

ACÇÃO DO SULFATO DE CONDRUITINA "A" ASSOCIADO À CIPROFLOXACINA EM ÚLCERAS DE CÓRNEA EM CAVALOS

Action of Chondroitin Sulfate Associate to the Ciprofloxacin Corneal Ulcers in Horses

*Antônio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk*¹

*Ivan Zulian*²

*Graziela Muller*³

*Ana Letícia Groszewicz de Souza*⁴

Resumo

Os glicosaminoglicanos possuem ação inibidora da plasmina, uma enzima fibrinolítica encontrada em altas concentrações em córneas lesadas, além de ação anabólica sobre fibroblastos, condrócitos e sinoviócitos. O objetivo desta pesquisa foi estudar os efeitos clínicos da instilação tópica de uma associação de ciprofloxacina e sulfato de condroitina "A" sobre a cicatrização de úlceras corneanas experimentais produzidas em cavalos. Para isso, foram utilizados 10 olhos de cinco cavalos, nos quais a córnea foi submetida à trefinação central e observação durante 24 horas para início dos tratamentos. Considerando-se cada animal como seu próprio controle, os olhos do lado direito compuseram o grupo controle, nos quais se instilou colírio de tobramicina quatro vezes ao dia e os olhos do lado esquerdo o grupo tratamento, submetidos à instilação de uma associação de sulfato de condroitina "A" com ciprofloxacina duas vezes ao dia. Os cavalos foram examinados a cada dois dias, durante 30 dias, para avaliação dos sinais clínicos. A cicatrização das úlceras foi confirmada por prova de retenção de fluoresceína negativa. Os olhos tratados com sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina apresentaram redução precoce dos sinais clínicos e preenchimento do leito da úlcera com tecido cicatricial de melhor qualidade, obtendo cicatrização sem leucoma em 80% dos olhos em 14 dias. Os olhos controle apresentaram edema corneano e neovascularização mais importantes e a redução dos sinais clínicos, bem como a cicatrização iniciaram-se tardiamente, resultando em discreto leucoma.

Palavras-chave: Úlcera; Córnea; Glicosaminoglicano; Equino.

¹ Professor Titular de Clínica Cirúrgica e Oftalmologia Veterinária da UFPR e PUCPR, Av. Sete de setembro, 5415/901. CEP: 80240-000, Curitiba/PR, e-mail: arsvet2@bsi.com.br.

² Professor Assistente de Clínica Médica de Equinos da UFPR, Departamento de Medicina Veterinária UFPR, e-mail: dmvm@ufpr.br.

³ Mestranda do Curso Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFPR, Departamento de Medicina Veterinária UFPR, e-mail: dmvm@ufpr.br.

⁴ Médica Veterinária Residente do Hospital Veterinário para Animais de Companhia da PUCPR, Departamento de Medicina Veterinária UFPR, e-mail: dmvm@ufpr.br.

Abstract

Polisulfated glicosaminoglycans (PSGAG) inhibits plasmin, a fibrinolytic enzyme found at high concentration in corneal wounds. They also have an anabolic effect on fibroblasts, chondrocytes and synoviocytes. This study was conducted to evaluate the potential efficacy of one topical ocular association of ciprofloxacin and chondroitin sulfate, a PSGAG, on the healing of experimental corneal ulcers in horses. Ten eyes of five horses were employed. The corneas were submitted to central trephination and watched during 24 hours until onset of treatments. The right eyes were the control group treated with tobramycin drops, four times a day, and the left eyes were treated with association of chondroitin sulfate and ciprofloxacin drops, twice a day. The horses were monitored every two days during 30 days, for the ocular clinical signs. They were considered healed when negative for fluorescein. The treated eyes with chondroitin and sulfate ciprofloxacin showed early decrease of clinical signs and more rapid healing leading to 80% of healed ulcers in 14 days. The control eyes presented a more important and longer corneal edema and neovascularization (pannus) and later healing with limited leukoma.

Keywords: Ulcer; Cornea; Glicosaminoglycan; Equine.

Introdução

Perdas epiteliais e de porções variadas do estroma corneano são definidas como ceratite ulcerativa (STARTUP, 1984). Nessa última, dor, lacrimejamento, blefarospasmo, secreção ocular, fotofobia e uveíte reflexa são os sinais clínicos mais representativos (KERN, 1990). Dentre as várias causas capazes de motivar seu aparecimento, destacam-se os traumas, corpo estranho, anormalidades palpebrais dos cílios e aparelho lacrimal, infecções virais e micóticas, deficiências nutricionais, queimaduras químicas e imunopatias (HELPER, 1989; SLATTER, 2001).

As úlceras corneanas estão entre as afecções oculares mais comuns em eqüinos (DAVIDSON, 1991). Essas são classificadas conforme sua profundidade em superficial, profunda ou descemetocel. As primeiras reparam-se por meio de migração e mitose de células basais num período de 4 a 7 dias, com mínima formação de cicatriz (BANKS, 1992; SLATTER, 2001; DONZIS; MONDINO, 1987; WHITLEY, 1991). Nos casos de cronificação e retardo na formação de tecido cicatricial, pigmentos representados por melanócitos invadem as áreas lesadas e comprometem a transparência corneana (SLATTER, 2001).

Quando a lesão localiza-se no estroma profundo e infecções bacterianas cursam simultaneamente, o processo exudativo é mais complexo (SLATTER, 2001). As lesões estromais demandam maior tempo para que sejam reparadas e, em muitos casos, a regeneração depende de neovascularização apropriada, embora a cura ocorra em condições de avascularidade (NASSISSE, 1985; WHITLEY, 1991). Como produto final do processo de

reparação cicatricial, o arranjo irregular de fibras colágenas é condição comumente vista e se manifesta sob as formas de nébula, mácula ou leucoma (SLATTER, 2001).

As “stem cells” são consideradas indispensáveis para a integridade da superfície corneana, promovendo sua renovação em condições normais e reepitelização em processos reparatórios (SWIFT et al., 1996; HAAMANN et al., 1998; DUA; AZURABLANCO, 1999). Elas possuem alta capacidade de proliferação, diferenciação e maturação e são encontradas na porção basal do epitélio do limbo (HAAMANN et al., 1998). Seus movimentos centrípetos na periferia da córnea, limbo e conjuntiva são responsáveis pela substituição do epitélio corneano (WAGONER, 1997).

Assim como as “stem cells”, a fibronectina, uma glicoproteína presente no plasma e matriz extracelular, também é considerada de grande importância na cicatrização de úlceras corneanas, pois essa proteína promove migração das células epiteliais, permite o ancoramento delas à membrana basal e promove a organização de tecido conectivo corneano (NISHIDA, 1983; TERVO *apud* WOUK et al., 1998; TERVO *apud* WOUK et al., 1998). Sua destruição ocorre por ação da plasmina, uma enzima fibrinolítica encontrada em altas concentrações nas feridas de córnea, cuja capacidade de destruição confere importância relevante na patogênese das úlceras corneanas (SALONEN *apud* WOUK et al., 1998).

Os glicosaminoglicanos polissulfatados (GAGPS) inibem tanto a plasmina como os ativadores do plasminogênio (BURKHARDT; GHOSH *apud* WOUK et al., 1998; WILLEFORD; MILLER; ABRAMS *apud* ANDREW; GELATT, 2001). Esses

possuem efeito anabólico sobre fibroblastos, condrócitos e sinoviócitos (BURKHARDT; GHOSH *apud* WOUK et al., 1998). Além disso, os GAGPS possuem a habilidade de "varrer" radicais livres, diminuir a liberação de prostaglandina E₂, bloquear a ativação do complemento e diminuir a produção de interleucina-1, exercendo, assim, ação anti-inflamatória (RASHMIR-RAVEN et al., 1992 RONCA et al. *apud* DAVIDSON, 2000). Segundo Clegg et al. (1998), os GAGPS também inibem a degradação de colágeno pelas metaloproteínas – grupo de enzimas responsáveis pela degradação fisiológica e patológica da matriz extracelular do estroma.

Miller (1996) e Wouk et al. (1998) estudaram os efeitos dos GAGPS em úlceras recorrentes de cães e eqüinos, respectivamente. Ambos utilizaram uma solução oftálmica de glicosaminoglicanos polissulfatados a 5% e obtiveram a cicatrização de úlceras num período de 1 a 3 semanas após o trauma, com sucesso de 83% e 86%, respectivamente. Verificaram, ainda, diminuição do blefarospasmo nas primeiras 48 horas, o que permitiu sugerir sua ação anti-inflamatória tópica.

O sucesso no manejo das úlceras corneanas consiste em, a partir do diagnóstico, determinar sua etiologia, prevenir sua progressão e realizar procedimentos que visem a manutenção da integridade da córnea e a produção de condições ótimas para a sua cicatrização (SLATTER, 2001). Terapia antimicrobiana profilática é indicada no tratamento de úlceras corneanas em cavalos, sendo direcionada contra microrganismos da flora conjuntival normal, capazes de colonizar o estroma em presença de dano epitelial. Neomicina, polimixina B, gentamicina e cloranfenicol são opções de antibióticos, assim como gentamicina, ampicilina e tobramicina ou ciprofloxacina, norfloxacina e ofloxacina (DAVIDSON, 1991; HAMOR; WHELAN, 1999; WHITLEY, 2000; WHITLEY, 2000).

Também estão indicados os inibidores da colagenase como a acetilcisteína, a cisteína, o citrato, o ascorbato de sódio, o tripeptídeo β-mercaptopetil, a tetraciclina sistêmica, o EDTA sódico e soro sangüíneo, entre outros (BARNETT et al., 1995; DONZIS; MONDINO, 1987; BURNS et al., 1990; WAGONER, 1997; BURNS et al., 1990; BARNETT et al., 1995). A eficácia dos derivados da tetraciclina em reduzir a atividade da colagenase deve-se à quelação do zinco, impedindo a sua ligação ao sítio ativo da enzima, e à "limpeza" de

radicais livres realizada pelos polimorfonucleares (PMNs) (WAGONER, 1997).

Alguns autores recomendam a utilização de sucedâneos da lágrima, fator de crescimento epidérmico, ácido retinóico, hialuronato de sódio e fibronectina (WAGONER, 1997; BURNS et al., 1990; MORI et al., 1993). O uso de medicamentos como antiprostaglandinas sistêmicas (flunixin-meglumine e o ácido acetilsalicílico) e tópicos (indometacina e o flurbiprofeno) tem sido proposto devido à intensa liberação de prostaglandinas, resultado de inflamação intra-ocular (WAGONER, 1997).

As condutas cirúrgicas reservam-se àqueles casos de persistência ou evolução dos sinais clínicos. Dentre essas, destacam-se retalhos ou enxertos conjuntivais, enxertos de córnea, transposição córneo-conjuntival, "flap" de escorregamento conjuntival e tarsorrafia temporária (HAMOR; WHELAN, 1999; WHITLEY, 2000; BARNETT et al., 1995; DAVIDSON, 1991).

O prognóstico da evolução de córneas lesadas implica em considerar as possibilidades da perda de transparência corneana, a intensidade da isquemia ou necrose límbica e da conjuntiva bulbar, bem como a qualidade da neovascularização (WAGONER, 1997).

Pelo exposto acima, aventa-se a hipótese de que os GAGPS sejam capazes de promover a reparação corneana em menor período de tratamento e formação de arranjo regular das fibras colágenas da córnea, além de redução do quadro inflamatório, resultante da produção experimental de úlceras corneanas em eqüinos.

Dito isto, o objetivo da presente pesquisa foi avaliar clinicamente o potencial de eficácia da instilação tópica de uma associação de sulfato de condroitina "A" 5% com ciprofloxacina em úlceras corneanas experimentalmente produzidas, por trepanação, em cavalos.

Materiais e métodos

Foram utilizados dez olhos de cinco cavalos (*Equus caballus*), de propriedade da Polícia Militar de Curitiba, onde a pesquisa foi realizada durante o ano de 2001. Selecionaram-se animais adultos, do sexo masculino e de raças variadas. Esses passaram inicialmente por exame geral e oftalmológico específico para padro-

nização dos indivíduos e eliminação das variáveis indesejáveis. Na semiologia oftálmica, consideraram-se os seguintes exames: teste lacrimal de Schirmer, biomicroscopia em lâmpada de fenda, tonometria de aplanção, oftalmoscopia binocular indireta e direta e prova de fluoresceína⁵. Após a seleção, os animais foram identificados e mantidos em baias individuais apropriadas, com a alimentação e cuidados adequados.

Inicialmente, realizaram-se úlceras experimentais, para as quais os animais foram tranquilizados com neuroleptoanalgesia – uma associação de butorfanol⁶ na dose de 2 ml com acepromazina⁷ a 1% na dose de 3 ml – por via intravenosa. Após alguns minutos, realizou-se bloqueio anestésico dos nervos auriculopalpebral e supra-orbital com 5 ml de lidocaína⁸ a 2% sem vasoconstritor, promovendo analgesia e anestesia retrobulbar. A anestesia da córnea foi completada com pomada oftálmica anestésica à base de prilocaína⁹. A trepanação das córneas foi realizada com um “punch” de 0,6 mm em posição de 12 horas, no eixo pupilar. Em seguida, procedeu-se a eversão do bordo epitelial para mimetizar o quadro clínico de úlcera indolente. Confirmou-se a produção das lesões corneanas com teste de retenção de fluoresceína positivo e, então, aguardou-se um período de 24 horas para o início dos tratamentos.

Os dez olhos foram divididos em dois grupos: controle, composto pelos olhos direito, e tratamento, composto pelos olhos esquerdo. Para esses últimos, adotou-se um protocolo de instilação de colírio com associação de sulfato de condroitina “A” 5% e ciprofloxacina¹⁰, em intervalos de 12 horas, até retenção negativa de fluoresceína. Nos olhos direito, utilizou-se solução oftálmica estéril de tobramicina¹¹, na concentração 0,3%, a cada 6 horas, até cicatrização

das úlceras. Cada animal constituiu-se em uma unidade experimental, sendo seu próprio controle.

As córneas foram avaliadas diariamente com oftalmoscopia direta e prova de retenção de fluoresceína e, em dias alternados, com oftalmoscopia indireta e biomicroscopia em lâmpada de fenda durante 30 dias. A análise dos parâmetros relacionados a blefarospasmo, fotofobia, epífora, quemose, edema e “pannus” foi realizada sempre pelo mesmo examinador, de acordo com os seguintes critérios quali-quantitativos: (0) ausência de sinais, (+) sinais discretos, (++) sinais moderados e (+++) sinais intensos. Esses dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, utilizando-se um nível de significância de 5% ($p = 0,05$). Após o período de 30 dias, os eqüinos sofreram exame oftálmico quinzenal durante cinco meses.

Resultados e discussão

Obedecendo aos critérios quali-quantitativos, verificaram-se os seguintes resultados: os olhos do grupo controle e os olhos do tratamento (100%) apresentaram blefarospasmo (FIGURA 1) e fotofobia (FIGURA 2) e 80% desses manifestaram epífora, com duração média de três dias (FIGURA 3). O desaparecimento desses sinais clínicos ocorreu no grupo de cinco olhos tratados com associação de sulfato de condroitina “A” e ciprofloxacina, dois dias antes do grupo controle, o qual permaneceu apresentado sinais de intensidade leve até o quinto dia. A remissão do edema (FIGURA 4) de córnea, observado em todos os olhos, ocorreu em três dias e num período médio de cinco dias, nos olhos tratados e controle, respectivamente.

⁵ Tiras de Fluoresceína – Ophthalmos/PR.

⁶ Torbugesic® – Ford Dodge S. A.

⁷ Acepran® – Univet S. A.

⁸ Lidocaína 2%® – Apsen do Brasil Ind. Quím. e Farm. Ltda.

⁹ Emla® – Astra Química e Farmacêutica Ltda.

¹⁰ Ciprovet® – Labyes S. A.

¹¹ Tobrex, – Alcon Ltda.

FIGURA 1 – Ocorrência, em dias, de blefarospasmo em olhos de eqüinos tratados topicamente com tobramicina e a associação de sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina. Grau de intensidade dos sinais: (0) ausência de sinais, (+) sinais discretos, (++) sinais moderados e (+++) sinais intensos.
Figure 1 - Occurrence, in days, of blefarospasmo in equines eyes topically treated with tobramycin and the association with chondroitin sulfate and with ciprofloxacin. Degree of intensity of the signals: (0) absence of signals, (+) discrete signals, (++) moderate signals e (+++) intense signals.

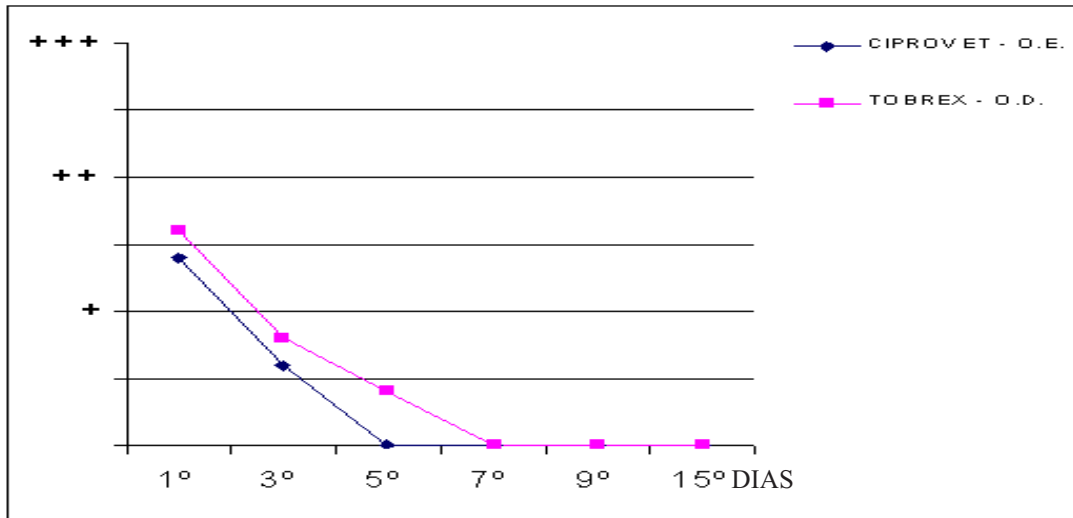


FIGURA 2 – Ocorrência, em dias, de fotofobia em olhos de eqüinos tratados topicamente com tobramicina e a associação de sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina. Grau de intensidade dos sinais: (0) ausência de sinais, (+) sinais discretos, (++) sinais moderados e (+++) sinais intensos.
Figure 2 - Occurrence, in days, of photophobia in equines eyes topically treated with tobramycin and the association with chondroitin sulfate and with ciprofloxacin. Degree of intensity of the signals: (0) absence of signals, (+) discrete signals, (++) moderate signals e (+++) intense signals.

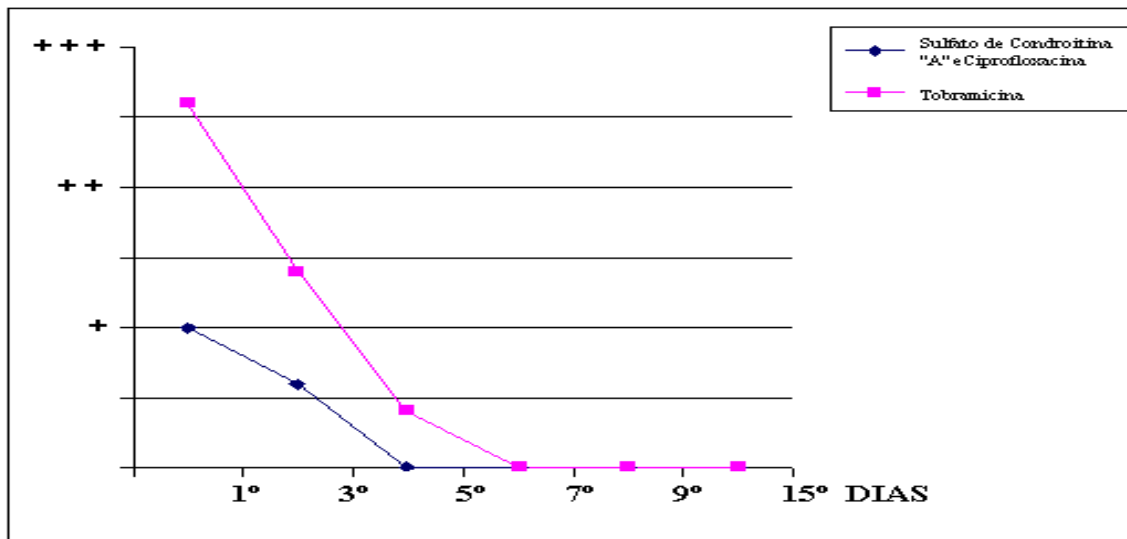


FIGURA 3 – Ocorrência, em dias, de epífora em olhos de eqüinos tratados topicamente com tobramicina e a associação de sulfato de condroitina “A” e ciprofloxacina. Grau de intensidade dos sinais: (0) ausência de sinais, (+) sinais discretos, (++) sinais moderados e (+++) sinais intensos.
Figure 3 - Occurrence, in days, of epiphora in eyes of equines topically treated with tobramycin and the association with chondroitin sulfate and with ciprofloxacin. Degree of intensity of the signals: (0) absence of signals, (+) discrete signals, (++) moderate signals e (+++) intense signals.

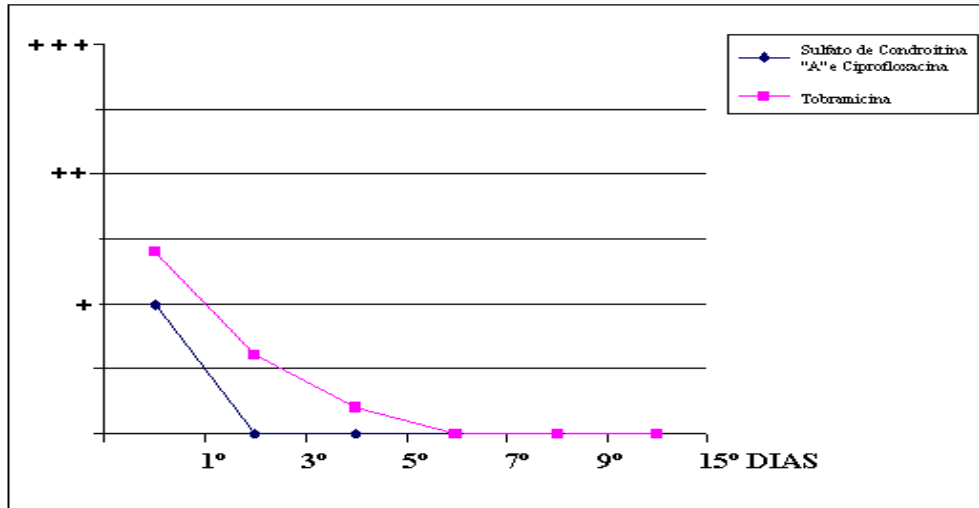
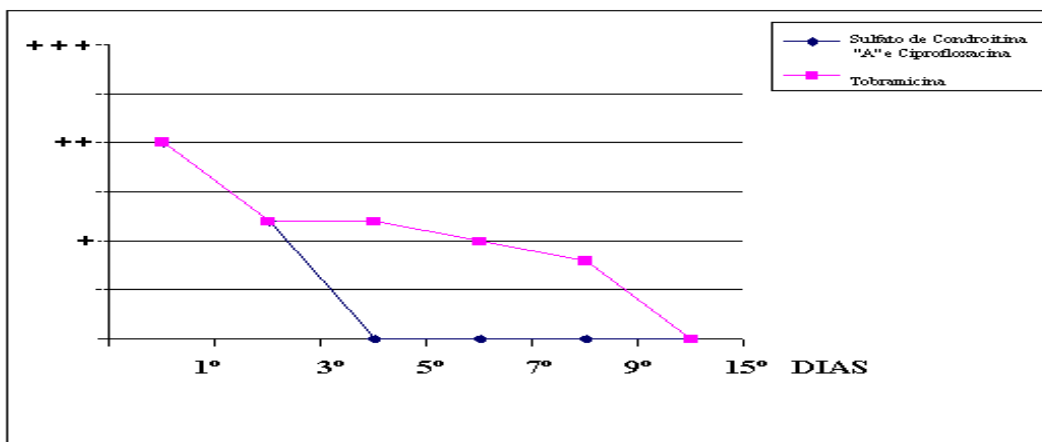


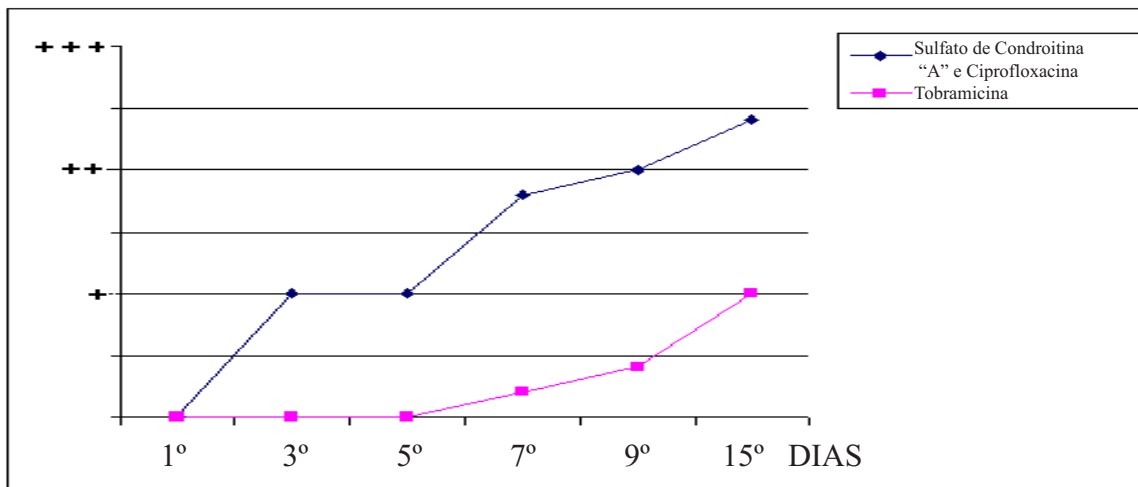
FIGURA 4 – Ocorrência, em dias, de edema em córneas de eqüinos tratados topicamente com tobramicina e a associação de sulfato de condroitina “A” e ciprofloxacina. Grau de intensidade dos sinais: (0) ausência de sinais, (+) sinais discretos, (++) sinais moderados e (+++) sinais intensos.
Figure 4 - Occurrence, in days, of equines corneal edema topically treated with tobramycin and the association with chondroitin sulfate and with ciprofloxacin. Degree of intensity of the signals: (0) absence of signals, (+) discrete signals, (++) moderate signals e (+++) intense signals.



No quinto dia de tratamento com associação de sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina, três olhos apresentaram preenchimento do leito da úlcera em plano estromal (FIGURA 5), porém ainda positivo ao teste

de fluoresceína. Os outros dois olhos apresentaram início de preenchimento da úlcera com tecido cicatricial a termo e, por meio da oftalmoscopia direta, observou-se leve neovascularização da córnea.

FIGURA 5 – Ocorrência, em dias, da epiteliação da córnea de equinos tratados topicamente com tobramicina e a associação de sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina. Grau de intensidade dos sinais: (0) ausência de sinais, (+) sinais discretos, (++) sinais moderados e (+++) sinais intensos.
Figure 5 - Occurrence, in days, of the equines cornea epithelial formation topically treated with tobramycin and the association with chondroitin sulfate and with ciprofloxacin. Degree of intensity of the signals: (0) absence of signals, (+) discrete signals, (++) moderate signals e (+++) intense signals.

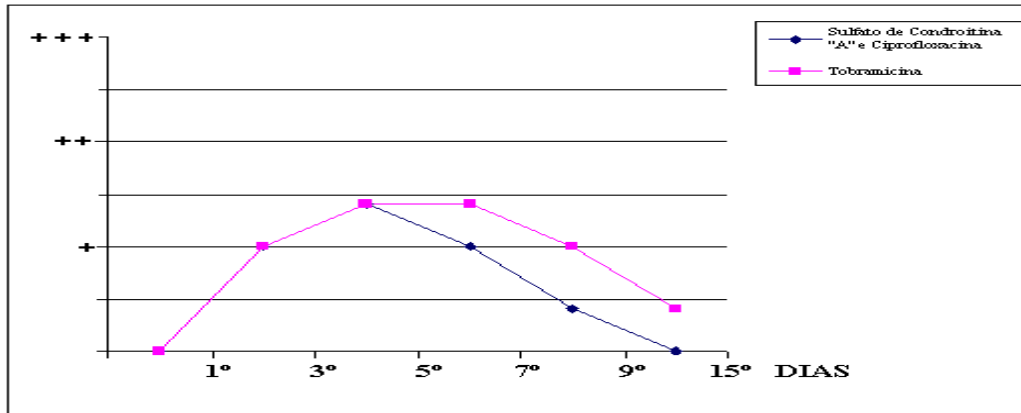


No décimo dia de tratamento com sulfato de condroitina "A" e ciprofloxacina, constatou-se em quatro olhos maior evolução da organização cicatricial e ausência de leucoma. Nessa fase, o quinto olho apresentou preenchimento do leito da úlcera por tecido cicatricial em plano epitelial. Com 16 dias de evolução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

Nos olhos do grupo controle, aos nove dias, observou-se 80% das córneas ainda ulce-

radas e início do preenchimento do leito da úlcera em 20% delas. Em todos os olhos, verificou-se edema e neovascularização intensos (FIGURA 6) – "pannus". O início do preenchimento do leito das úlceras com tecido cicatricial e diminuição do "pannus" foi verificada após 10 e 15 dias de tratamento, respectivamente. A completa cicatrização das úlceras e o teste de retenção de fluoresceína negativo somente foram verificados após 20 dias de tratamento com colírio de tobramicina. Com 30 dias, observou-se ainda a presença de discreto leucoma. Aos 90 dias de observação, notou-se transparência corneana completa, sem leucoma, em quase todos os olhos do grupo controle e, aos cinco meses, verificou-se ainda discreto leucoma em um olho.

FIGURA 6 – Ocorrência, em dias, de neovascularização em córneas de equinos tratados com tobramicina e associação de sulfato de condroitina “A” e ciprofloxacina. Grau de intensidade dos sinais: (0) ausência de sinais, (+) sinais discretos, (++) sinais moderados e (+++) sinais intensos.
Figure 6 - Occurrence, in days, of neovascularization in equine corneas treated with tobramycin and association with chondroitin sulfate and with ciprofloxacin. Degree of intensity of the signals: (0) absence of signals, (+) discrete signals, (++) moderate signals e (+++) intense signals.



Na análise estatística foram encontradas diferenças significativas em relação ao edema no sétimo dia ($p=0,0254$), à neovascularização no quinto dia ($p=0,0254$) e à epiteliação

no nono dia ($p=0,0254$). Para os demais sinais clínicos não foram encontradas diferenças significativas entre os olhos dos dois grupos (TABELA1).

TABELA 1 – Valores mínimos significativos (p) do teste de análise de variância para dados não paramétricos (Kruskal-Wallis) dos sinais clínicos em cada dia, onde $p < 0,05$ indica diferença significativa.

Table 1 - Significant minimum values (p) of the analysis of variance test for non-parametric data (Kruskal-Wallis) of the clinical signals in each day, where $p < 0.05$ indicates significant differences.

Sinais DIAS	Blefarospasmo	Quemose	Fotofobia	Epífora	Edema	Neovascularização	Epitelização
1 dia	1,0000	1,0000	0,2482	1,0000	0,5762	1,0000	1,0000
3 dias	1,0000	1,0000	0,1360	1,0000	0,5762	1,0000	0,5762
5 dias	0,3613	1,0000	0,1709	1,0000	0,5762	0,0254*	0,5762
7 dias	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,0254*	0,1709	0,5762
9 dias	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,0254*
15 dias	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,3613	0,5762

*Valores de $p < 0,05$

A cicatrização corneana normal ocorre por meio de migração celular e mitose, que cobrem os pequenos e os grandes defeitos, respectivamente. Sua ocorrência parece ser dependente da formação e adesão da membrana basal às células epiteliais da córnea. Esses eventos, por sua vez, são beneficiados pela fibronectina, importante glicoproteína envolvida na migração celular e capaz de promover um leito para as células epiteliais em regeneração aderirem-se ao estroma. No entanto, devido à suscetibilidade dessa molécula às proteinases envolvidas na patogenia das lesões corneanas, o processo de cicatrização da córnea apresentar-se-ia prejudicado se sua destruição ocorresse. Muito embora, conforme conclusão de Phan et al. (1989), a matriz fibrina-fibronectina não seja essencial para a migração de células epiteliais em um modelo experimental de ferida superficial de córnea, o mesmo parece não acontecer na cicatrização de modelos de lesões envolvendo extenso dano tecidual e infiltração de células inflamatórias. Exemplos disso são as lesões corneanas por queimaduras químicas ou térmicas, por infecções virais ou bacterianas, nas quais a fibronectina parece apresentar papel mais crítico na cicatrização (PHAN et al., 1989).

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

Outra hipótese a ser considerada é que assim como a erosão epitelial persistente, as úlceras de córnea também poderiam envolver um ciclo contínuo de atividade proteolítica na córnea, via cascata de fatores ativadores de plasminogênio-plasmina. Uma vez que células epiteliais, polimorfonucleares e ceratócitos secretam fator ativador do plasminogênio, o qual converte plasminogênio em plasmina, essa última interromperia a adesão das células epiteliais e da fibrina por meio de destruição da fibronectina, promovendo, por conseguinte, degradação da membrana basal. Conforme estudos realizados por Phan et al. (1989), a fibronectina parece ser muito mais necessária para a deposição de fibrina do que o contrário.

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

Outro importante efeito relacionado à utilização dos GAGPS refere-se à qualidade da cicatrização corneana. Nenhum dos olhos tratados com a associação de ciprofloxacina e sulfato de condroitina "A" (100%) apresentou opacidades como nébula, mácula ou leucoma ao final da cicatrização corneana. Sugere-se que esse efeito, também obtido nos estudos de Miller (1996), Wouk et al. (1998), ocorra, muito provavelmente, devido à mistura dos glicosaminoglicanos à metilcelulose, resultando em íntima adesão das células epiteliais ao estroma subjacente e em perfeito arranjo das fibrilas de colágeno, proporcionando cicatrização sem opacidades nem vascularização. Somando-se a isso, a inibição da degradação da fibronectina também contribuiria para a cicatrização sem nébula, mácula ou leucoma devido a sua capacidade de organizar o tecido conectivo corneano (TERVO *apud* WOUK et al., 1998).

Conclusões

Os resultados obtidos com a pesquisa permitiram concluir que a instilação tópica de uma associação de sulfato de condroitina "A" a 5% com ciprofloxacina promove a cicatrização mais rápida de úlceras de córnea produzidas experimentalmente em cavalos, além de evitar a formação de cicatriz corneana e reduzir as manifestações oculares de origem inflamatória. Em decorrência dos bons resultados obtidos nesta e em outras pesquisas, os GAGPS têm se mostrado muito promissores no tratamento de alguns tipos de lesões corneanas e, portanto, novos estudos submetendo-os a novos desafios devem ser perseguidos.

Referências

- ANDREW, S. E.; GELATT, K. N. Erosiones corneales persistentes en los perros. **Waltham Focus**, v. 11, n. 1, p. 10-15, 2001.
- BANKS, W. J. Olho e ouvido. In: _____. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2. ed. São Paulo, SP: Manole, 1992. p. 589-617.
- BARNETT, K. C.; CRISPIN, S. M.; LAVACH, J. D. et al. Cornea. In: _____. **Equine Ophthalmology**, London: Mosby-Wolf, 1995, p. 98-135.
- BURNS, F. R. et al. Inhibition of purified collagenase from alkali-burned rabbit corneas. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 30, n. 7, p. 1569-1575, 1989.
- CLEGG, P. D. et al. The effect of drugs commonly used in the treatment of equine articular disorders on the activity of equine matrix metalloproteinase-2 and 9. **Journal Veterinary Pharmacology Therapeutics**, v. 21, p. 406-413, 1998.
- DAVIDSON, G. Glucosamine and chondroitin sulfate. **Compendium on Continuing Education**, v. 22, n. 5, p. 454-458, 2000.
- DAVIDSON, M. G. Equine Ophthalmology. In: _____. GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 2th ed. London: Febiger, 1991. p. 576-610.
- DUA, H. S., AZUARA-BLANCO, A. Allo-limbal transplantation in patients with limbal stem cell deficiency. **Brasilian Journal Ophthalmology**, v. 83, p. 414-419, 1999.
- HAAMANN, P. et al. Limbal autograft transplantation. **Acta ophthalmol. Scand.**, v. 76, p. 117-118, 1998.
- HALL, P. A., WATT, F. M. Stem cells: the generation and maintenance of cellular diversity. **Development**, v. 106, p. 619-633, 1989.
- HAMOR, R. E., WHELAN, N. C. Equine Infectious keratitis. Clinical pharmacology and therapeutics. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 15, n. 3, p. 623-646, 1999.
- HELPER, L. C. Diseases and surgery of the cornea and sclera. In: _____. **Magrane's Canine Ophthalmology**. 4th ed. Philadelphia: Febiger, 1989. p. 102-149.
- KERN, T. J. Ulcerative keratitis. **The Veterinary Clinics of North American Small Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 643-666, 1990.
- MILLER, W. W. Using polysulfated glycosaminoglycan to treat persistent corneal erosions in dogs. **Veterinary Medicine**, v. 91, p. 916-922, 1996.
- MORI, E. M. et al. Fibronectina tópica no tratamento de úlceras de córnea de coelho após queimadura por álcali. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 56, n. 5, p. 254-257, 1993.
- NASSISSE, M. P. Canine ulcerative keratitis. **Compendium on Continuous Education**, v. 7, n. 9, p. 686-701, 1985.
- NISHIDA, T. et al. Fibronectin promotes epithelial migration of cultured rabbit cornea *in situ*. **The Journal of Cell Biology**, v. 97, n. 5, p. 1653-1657, 1983.
- PHAN, T. M. et al. Role of fibronectin and fibrinogen in healing of corneal epithelial scrape wounds. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 30, n. 3, p. 377-385, 1989.
- RASHIMIR-RAVEN, A. M. et al. Inhibition of equine complement activity by polysulfated glycosaminoglycans. **Americans Journal Veterinary Research**, v. 53, n. 1, p. 87-90, 1992.
- SLATTER, D. Cornea and sclera. In: _____. **Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001. p. 260-313.
- STARTUP, F. C. Corneal ulceration in the dog. **Journal Small Animal Practice**, v. 25, p. 737-752, 1984.
- SWIFT, G. J. et al. Survival of rabbit limbal stem cell allografts. **Transplantation**, v. 62, n. 5, p. 568-574, 1996.
- WAGONER, M.D. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. **Survey Ophthalmology**, v. 41, n. 4, p. 275-313, 1997.
- WHITLEY, R. D. Canine corneas. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 2th ed. Philadelphia: Febiger, 1991. p. 307-356.
- WHITLEY, R. D. Infectious disease and the eye. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 30, n. 5, p. 1098-1380, 2000.
- WOUK, A. F. P. F. et al. Polysulfated glycosaminoglycan used for the treatment of indolent corneal ulcers in equine patients. **Rivista Società Italiana di Ippologia**, v. 4, n. 1, p. 87-90, 1998.

Recebido: 02/12/2005
Aprovado: 31/03/2006