regulem a secreção glandular (DAVIDSON; KUONEN, 2004).

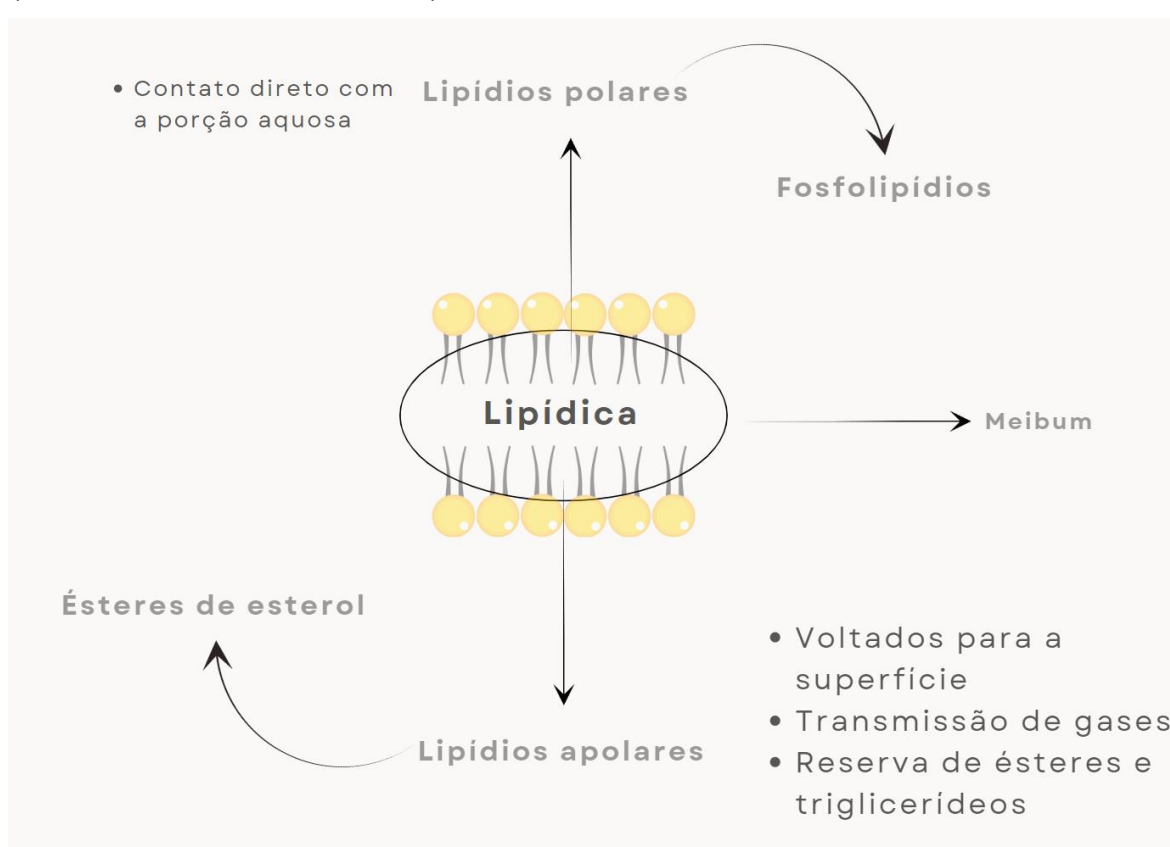


FIGURA 3 – Componentes da camada lipídica da lágrima e funções relacionadas (DAVIDSON; KUONEN, 2004).

2.2. Tensão superficial

A tensão superficial é um efeito físico que permite que um líquido se comporte como uma membrana elástica, aferida em mN/m. Graças a essa tensão, o filme lacrimal é resistente à deformação durante o tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL). Ainda, a tensão superficial ajuda a manter um padrão de espessura do filme lacrimal logo após uma piscada e permite com que o óleo proveniente da camada lipídica se espalhe. Em suma, esse efeito físico influencia na formação e estabilidade da lágrima (NAGYOVA; TIFFANY, 1999).

A tensão superficial pode ter relação direta com desordens da superfície ocular (YAÑEZ-SOTO et al., 2014), porque olhos com tensão superficial maior tendem a ter um filme lacrimal mais fino (KING-SMITH et al., 2004). Proteínas e glicoproteínas da camada mucoaquosa também interferem na sua formação. A espessura do filme lacrimal apresenta propriedade de massa com duas interfaces separadas (uma polar e uma apolar), mas ao mesmo tempo, é fino o suficiente para não ser influenciado pela gravidade (WILLCOX et al., 2017).

2.3. Evaporação e hiperosmolaridade

A hiperosmolaridade ocorre quando a concentração dos solutos na lágrima aumenta. Isso geralmente acontece quando existe uma diminuição na produção ou secreção de água (olho seco por deficiência aquosa) ou quando ocorre um aumento na sua evaporação (olho seco evaporativo) (LAMKIN et al., 2020). A osmolaridade do filme lacrimal foi medida em Pugs e Shih-Tzus com e sem ceratoconjuntivite seca utilizando o osmômetro Ipen® Vet. Os resultados mostraram um valor de osmolaridade médio de 315.27 ± 6.15 mOsm/L para cães sem a afecção e 353.02 ± 16.58 mOsm/L para cães com CCS. Também se correlacionou valores baixos de TLS com hiperosmolaridade lacrimal (BRITO et al., 2022).

Valores baixos de TLS-1 representam uma deficiência na porção aquosa do filme lacrimal, o que se relaciona diretamente com a hiperosmolaridade (LAMKIN et al., 2020). Esse tópico tem como foco o olho seco evaporativo, o qual apresenta

variáveis causas. A evaporação acontece quando existe um excesso de perda aquosa na superfície ocular sem alterações na função secretora das glândulas. As causas de olho seco evaporativo podem ser divididas em intrínsecas e extrínsecas (CRAIG et al., 2017).

As causas intrínsecas acontecem devido a uma falha estrutural, como doenças que alteram estruturas palpebrais ou a dinâmica das pálpebras. A disfunção das glândulas de Meibômio é uma causa frequente de olho seco evaporativo, e ocorre quando existe obstrução glandular, que pode ser causada por diversos fatores, a exemplo da dermatite atópica (CRAIG et al., 2017), alteração muito comum em cães (OLIVRY et al., 2007). Como citado anteriormente, a camada lipídica apresenta função essencial em evitar a evaporação da lágrima, e uma deficiência em sua secreção é motivo de preocupação. Outras causas de olho seco evaporativo incluem defeitos de órbita e desordens no fechamento palpebral (CRAIG et al., 2017; EKENSTEDT; CROSSE; RISSELADA, 2020).

As causas extrínsecas estão relacionadas a exposição a elementos externos. Nos cães a conjuntivite alérgica (LOURENÇO-MARTINS et al., 2011), como a ceratoconjuntivite atópica pode ser uma possível causa de olho seco evaporativo. Os defeitos na córnea e conjuntiva causados por condições alérgicas podem gerar instabilidade lacrimal e possível evaporação do filme. Ainda, em casos crônicos, as glândulas de Meibômio podem ser afetadas, adicionando mais um risco para o desenvolvimento da doença (CRAIG et al., 2017).

Todos os problemas explicitados acima estão relacionados com a hiperosmolaridade, que pode causar danos à superfície ocular. A hiperosmolaridade induz a desidratação das células conjuntivais, permitindo que o solvente migre do meio menos concentrado (as células), para o meio mais concentrado (o filme lacrimal). Esse evento inicia uma cadeia inflamatória de citocinas (como IL-1, IL-6 e fator de necrose tumoral- α) que, em conjunto com as quimiocinas promovem a síntese de matriz metaloproteinase-9 (MMP-9) e aumentam os níveis de células Th-1 e Th-17. Esse ciclo pode causar apoptose e morte das células corneanas e conjuntivais, intensificando os sinais de olho seco. Em certo estágio, o glicocálix e as mucinas também são afetados. Tudo isso aumenta a hiperosmolaridade do filme lacrimal, magnificando suas consequências no que é chamado de “ciclo vicioso do olho seco” (figura 4) (KOOK et al., 2020;

MAGGIO, 2019). Entretanto, a osmolaridade no cão não é elucidada da mesma forma que no ser humano, necessitando de mais trabalhos acerca do tema.

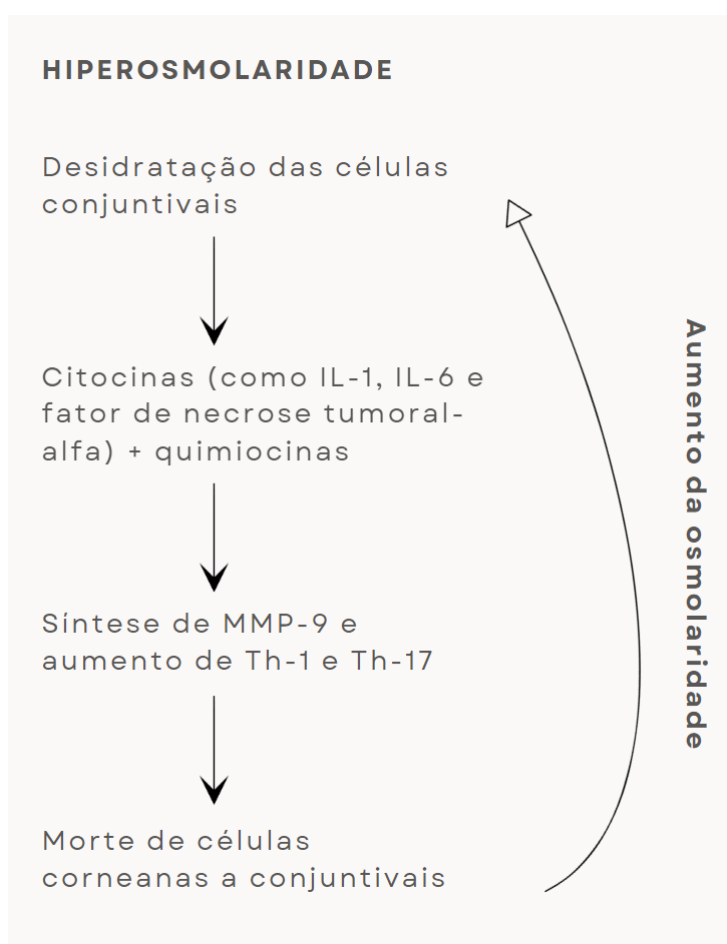


FIGURA 4 – Esquema demonstrando o ciclo do olho seco (KOOK et al., 2020; MAGGIO, 2019).

2.4. Inervação sensorial da córnea

O nervo trigêmeo é responsável por grande parte da inervação sensorial do olho e das estruturas anexas, possuindo três ramos: oftálmico, maxilar e mandibular (figura 5). O nervo oftálmico, quando chega na órbita, se divide em nervos frontal, lacrimal e nasociliar. O nervo frontal é sensorial para a pálpebra superior e para a pele adjacente. Em cães e gatos ele passa abaixo do ligamento orbital. O nervo lacrimal leva inervação sensorial para a glândula lacrimal e para a conjuntiva, terminando na pálpebra superior (inervando a pele da região). O nervo nasociliar se divide em nervo etmoidal anterior e posterior e nervo infratroclear. O

nervo infratroclear inerva o canto medial, a terceira pálpebra e o sistema lacrimal adjacente. Quando adentra a órbita, o nervo nasociliar emite o nervo ciliar longo, que entra no bulbo próximo ao nervo óptico e garante a sensibilidade da córnea e do bulbo ocular (figura 6) (MAGGS; MILLER; OFRI, 2017).

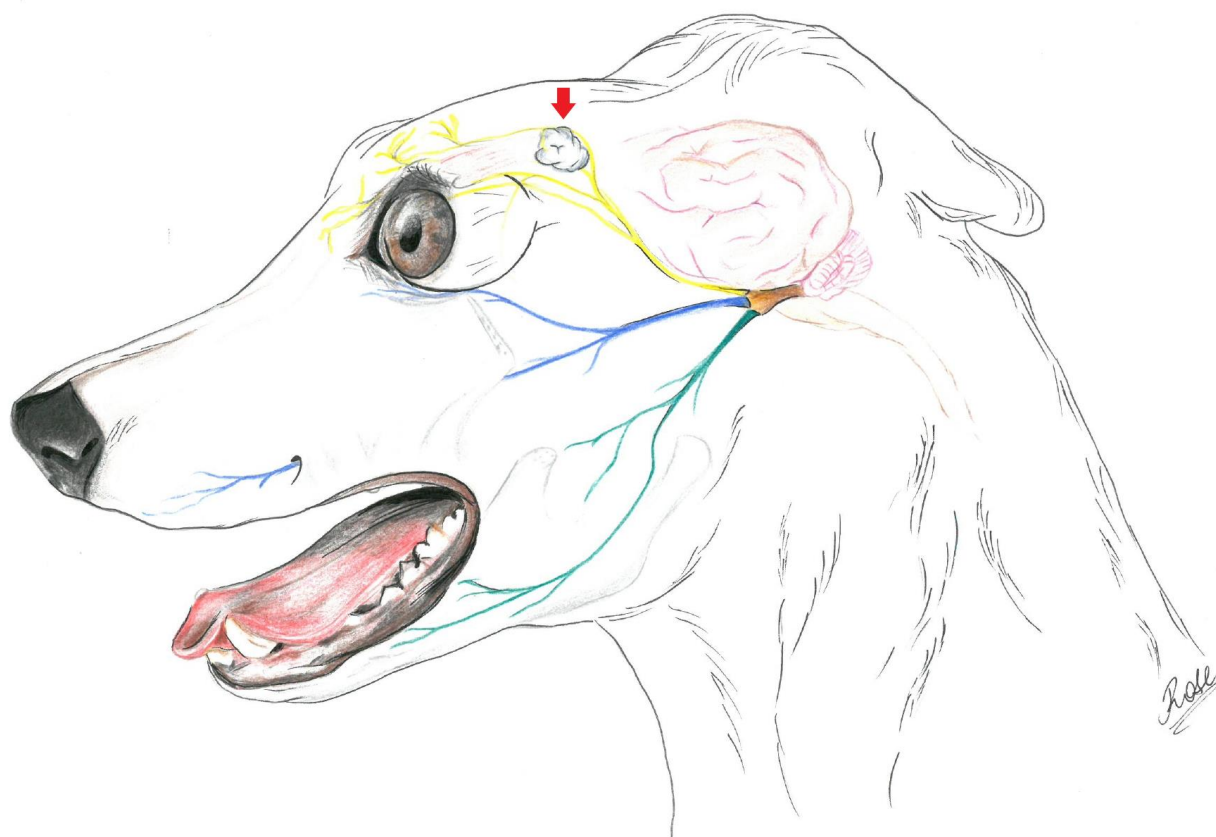


FIGURA 5 – Representação do nervo trigêmeo e suas ramificações. Em marrom, é possível observar o nervo trigêmeo. Em amarelo, o ramo oftálmico, que promove inervação sensorial para as pálpebras, bulbo ocular, mucosa nasal e pele do nariz. Em azul, o ramo maxilar, que promove inervação sensorial para a pálpebra inferior, mucosa nasal, dentes superiores, lábio superior e nariz. Em verde, o ramo mandibular, que possui tanto fibras motoras quanto sensoriais. As fibras sensoriais provêm inervação para as estruturas da boca e da pele da mandíbula, e as fibras motoras levam inervação para os músculos próximos à boca. Os nervos oftálmico e maxilar apresentam ramos que inervam a glândula lacrimal principal (seta vermelha) (MAYHEW; BUSH; GLASS, 2002).

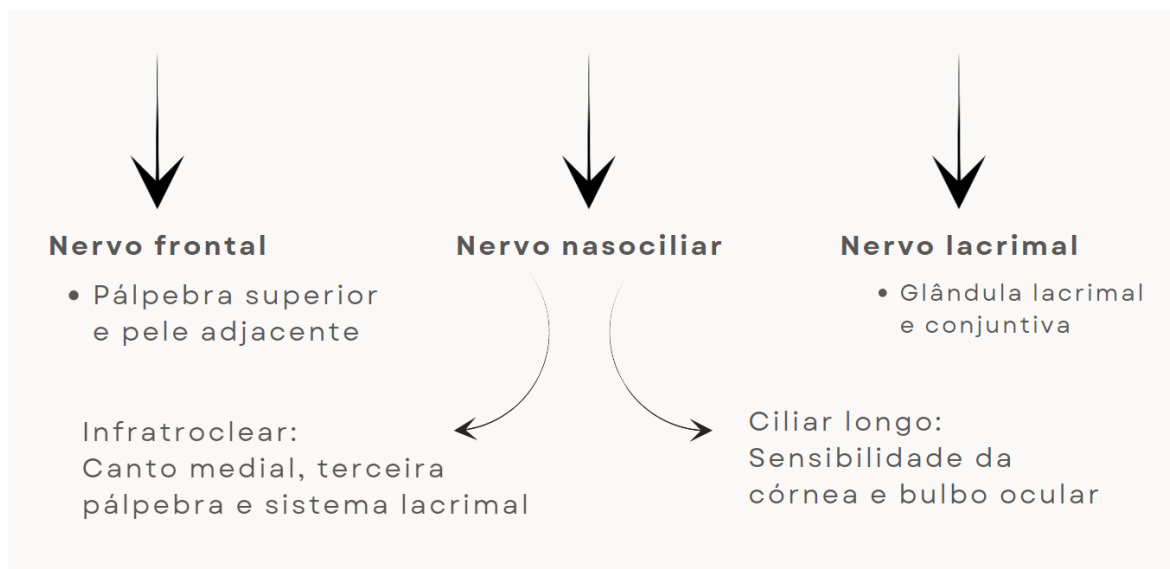


FIGURA 6 – Divisão do nervo oftálmico quando chega na órbita (MAGGS; MILLER; OFRI, 2017).

2.5. Lacrimejamento reflexo

O estímulo para o lacrimejamento reflexo ocorre quando existe irritação ocular. Esse estímulo acontece devido ao reflexo trigêmeo-parassimpático. Os receptores sensoriais presentes nos terminais periféricos das fibras corneanas são responsáveis por identificar a estimulação da córnea. Os receptores que serão ativados dependem do tipo de estímulo (SITU; SIMPSON, 2010). Estudos acerca da relação entre o lacrimejamento e estímulos dolorosos na asa nasal e no lábio superior de humanos foram feitos ao se pinçar essas regiões. Os resultados mostraram que a dor provocada pelos estímulos podem levar ao lacrimejamento (DRUMMOND, 1995).

A estimulação química da córnea humana decorrente de maior concentração de CO₂ verificou que a intensidade necessária para identificar o lacrimejamento foi maior na periferia da córnea do que no centro (SITU; SIMPSON, 2010). Em cães, testou-se a estimulação nasolacrimal utilizando um pedaço de algodão com álcool, constatando-se que a estimulação intensificou em aproximadamente 18% a secreção lacrimal em todos os animais. O reflexo nasolacrimal é uma ferramenta essencial para eliminar agentes irritantes no nariz,

uma vez que ajuda a secretar lágrima nas narinas através do ducto nasolacrimal (BOLZANNI et al., 2020).

2.6. Lacrimejamento basal

Múltiplas variáveis influenciam a resposta neural do FL, como os nervos aferentes da córnea e conjuntiva, os nervos eferentes parassimpáticos e simpáticos da glândula lacrimal, as células secretórias e os ductos excretórios das glândulas lacrimais. Quando estimuladas, as fibras sensoriais da córnea e da conjuntiva ativam os nervos das glândulas lacrimais e da terceira pálpebra, que secretam seu conteúdo. A depender da intensidade do estímulo, a resposta neural sinaliza a quantidade de fluido a ser produzido pela glândula. As células calciformes também são reguladas pelas fibras sensoriais da superfície ocular (DARTT, 2009; GELATT et al., 2021). A regulação da secreção lacrimal pode acontecer como resposta a estímulo químico, mecânico ou térmico, detectado pelas terminações sensoriais do nervo trigêmeo, envolvendo o sistema nervoso parassimpático e o simpático (DARTT et al., 2011).

A estimulação da superfície ocular ativa nervos sensoriais aferentes da conjuntiva e da córnea, produzindo uma resposta reflexa pela ativação de neurônios no núcleo parassimpático do VII nervo craniano (facial), levando a um aumento da produção lacrimal (GELATT et al., 2021).

2.7. Sensibilidade

A ramificação do nervo trigêmeo e dos nervos simpáticos está diretamente relacionada com a sensibilidade da córnea. A córnea humana é mais sensível quando comparada com a de gatos e coelhos. Se os olhos se mantiverem abertos por tempo suficiente a hipertonicidade se torna elevada, e um sinal é enviado através dos nervos sensoriais, induzindo o animal a piscar (piscada reflexa) (BARRETT et al., 1991). O reflexo para piscar é enviado através do nervo facial até o músculo orbicular do olho (GELATT et al., 2021). A sensibilidade corneana é

maior no centro e menor na periferia, e depende de fatores como espécie, conformação craniofacial e doenças sistêmicas (BARRETT et al., 1991; GELATT et al., 2021).

Para mensurar a sensibilidade corneana, utiliza-se um exame chamado estesiometria. A variação mais comum da técnica faz uso de um estesiômetro de Cochet-Bonnet para aferir o limiar de toque na córnea, que é o nível mínimo de estímulo necessário para desencadear o ato de piscar. O estesiômetro consiste em um equipamento ligado a um filamento de nylon que entra em contato com a córnea. É possível modificar o comprimento do filamento, alterando a pressão aplicada sobre o olho do animal (podendo variar de 5 a 180 mg por 0,0113 mm) (GELATT et al., 2021). A pressão aplicada é aumentada até que o animal apresente resposta em diferentes regiões (central, nasal, dorsal, temporal e ventral) (GOOD et al., 2003).

A sensibilidade em cães dolicocefálicos acessada utilizando o estesiômetro foi maior quando comparada a cães mesocefálicos e braquicefálicos, sendo os braquicefálicos os que apresentaram menor sensibilidade. Ainda, em um mesmo cão (independente da conformação craniofacial), a região central da córnea apresentou maior sensibilidade, seguida da região nasal, temporal, dorsal e ventral, respectivamente. Nenhuma diferença de sensibilidade foi encontrada entre machos e fêmeas (BARRETT et al., 1991).

Cães diabéticos apresentaram menor sensibilidade corneana quando comparados com cães saudáveis. Entre os grupos não houve diferença significativa de idade, sexo ou conformação craniofacial (GOOD et al., 2003). Ainda, a estesiometria pode ser utilizada para avaliar a duração de diferentes tipos de anestesia ocular (DOUET; MICHEL; REGNIER, 2013).

2.8. Distribuição do FL

O ato de piscar estimula a secreção de lágrima pelas glândulas, distribui o FL pela superfície ocular, e promove a drenagem do excesso (SEBBAG; MOCHÉL, 2020). Especula-se que o reflexo de piscar espontaneamente esteja relacionado com a variação de temperatura devido a evaporação do filme lacrimal

(PURSLOW; WOLFFSOHN, 2005). Os cães piscam com uma frequência aproximada de 14,2 piscadas por minuto, próximo ao padrão dos humanos (8,5-17,6 piscadas por minuto) (SEBBAG; MOCHÉL, 2020). Entretanto, esse padrão muda de acordo com a conformação craniofacial. Em cães braquicefálicos, a posição do bulbo ocular relacionada ao crânio dificulta a piscada eficiente e a distribuição do filme lacrimal. Alguns cães são incapazes de fechar completamente os olhos (afecção conhecida como lagofthalmia) e dormem com eles abertos (NUTBROWN-HUGHES, 2021).

Quando o animal pisca, a camada lipídica se espalha pela superfície ocular. A distribuição dessa camada é considerada mais lenta do que a velocidade da piscada. Em humanos, a piscada é completada em 200 a 300 ms, enquanto a camada lipídica tende a se tornar estável após cerca de 1 segundo (YOKOI; BRON; GEORGIEV, 2014). Durante esse processo, a camada lipídica é pressionada entre as margens palpebrais, e se torna mais espessa. Esta compressão separa a camada lipídica da camada mucoaquosa e estimula a secreção das glândulas de Meibômio. Ademais, durante o ato de piscar, novos elementos da porção aquosa são espalhados do menisco em direção à superfície ocular, enquanto novos componentes mucínicos são distribuídos advindos da conjuntiva (CARRINGTON et al., 1987).

O muco pode conter debris epiteliais ou atmosféricos. Com a ação do piscar, os debris são direcionados para o canto medial do olho e então extravasam na pele próxima à região. No cão, os detritos frequentemente se acumulam nessa região. Durante o piscar, o sistema de drenagem é ativado para remover o excesso de fluido (CARRINGTON et al., 1987). Em síntese, o ato de piscar é essencial para a redistribuição e drenagem da lágrima.

2.9. Drenagem

O sistema de drenagem lacrimal tem como objetivo a eliminação do excesso de lágrima. É de extrema importância para a manutenção da homeostase ocular, uma vez que mantém o equilíbrio da quantidade de lágrima na superfície ocular, impedindo o extravasamento (MAGGS; MILLER; OFRI, 2017). Esse

processo ocorre através do movimento de piscar, quando a lágrima acumulada das margens palpebrais é direcionada até as punctas lacrimais superior e inferior (figura 7). Somando-se a isso, a lágrima pode ser direcionada até o canal devido à ação da capilaridade quando ocorre relaxamento dos músculos faciais, facilitado pelos movimentos respiratórios. Ainda, o ato de piscar também funciona como uma bomba para a compressão do saco lacrimal (GELATT et al., 2021).

Em um estudo comparativo acerca do sistema nasolacrimal de cães e humanos, foi observado que ambos apresentam canalículo superior e inferior, e que o inferior apresenta dimensão similar (0,5 a 1 cm). Entretanto, cães dolicocefálicos apresentam ducto nasolacrimal maior em comprimento. Notou-se também que cães apresentam aberturas acessórias no percurso do ducto – no nível dos dentes molares ou pré-molares superiores – mas sua função ainda é desconhecida, acreditando-se ter relação com a hidratação da mucosa oral (HIRT et al., 2012). Mais além, é importante notar que características anatômicas podem influenciar o sistema de drenagem. Por exemplo, braquicefalia em cães impacta diretamente a drenagem lacrimal (BINDER; HERRING, 2010; SEBBAG et al., 2019a). Os cães braquicefálicos apresentam trajeto do ducto nasolacrimal bastante distinto quando comparado com cães dolicocefálicos. Por exemplo, o curso do ducto começa na direção caudal, e depois se direciona rostralmente. O trajeto tortuoso do ducto até as narinas gera uma compressão que dificulta e em alguns casos até impede a drenagem lacrimal correta (SAHR; DIETRICH; OECHTERING, 2021).

Na análise microscópica, o ducto nasolacrimal de humanos e cães é similar. Porém, no epitélio do saco lacrimal, os cães não apresentam células caliciformes como células solitárias, nem vesículas lipídicas (localizadas na parte apical das células epiteliais) ou vacúolos intracelulares (HIRT et al., 2012; PAULSEN et al., 1998). O sistema lacrimal de coelhos é similar ao do ser humano no tocante à reabsorção dos componentes lacrimais. Uma vez que o sistema lacrimal dos cães também é semelhante ao dos humanos, especula-se que o mesmo ocorra nessa espécie (HIRT et al., 2012; PAULSEN et al., 2002; ROHEN, 1964).

Hirt et al. (2012) observou que o epitélio estratificado do ducto nasolacrimal é mais longo em cães dolicocefálicos quando comparado com

humanos, representando $\frac{1}{3}$ do ducto em cães de focinho longo (HIRT et al., 2012). Em cães braquicefálicos o ducto nasolacrimal, além de tortuoso, também apresenta menor comprimento quando comparado com cães dolicocefálicos (SAHR; DIETRICH; OECHTERING, 2021). Em humanos, no fundo do saco lacrimal e na proximidade do turbinado inferior, existem glândulas serosas, que não foram encontradas em cães (HIRT et al., 2012; PAULSEN et al., 1998). Por outro lado, uma quantidade considerável de glândulas serosas foi encontrada na região média do ducto nasolacrimal de cães de focinho longo, enquanto em humanos elas não foram detectadas (HIRT et al., 2012). Por fim, foi sugerido que as mucinas podem influenciar a drenagem da lágrima, modulando sua passagem com base na distribuição pelo sistema eferente de drenagem lacrimal (HIRT et al., 2012; PAULSEN et al., 2003).

O sistema de drenagem lacrimal difere a depender da espécie, e um estudo analisando cada anatomia específica se faz necessário. Em coelhos, por exemplo, uma dilatação do ducto nasolacrimal está presente, uma vez que eles não apresentam saco lacrimal definido, como é visto em cães e humanos (GELATT, 2013).

Um estudo recente afirmou que a administração de medicação tópica é preferível quando comparada à via oral, por exemplo em casos de infecção bacteriana na superfície ocular, uma vez que níveis maiores de antibiótico atingirão o filme lacrimal (SIGMUND et al., 2020). Os autores também observaram que colírios drenam imediatamente para o sistema nasolacrimal quando administradas em humanos, enquanto pomadas podem permanecer por até 108 minutos na superfície ocular. Por isso, são uma alternativa interessante para uso veterinário, uma vez que os animais não parecem ter a visão (qualidade da imagem) afetada pelo uso de pomadas, permitindo o uso durante o dia (GREAVES; WILSON; BIRMINGHAM, 1993; HIRAOKA et al., 2012; LOMHOLT; MØLLER; EHLERS, 2000; SHELL, 1982; SIGMUND et al., 2020).

O ducto nasolacrimal pode ser obstruído, o que interrompe a drenagem lacrimal, processo relacionado a fatores anatômicos, hormonais e vasculares (ALI; PAULSEN, 2019). Essa alteração pode ser tratada de forma ambulatorial, através da lavagem do ducto nasolacrimal, como cirurgicamente. Entretanto a cirurgia se trata de um procedimento invasivo e o tempo de recuperação é prolongado (POPE;

CHAMPAGNE; FOX, 2001). Um estudo de 2018 demonstrou um método menos invasivo para tratar obstruções no aparato nasolacrimonial de cães. Os autores usaram dacriocistorrinografia por tomografia computadorizada contrastada, além de endoscopia do sistema de drenagem e fluoroscopia. Foi possível, por exemplo, realizar biópsia de um tumor no saco lacrimal de um cão (STROM et al., 2018).

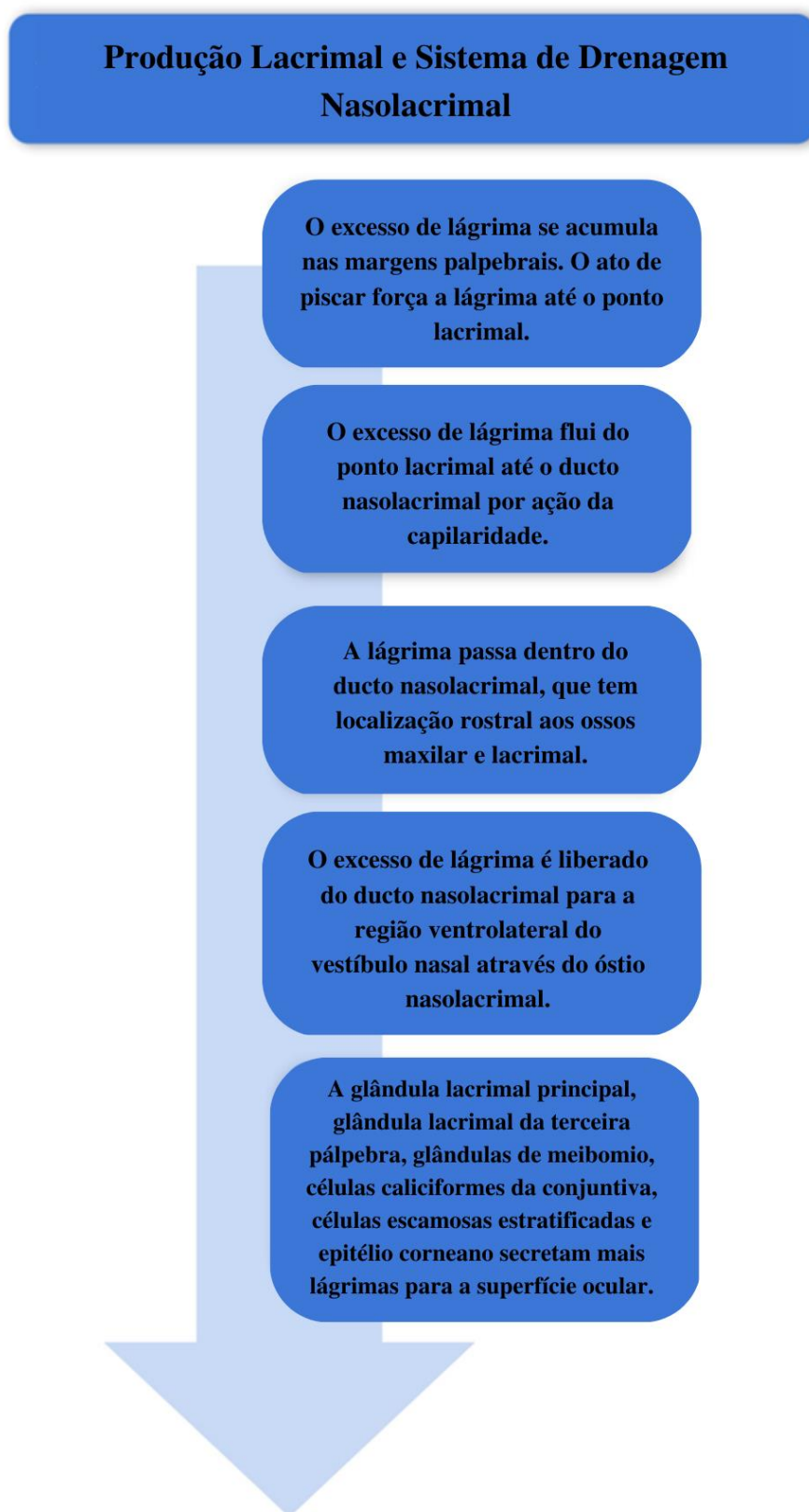


FIGURA 7 – Diagrama do fluxo lacrimal da drenagem até a produção (GELATT et al., 2021).

3. PERFIL BIOQUÍMICO

O filme lacrimal é uma estrutura complexa que contém milhares de moléculas, cada uma com sua função e importância. Uma análise adequada do perfil lacrimal é útil no diagnóstico e tratamento de doenças oculares. Abaixo, discute-se a proteômica, glicômica, lipidômica e metabolômica do filme lacrimal de cães.

3.1. Proteômica

A proteômica é a descrição de uma variedade de proteínas expressas por um tecido específico. Existem alguns métodos eficientes para medi-la, como por exemplo a eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) com dodecilsulfato de sódio (SDS), seguida da espectrometria de massa por ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF-MS/MS). A espectrometria de massa é uma técnica na qual moléculas são transformadas em íons na fase gasosa e então separadas de acordo com a razão massa-carga (m/z) (WILSON; WALKER, 2010).

Para realizar a proteômica, primeiro é necessário coletar o filme lacrimal. Existem dois métodos principais de coleta: a fita do teste de Schirmer ou o tubo capilar (HAWKINS; MURPHY, 1986; GARCÍA-PORTA et al., 2018). A depender da escolha, os resultados podem ser diferentes, uma vez que dependem da preparação da amostra (ANANTHI et al., 2008). O método que utiliza da fita de Schirmer é mais indicado, já que é menos invasivo e é menos provável que cause alguma lesão aos olhos do animal (GRUS; JOACHIM; PFEIFFER, 2007; LI et al., 2008). Além disso, um estudo prévio reportou que a fita retém mais proteínas do que o tubo capilar (FARIAS et al., 2013). Entretanto, outro estudo sugere que a diferença entre os métodos é insignificante com relação a concentração total de proteína (CTP) e a albumina sérica no filme lacrimal (PAGE et al., 2020).

As proteínas do filme lacrimal apresentam diversas funções, sendo uma das mais importantes sua atividade antimicrobiana (a superfície ocular é uma das mais expostas do corpo). Winiarczyk et al. (2015) apontaram que essa função é consistente com as proteínas do sistema imune encontradas na lágrima do cão,

como citocinas, hidrolases, lisozimas e IgG. No total, foram encontradas 125 proteínas no filme lacrimal canino, das quais 16 não são classificadas. Foi realizada uma comparação entre as proteínas da lágrima de cães e humanos, na qual 25 das 125 proteínas provaram ser comuns a ambos. Isso significa que o filme lacrimal entre estas espécies possui certo grau de similaridade, mas apresenta diferenças cruciais que precisam ser levadas em consideração (WINIARCZYK et al., 2015). Ainda, proteínas sozinhas e em conjunto com lipídeos reduzem a tensão superficial do filme (NAGYOVA; TIFFANY, 1999).

Um estudo realizado com mamíferos domésticos (englobando cães), humanos, répteis e pássaros apontou que proteínas com massa molecular maior (glicoproteínas) estão presentes no filme lacrimal de todos estes, incluindo humanos e cães. Ainda, o perfil eletroforético é similar entre as duas espécies (RAPOSO et al., 2020).

As proteínas presentes na lágrima são parte essencial na pesquisa sobre as condições normais do olho e sobre padrões de doenças oculares (ZHOU; BEUERMAN, 2017). Por esse motivo, algumas proteínas são chamadas de biomarcadores (a presença de certas proteínas pode indicar alguma doença). Pode-se citar o biomarcador PRP4, que é baixo em pacientes com síndrome de Sjögren quando comparado com pacientes saudáveis (SAIJYOTHI et al., 2010). A proteômica do filme lacrimal é importante não apenas como função de biomarcador para doenças, mas também pode indicar doenças sistêmicas, como por exemplo alguns tipos de câncer (DE FREITAS CAMPOS et al., 2008).

Em cães, verificou-se que proteínas são expressas de forma diferente entre animais saudáveis e com glaucoma e observaram que várias das proteínas presentes nos cães com glaucoma também estavam presentes em humanos afetados pela doença. Dentre as proteínas, pode-se citar as citocinas interleucina-4 (IL4), fator de crescimento transformador beta (TGF β), fator de necrose tumoral (TNF) e ribonucleoproteína L heterogênea nuclear. Além disso, foi encontrada elevada quantidade de proteínas inflamatórias S100 e imunoglobulinas, assim como várias outras proteínas em comum com pessoas que apresentavam glaucoma (GRAHAM et al., 2021).

Outros aspectos parecem mudar os níveis de proteína nos olhos dos cães, como sexo e conjuntivite. A concentração total de proteína (CTP) e albumina

no filme lacrimal de cães foi maior em machos quando comparado com fêmeas (PAGE et al., 2020). O mesmo padrão foi observado em humanos (ANANTHI et al., 2008). Ainda, a CTP tende a diminuir enquanto a albumina sérica tende a aumentar em cães com conjuntivite experimentalmente induzida (PAGE et al., 2020), e o mesmo aconteceu com cães e humanos com conjuntivite naturalmente adquirida (RUNSTRÖM; MANN; TIGHE, 2013; SEBBAG et al., 2019b). A variação na albumina sérica foi maior nos animais com a doença avançada (PAGE et al., 2020). Apesar da albumina auxiliar na cicatrização da córnea, pode ser prejudicial em altas quantidades, ao influenciar negativamente a biodisponibilidade de fármacos tópicos (SEBBAG; MOODY; MOCHEL, 2020).

Por outro lado, a hora do dia não teve influência significativa na concentração de albumina sérica, mas pareceu seguir um padrão no qual a concentração era maior quando o animal acordava e ao final do dia (PAGE et al., 2020). Esse padrão também foi seguido em humanos (RUNSTRÖM; MANN; TIGHE, 2013).

3.2. Glicômica

Mucinas são glicoproteínas grandes produzidas pelas células caliciformes da conjuntiva, além do epitélio conjuntival e corneano (DAVIDSON; KUONEN, 2004; LINDEN et al., 2008; WILLCOX et al., 2017). As mucinas possuem um alto peso molecular, apresentando pelo menos um domínio de proteína, são ricas em serinas e treoninas e são altamente glicosiladas (WILLCOX et al., 2017).

As mucinas são consideradas parte da camada mucoaquosa, a qual interage com o glicocálix epitelial através das mucinas transmembrana, sendo que o gradiente de mucinas diminui em concentração com a proximidade da camada lipídica (BRON et al., 2017; CHER, 2008; HODGES; DARTT, 2013; WILLCOX et al., 2017).

O glicocálix do filme lacrimal é uma camada difusa composta por filamentos (cadeias laterais de carboidratos, enzimas glicoproteicas e glicolipídios) que adere à porção mucosa da camada mucoaquosa (DAVIDSON; KUONEN, 2004; LINDEN et al., 2008).

As mucinas do filme lacrimal podem ser divididas em duas categorias: mucinas transmembrana (MUC1, MUC4 e MUC16, por exemplo) e mucinas secretadas (MUC2 e MUC5AC, por exemplo) (LEONARD et al., 2016; PAULSEN; BERRY, 2006; YAÑEZ-SOTO et al., 2014). As mucinas secretadas são divididas em solúveis e gelificantes (YAÑEZ-SOTO et al., 2014) e são liberadas primariamente pelas células caliciformes (CARLSTEDT, 1985; FORSTNER, 1994; STROUS; DEKKER, 1992). As mucinas transmembrana são menores do que as mucinas secretadas (HICKS et al., 1998), retêm água, fazem com que a tensão de adesão seja maior para a porção aquosa do filme lacrimal, facilitam a distribuição da lágrima pela superfície ocular, interagem com o citoesqueleto de actina e promovem uma barreira para patógenos. Ao contrário das mucinas secretadas, as mucinas transmembrana não têm origem nas células caliciformes (GIPSON; ARGUESO, 2003; HILKENS et al., 1992; LEONARD et al., 2016; SHIMIZU; SHAW, 1993; VAN KLINKEN et al., 1995; WILLCOX et al., 2017).

Foi postulado que em cães e humanos existe uma grande quantidade de mucinas altamente glicosiladas na conjuntiva, enquanto no ducto nasolacrimal elas estão em menor quantidade. A distribuição das mucinas, como a MUC5AC, pode ter influência na drenagem e reologia (capacidade de deformação e escoamento de um líquido sob influência de uma força ou tensão) da lágrima (HIRT et al., 2012). Ainda, existem especulações de que taxas mais baixas de glicosilação de mucinas poderiam levar a processos autoimunes por distúrbios no sistema imunológico (HIRT et al., 2012; PAULSEN et al., 2003).

Acerca do padrão de expressão das mucinas, a MUC16 é expressa em maior quantidade quando comparada com a MUC1 e MUC4 em cães e humanos, sendo a MUC4 a menos expressa. Também foi observado que a MUC1 apresenta uma distribuição espacial interessante: a periferia da córnea apresentou maiores níveis da mucina do que a córnea central em cães e no macaco-rhesus. Essa diferença pode ser um fator importante quando se trata da estabilidade do filme lacrimal (LEONARD et al., 2016).

Estudos anteriores mostraram que as mucinas não são relevantes na diferenciação entre lágrimas reflexas e não reflexas, sugerindo uma mesma concentração em ambos os tipos de lágrima, com viscosidade similar (ALANAZI et al., 2019; PANDIT et al., 1999; TIFFANY; WINTER; BLISS, 1989).

Outro exemplo de glicoproteína são as imunoglobulinas, como IgA, IgM e IgG (SCHROEDER JR; CAVACINI, 2010). Essas moléculas estão presentes na porção aquosa da camada mucoaquosa e agem como componente antimicrobiano da lágrima (BRON; SEAL, 1986; DAVIDSON; KUONEN, 2004; GELATT, 2013). Imunoglobulinas podem ser coletadas com um swab na mucosa da terceira pálpebra e da pálpebra inferior. Ainda, o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), que é baseado no complexo antígeno-anticorpo, é um método interessante para medir a concentração de imunoglobulinas na lágrima (GERMAN; HALL; DAY, 1998).

IgA é a principal imunoglobulina no filme lacrimal enquanto IgM e IgG são encontradas em concentrações menores (BRON; SEAL, 1986; GERMAN; HALL; DAY, 1998; VAERMAN; HEREMANS, 1969), com as últimas aumentando em quantidade em processos inflamatórios (BRON; SEAL, 1986; DAVIDSON; KUONEN, 2004). Pesquisas anteriores mostraram que a concentração absoluta de IgA é menor em cães com 12 meses ou menos quando comparados com animais mais velhos. Comparações também foram feitas acerca da concentração de imunoglobulinas na lágrima e na saliva. Por exemplo, IgG, IgA e IgM apresentam taxas de secreção menor na lágrima em relação à saliva. Existe uma proporção direta entre a concentração de albumina e a quantidade de IgG na lágrima, fato que não acontece com IgM e IgA. Contudo, IgM e IgA tem concentrações correlacionadas (GERMAN; HALL; DAY, 1998). Em pesquisas sobre oftalmologia humana, foram conduzidas análises sobre a influência de diferentes doenças em aspectos da composição do filme lacrimal, incluindo imunoglobulinas (HAGAN; MARTIN; ENRÍQUEZ-DE-SALAMANCA, 2016). Estudos similares em cães ainda não foram realizados.

3.3. Lipidômica

A lipidômica está relacionada aos diferentes lipídios presentes em um tecido. A maioria dos lipídios encontrados na lágrima são aqueles produzidos pelas glândulas de Meibômio (BUTOVICH et al., 2012). Eles são essenciais para a estabilidade do filme lacrimal, e problemas que os envolvem podem afetar a

superfície ocular e causar doenças mais severas como a doença do olho seco. Butovich et al. (2011) compararam o lipidoma de cães com o de humanos através de cromatografia líquida de alta eficiência e ionização química a pressão atmosférica (espectrometria de massa) (BUTOVICH; BOROWIAK; EULE, 2011).

A cromatografia tem como princípio a análise em que um compostos (os lipídios do filme lacrimal) se espalham em duas fases imiscíveis: uma fase estacionária (composto líquido ou sólido) que é imobilizada, e uma fase livre (líquida ou gasosa). Durante o processo, as amostras passam por ambas as fases, até que a diferença entre seus coeficientes de distribuição as separe (WILSON; WALKER, 2010).

Verificou-se que a maioria das classes reconhecidas de lipídios foram os ésteres de colesterol de cadeia longa (CE), ésteres de cera (WE), ácidos graxos ômega-acil hidroxil (OAHFA) e CE-OAHFA (BUTOVICH; BOROWIAK; EULE, 2011). As mesmas moléculas já foram encontradas em amostras de filme lacrimal humano. O CE-OAHFA foi encontrado em maiores concentrações em cães do que em humanos (NICOLAIDES; SANTOS, 1985). Uma grande quantidade de compostos diéster com valores m/z de 900 a 1050 foi encontrada em cães. Estes valores diferiram consideravelmente dos valores em humanos (BUTOVICH; BOROWIAK; EULE, 2011).

Os lipídios presentes no filme lacrimal também auxiliam na diminuição da tensão superficial da lágrima. Mais especificamente, os lipídios polares, que são secretados pelas glândulas de Meibômio e outras estruturas, como as membranas celulares, são as principais estruturas responsáveis por diminuir a tensão superficial (YAÑEZ-SOTO et al., 2014).

3.4. Metabolômica

A metabolômica é o estudo dos produtos (metabólitos) do metabolismo das moléculas. A visão geral dos metabólitos da lágrima é essencial para entender os processos bioquímicos dinâmicos que acontecem no olho. Também pode ser mais uma ferramenta no diagnóstico de doenças. As principais técnicas utilizadas na análise global metabolômica são ressonância magnética nuclear (NMR),

espectrometria de massa por cromatografia em fase gasosa (GC-MS) e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS). LC-MS/MS possui maior sensibilidade e é capaz de identificar uma grande variedade de metabólitos (CHEN et al., 2011). Esse método já foi utilizado para quantificar metabólitos urinários, além da concentração sérica de vitaminas e para monitorar alguns fármacos. LC-MS/MS usa como princípio a cromatografia e a espectrometria de massa. A novidade é que uma fase líquida é utilizada para separar os compostos durante a cromatografia. Em seguida, as moléculas são ionizadas e identificadas de acordo com a relação massa-carga, utilizando dois espectrômetros em sequência (VOGESER, 2003).

Chen et al. (2011) usaram o método de LC-MS/MS para caracterizar a metabolômica em lágrimas de humanos, descrevendo 60 diferentes metabólitos, incluindo aminoácidos, aminoálcoois, aminocetonas, ácidos aromáticos, hidratos de carbono, carnitinas, aminas cíclicas, ácidos dicarboxílicos, nucleósidos, nucleótidos, péptidos, fosfolípidos, purinas e derivados, piridoxais e derivados, aminas quaternárias e ácidos tricarboxílicos (CHEN et al., 2011).

A metabolômica é uma técnica nova e promissora que pode ser bastante útil como um biomarcador de doença do olho seco e pode ajudar os médicos veterinários em novos diagnósticos e monitoramento da progressão de doenças (YAZDANI et al., 2019). Até o momento, o estudo global dos metabólitos lacrimais em cães ainda não foi realizado, mas, como cães e humanos compartilham diversas características oculares, é possível usar os estudos em humanos como forma de comparação com o intuito de suscitar pesquisas inovadoras que possam certificar a possibilidade do uso desta ferramenta dentro da Medicina Veterinária.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A superfície ocular é a junção de estruturas oculares e anexas. É crucial para a manutenção da saúde ocular, e por isso, é essencial a realização de novas pesquisas acerca do assunto. Essa revisão teve como objetivo abordar os principais tópicos envolvendo o FL dos cães, como sua composição, propriedades, estimulação nervosa e sensibilidade, distribuição e perfil bioquímico. Vários tópicos acerca do FL em cães ainda carecem de estudos. Em especial, o perfil bioquímico da lágrima e o uso de moléculas como biomarcadores pode ser crucial para o diagnóstico precoce de doenças e o tratamento preventivo eficaz e individualizado.

Ainda, em vários tópicos foram comparados dados oculares de cães e de humanos, uma vez que o cão é um ótimo candidato a ser um modelo translacional para o estudo oftalmológico de afecções humanas. O cão apresenta características anatômicas e fisiológicas similares, estressores ambientais semelhantes e doenças oftálmicas de ocorrência natural que se assemelham às doenças humanas.

5. REFERÊNCIAS

- ALANAZI, S. A. et al. A comparative study of the quality of non-stimulated and stimulated tears in normal eye male subjects using the tear ferning test. **Clinical Optometry**, v. 11, p. 65, 2019.
- ALI, M. J.; PAULSEN, F. Etiopathogenesis of primary acquired nasolacrimal duct obstruction: what we know and what we need to know. **Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery**, v. 35, n. 5, p. 426–433, 2019.
- ANANTHI, S. et al. Comparative analysis of the tear protein profile in mycotic keratitis patients. **Molecular Vision**, v. 14, p. 500, 2008.
- BARRETT, P. M. et al. Absolute corneal sensitivity and corneal trigeminal nerve anatomy in normal dogs. **Prog Vet Comp Ophthalmol**, v. 1, n. 4, p. 245–254, 1991.
- BINDER, D. R.; HERRING, I. P. Evaluation of nasolacrimal fluorescein transit time in ophthalmically normal dogs and nonbrachycephalic cats. **American journal of veterinary research**, v. 71, n. 5, p. 570–574, 2010.
- BOLZANNI, H. et al. Aqueous tear assessment in dogs: Impact of cephalic conformation, inter-test correlations, and test-retest repeatability. **Veterinary ophthalmology**, v. 23, n. 3, p. 534–543, 2020.
- BRITO, F. L. DA C. et al. Assessment of tear film osmolarity using the IPen® Vet osmometer in Pug and Shih-Tzu dogs with and without keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v. 25, n. 3, p. 219–224, 2022.
- BRON, A. J. et al. Tfos dewes ii pathophysiology report. **The ocular surface**, v. 15, n. 3, p. 438–510, 2017.
- BRON, A. J.; SEAL, D. V. The defences of the ocular surface. **Transactions of the ophthalmological societies of the United Kingdom**, v. 105, p. 18–25, 1986.
- BUTOVICH, I. A. Lipidomic Analysis of Human Meibum Using HPLC–MS n. Em: **Lipidomics**. [s.l.] Springer, 2009. p. 221–246.
- BUTOVICH, I. A. et al. Toward an animal model of the human tear film: biochemical comparison of the mouse, canine, rabbit, and human meibomian lipidomes. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 53, n. 11, p. 6881–6896, 2012.
- BUTOVICH, I. A.; BOROWIAK, A. M.; EULE, J. C. Comparative HPLC-MSn analysis of canine and human meibomian lipidomes: many similarities, a few differences. **Scientific reports**, v. 1, n. 1, p. 1–12, 2011.
- CARLSTEDT, I. Mucus glycoproteins—a gel of a problem. **Essays Biochem**, v. 20, p. 40–76, 1985.
- CARRINGTON, S. D. et al. Polarized light biomicroscopic observations on the pre-corneal tear film. 1. The normal tear film of the dog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 28, n. 7, p. 605–622, 1987.

- CHEN, Z. et al. Comparison of camel tear proteins between summer and winter. **Molecular vision**, v. 17, p. 323, 2011.
- CHER, I. A new look at lubrication of the ocular surface: fluid mechanics behind the blinking eyelids. **The ocular surface**, v. 6, n. 2, p. 79–86, 2008.
- CRAIG, J. P. et al. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. **The Ocular Surface**, TFOS International Dry Eye WorkShop (DEWS II). v. 15, n. 3, p. 276–283, 1 jul. 2017.
- DARTT, D. A. Neural regulation of lacrimal gland secretory processes: relevance in dry eye diseases. **Progress in retinal and eye research**, v. 28, n. 3, p. 155–177, 2009.
- DARTT, D. A. et al. Conjunctival goblet cell secretion stimulated by leukotrienes is reduced by resolvins D1 and E1 to promote resolution of inflammation. **The Journal of Immunology**, v. 186, n. 7, p. 4455–4466, 2011.
- DAVIDSON, H. J.; KUONEN, V. J. The tear film and ocular mucins. **Veterinary ophthalmology**, v. 7, n. 2, p. 71–77, 2004.
- DE FREITAS CAMPOS, C. et al. Proteomic analysis of dog tears for potential cancer markers. **Research in veterinary science**, v. 85, n. 2, p. 349–352, 2008.
- DOUET, J.-Y.; MICHEL, J.; REGNIER, A. Degree and duration of corneal anesthesia after topical application of 0.4% oxybuprocaine hydrochloride ophthalmic solution in ophthalmically normal dogs. **American journal of veterinary research**, v. 74, n. 10, p. 1321–1326, 2013.
- DRUMMOND, P. D. Lacrimation and cutaneous vasodilatation in the face induced by painful stimulation of the nasal ala and upper lip. **Journal of the autonomic nervous system**, v. 51, n. 2, p. 109–116, 1995.
- EKENSTEDT, K. J.; CROSSE, K. R.; RISSELADA, M. Canine brachycephaly: anatomy, pathology, genetics and welfare. **Journal of comparative pathology**, v. 176, p. 109–115, 2020.
- FARIAS, E. et al. Comparison of two methods of tear sampling for protein quantification by Bradford method. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 261–264, 2013.
- FORSTNER, J. F. Gastrointestinal mucus. **Physiology of the gastrointestinal tract**, v. 2, p. 1255–1283, 1994.
- GARCÍA-PORTA, N. et al. The potential influence of Schirmer strip variables on dry eye disease characterisation, and on tear collection and analysis. **Contact Lens and Anterior Eye**, v. 41, n. 1, p. 47–53, 2018.
- GELATT, K. N. **Essentials of veterinary ophthalmology**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2013.
- GELATT, K. N. et al. **Veterinary ophthalmology**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2021.

- GERMAN, A. J.; HALL, E. J.; DAY, M. J. Measurement of IgG, IgM and IgA concentrations in canine serum, saliva, tears and bile. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 64, n. 2, p. 107–121, 1998.
- GIPSON, I. K.; ARGUESO, P. Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. **Int Rev Cytol**, v. 231, n. 1, p. 1–49, 2003.
- GOOD, K. L. et al. Corneal sensitivity in dogs with diabetes mellitus. **American journal of veterinary research**, v. 64, n. 1, p. 7–11, 2003.
- GRAHAM, K. L. et al. A technique for shotgun proteomic analysis of the precorneal tear film in dogs with naturally occurring primary glaucoma. **Veterinary Ophthalmology**, v. 24, p. 131–145, 2021.
- GREAVES, J. L.; WILSON, C. G.; BIRMINGHAM, A. T. Assessment of the precorneal residence of an ophthalmic ointment in healthy subjects. **British journal of clinical pharmacology**, v. 35, n. 2, p. 188, 1993.
- GRUS, F. H.; JOACHIM, S. C.; PFEIFFER, N. Proteomics in ocular fluids. **PROTEOMICS–Clinical Applications**, v. 1, n. 8, p. 876–888, 2007.
- HAGAN, S.; MARTIN, E.; ENRÍQUEZ-DE-SALAMANCA, A. Tear fluid biomarkers in ocular and systemic disease: potential use for predictive, preventive and personalised medicine. **Epma Journal**, v. 7, n. 1, p. 1–20, 2016.
- HARTLEY, C.; WILLIAMS, D. L.; ADAMS, V. J. Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 1, p. 53–57, 2006.
- HAWKINS, E. C.; MURPHY, C. J. Inconsistencies in the absorptive capacities of Schirmer tear test strips. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 188, n. 5, p. 511–513, 1986.
- HICKS, S. J. et al. Biochemical analysis of ocular surface mucin abnormalities in dry eye: the canine model. **Experimental eye research**, v. 67, n. 6, p. 709–718, 1998.
- HILKENS, J. et al. Cell membrane-associated mucins and their adhesion-modulating property. **Trends in biochemical sciences**, v. 17, n. 9, p. 359–363, 1992.
- HIRAOKA, T. et al. Time course of changes in ocular wavefront aberration after administration of eye ointment. **Eye**, v. 26, n. 10, p. 1310–1317, 2012.
- HIRT, R. et al. Comparative Anatomy of the Human and Canine Efferent Tear Duct System–Impact of Mucin MUC5AC on Lacrimal Drainage. **Current eye research**, v. 37, n. 11, p. 961–970, 2012.
- HODGES, R. R.; DARTT, D. A. Tear film mucins: front line defenders of the ocular surface; comparison with airway and gastrointestinal tract mucins. **Experimental eye research**, v. 117, p. 62–78, 2013.

IWASHITA, H. et al. A review of diagnostic tests for qualitative and quantitative tear film deficiency in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, 2022.

IWATA, S. Chemical composition of the aqueous phase. **International ophthalmology clinics**, v. 13, n. 1, p. 29–46, 1973.

KING-SMITH, E. et al. The thickness of the tear film. **Current eye research**, v. 29, n. 4–5, p. 357–368, 2004.

KOOK, K. Y. et al. Tear osmolarity and matrix metalloproteinase-9 in dry eye associated with Sjögren's syndrome. **Korean journal of ophthalmology: KJO**, v. 34, n. 3, p. 179, 2020.

LAMKIN, I. D. et al. Osmolarity of basal and reflex tears of normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 23, n. 4, p. 747–753, 2020.

LEMP, M. A.; FOULKES, G. N. The definition and classification of dry eye disease. **Ocul Surf**, v. 5, n. 2, p. 75–92, 2007.

LEONARD, B. C. et al. Species variation and spatial differences in mucin expression from corneal epithelial cells. **Experimental eye research**, v. 152, p. 43–48, 2016.

LEONARD, B. C. et al. Stromal collagen arrangement correlates with stiffness of the canine cornea. **Bioengineering**, v. 7, n. 1, p. 4, 2019.

LI, S. et al. Antibody protein array analysis of the tear film cytokines. **Optometry and Vision Science**, v. 85, n. 8, p. E653–E660, 2008.

LINDEN, S. K. et al. Mucins in the mucosal barrier to infection. **Mucosal immunology**, v. 1, n. 3, p. 183–197, 2008.

LOMHOLT, J. A.; MØLLER, J. K.; EHLERS, N. **Prolonged persistence on the ocular surface of fortified gentamicin ointment as compared to fortified gentamicin eye drops**. *Acta Ophthalmologica Scandinavica* Wiley Online Library, , 2000.

LOURENÇO-MARTINS, A. M. et al. Allergic conjunctivitis and conjunctival provocation tests in atopic dogs. **Veterinary ophthalmology**, v. 14, n. 4, p. 248–256, 2011.

MAGGIO, F. Ocular surface disease in dogs part 1: aetiopathogenesis and clinical signs. **Companion Animal**, v. 24, n. 5, p. 240–245, 2019.

MAGGS, D.; MILLER, P.; OFRI, R. **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology E-Book**. [s.l.] Elsevier Health Sciences, 2017.

MAYHEW, P. D.; BUSH, W. W.; GLASS, E. N. Trigeminal neuropathy in dogs: a retrospective study of 29 cases (1991–2000). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 38, n. 3, p. 262–270, 2002.

MCCULLEY, J. P.; SHINE, W. A compositional based model for the tear film lipid layer. **Transactions of the American Ophthalmological Society**, v. 95, p. 79, 1997.

- NAGYOVA, B.; TIFFANY, J. M. Components responsible for the surface tension of human tears. **Current eye research**, v. 19, n. 1, p. 4–11, 1999.
- NICOLAIDES, N.; SANTOS, E. C. The di- and triesters of the lipids of steer and human meibomian glands. **Lipids**, v. 20, n. 7, p. 454–467, 1985.
- NUTBROWN-HUGHES, D. Brachycephalic ocular syndrome in dogs. **Companion Animal**, v. 26, n. 5, p. 1–9, 2021.
- OLIVRY, T. et al. Validation of CADESI-03, a severity scale for clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis. **Veterinary dermatology**, v. 18, n. 2, p. 78–86, 2007.
- ORIÁ, A. P. et al. Tear ferning test in healthy dogs. **Veterinary ophthalmology**, v. 21, n. 4, p. 391–398, 2018.
- PAGE, L. et al. Impact of diurnal variation, sex, tear collection method, and disease state on tear protein levels in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 23, n. 6, p. 994–1000, 2020.
- PANDIT, J. C. et al. Physical properties of stimulated and unstimulated tears. **Experimental eye research**, v. 68, n. 2, p. 247–253, 1999.
- PAULSEN, F. et al. Functional anatomy of human lacrimal duct epithelium. **Anatomy and embryology**, v. 198, n. 1, p. 1–12, 1998.
- PAULSEN, F. P. et al. Animal model for the absorption of lipophilic substances from tear fluid by the epithelium of the nasolacrimal ducts. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 43, n. 10, p. 3137–3143, 2002.
- PAULSEN, F. P. et al. Characterization of mucins in human lacrimal sac and nasolacrimal duct. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 44, n. 5, p. 1807–1813, 2003.
- PAULSEN, F. P.; BERRY, M. S. Mucins and TFF peptides of the tear film and lacrimal apparatus. **Progress in histochemistry and cytochemistry**, v. 41, n. 1, p. 1–53, 2006.
- PETERS, K.; MILLAR, T. J. The role of different phospholipids on tear break-up time using a model eye. **Current eye research**, v. 25, n. 1, p. 55–60, 2002.
- PFLUGFELDER, S. C.; STERN, M. E. Biological functions of tear film. **Experimental eye research**, v. 197, p. 108115, 2020.
- POPE, E. R.; CHAMPAGNE, E. S.; FOX, D. Intraosseous approach to the nasolacrimal duct for removal of a foreign body in a dog. **JOURNAL-AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION**, v. 218, n. 4, p. 541–542, 2001.
- PRÉMONT, J. E. et al. Perilimbal pocket technique for surgical repositioning of prolapsed nictitans gland in dogs. **Veterinary Record**, v. 171, n. 10, p. 247–247, 2012.
- PURSLOW, C.; WOLFFSOHN, J. S. Ocular surface temperature: a review. **Eye & contact lens**, v. 31, n. 3, p. 117–123, 2005.

- RAPOSO, A. C. et al. Comparative analysis of tear composition in humans, domestic mammals, reptiles, and birds. **Frontiers in veterinary science**, v. 7, p. 283, 2020.
- ROHEN, J. W. Lidapparat. Em: **Haut und Sinnesorgane**. [s.l.] Springer, 1964. p. 431–471.
- RUNSTRÖM, G.; MANN, A.; TIGHE, B. The fall and rise of tear albumin levels: a multifactorial phenomenon. **The ocular surface**, v. 11, n. 3, p. 165–180, 2013.
- SAHR, S.; DIETRICH, A.; OECHTERING, G. Evaluating malformations of the lacrimal drainage system in brachycephalic dog breeds: A comparative computed tomography analysis. **Plos one**, v. 16, n. 9, p. e0257020, 2021.
- SAIJYOTHI, A. V. et al. Two dimensional electrophoretic analysis of human tears: collection method in dry eye syndrome. **Electrophoresis**, v. 31, n. 20, p. 3420–3427, 2010.
- SAITO, A. et al. The effect of third eyelid gland removal on the ocular surface of dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 4, n. 1, p. 13–18, 2001.
- SCHROEDER JR, H. W.; CAVACINI, L. Structure and function of immunoglobulins. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 125, n. 2, p. S41–S52, 2010.
- SEBBAG, L. et al. Fluorophotometric assessment of tear volume and turnover rate in healthy dogs and cats. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 35, n. 9, p. 497–502, 2019a.
- SEBBAG, L. et al. Histamine-induced conjunctivitis and breakdown of blood–tear barrier in dogs: a model for ocular pharmacology and therapeutics. **Frontiers in pharmacology**, v. 10, p. 752, 2019b.
- SEBBAG, L.; MOCHEL, J. P. An eye on the dog as the scientist’s best friend for translational research in ophthalmology: focus on the ocular surface. **Medicinal Research Reviews**, v. 40, n. 6, p. 2566–2604, 2020.
- SEBBAG, L.; MOODY, L. M.; MOCHEL, J. P. Albumin levels in tear film modulate the bioavailability of medically-relevant topical drugs. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, p. 1560, 2020.
- SHELL, J. W. Pharmacokinetics of topically applied ophthalmic drugs. **Survey of ophthalmology**, v. 26, n. 4, p. 207–218, 1982.
- SHIMIZU, Y.; SHAW, S. Mucins in the mainstream. **Nature**, v. 366, n. 6456, p. 630–631, 1993.
- SIGMUND, A. B. et al. Tear film concentrations of topically applied 0.5% oxytetracycline ointment in normal canine eyes. **Veterinary Ophthalmology**, v. 23, n. 4, p. 707–713, 2020.
- SITU, P.; SIMPSON, T. L. Interaction of corneal nociceptive stimulation and lacrimal secretion. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 51, n. 11, p. 5640–5645, 2010.

- STROM, A. R. et al. A multidisciplinary, minimally invasive approach combining lacrimoscopy and fluoroscopically guided stenting for management of nasolacrimal apparatus obstruction in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 252, n. 12, p. 1527–1537, 2018.
- STROUS, G. J.; DEKKER, J. Mucin-type glycoproteins. **Critical reviews in biochemistry and molecular biology**, v. 27, n. 1–2, p. 57–92, 1992.
- TIFFANY, J. M.; WINTER, N.; BLISS, G. Tear film stability and tear surface tension. **Current eye research**, v. 8, n. 5, p. 507–515, 1989.
- VAERMAN, J.-P.; HEREMANS, J. F. The immunoglobulins of the dog—II. The immunoglobulins of canine secretions. **Immunochemistry**, v. 6, n. 6, p. 779–786, 1969.
- VAN KLINKEN, B. J. et al. Mucin gene structure and expression: protection vs. adhesion. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 269, n. 5, p. G613–G627, 1995.
- VOGESER, M. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry—application in the clinical laboratory. 2003.
- WILLCOX, M. D. et al. TFOS DEWS II tear film report. **The ocular surface**, v. 15, n. 3, p. 366–403, 2017a.
- WILSON, K.; WALKER, J. **Principles and techniques of biochemistry and molecular biology**. [s.l.] Cambridge university press, 2010.
- WINIARCZYK, M. et al. Dog tear film proteome in-depth analysis. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0144242, 2015.
- YAÑEZ-SOTO, B. et al. Interfacial phenomena and the ocular surface. **The ocular surface**, v. 12, n. 3, p. 178–201, 2014.
- YAZDANI, M. et al. Tear metabolomics in dry eye disease: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 15, p. 3755, 2019.
- YOKOI, N.; BRON, A. J.; GEORGIEV, G. A. The precorneal tear film as a fluid shell: the effect of blinking and saccades on tear film distribution and dynamics. **The ocular surface**, v. 12, n. 4, p. 252–266, 2014.
- ZHOU, L.; BEUERMAN, R. W. The power of tears: how tear proteomics research could revolutionize the clinic. **Expert review of proteomics**, v. 14, n. 3, p. 189–191, 2017.