

LARISSA BOMFIM POLIZEL

**INFLUÊNCIA DO CICLO ESTRAL DE CADELAS HÍGIDAS SOBRE TESTE
LACRIMAL DE SCHIRMER, TEMPO DE RUPTURA DO FILME LACRIMAL E
PRESSÃO INTRAOCULAR**

ARAÇATUBA – SP

2024

LARISSA BOMFIM POLIZEL

**INFLUÊNCIA DO CICLO ESTRAL DE CADELAS HÍGIDAS SOBRE TESTE
LACRIMAL DE SCHIRMER, TEMPO DE RUPTURA DO FILME LACRIMAL E
PRESSÃO INTRAOCULAR**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Lima de Andrade

ARAÇATUBA – SP

2024

P769i Polizel, Larissa Bomfim
Influência do ciclo estral de cadelas híidas sobre teste lacrimal de Schirmer, tempo de ruptura do filme lacrimal e pressão intraocular / Larissa Bomfim Polizel. -- Araçatuba, 2024
69 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba
Orientador: Alexandre Lima de Andrade

1. Afecções do sistema lacrimal. 2. Estrógeno. 3. Progesterona. 4. Patogênese do glaucoma. 5. Ceratoconjuntivite seca. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE LARISSA BOMFIM POLIZEL, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL, DA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA - CÂMPUS DE ARAÇATUBA.

Aos 23 dias do mês de maio do ano de 2024, às 08:30 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de LARISSA BOMFIM POLIZEL, intitulada **Influência do ciclo estral de cadelas híginas sobre teste lacrimal de Schirmer, tempo de ruptura do filme lacrimal e pressão intraocular**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Associado ALEXANDRE LIMA DE ANDRADE (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP, Profa. Associada FLÁVIA DE REZENDE EUGÊNIO (Participação Presencial) do(a) Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp, Profa. Dra. SÍLVIA MARIA CALDEIRA FRANCO ANDRADE (Participação Virtual) do(a) Departamento de Medicina Veterinária / Universidade do Oeste Paulista/UNOESTE. Após a exposição pela mestranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.


Prof. Associado ALEXANDRE LIMA DE ANDRADE

CONFERE COM O ORIGINAL
Seção Técnica de Pós-graduação
04/06/2024


LUCILA MAKO KAVANO
Supervisor Técnico de Seção

“Ao meu amor, Fernando Franco Polizel, por todo companheirismo, amor e dedicação. E aos meus pais e irmã, Antonio, Aparecida e Natália, que são minha base forte, minha inspiração e meu alicerce”.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que esteve sempre ao meu lado, seja nos momentos bons e ruins, durante todos os dias da minha vida.

À Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária, em nome de todos os professores e funcionários que colaboraram para a minha formação.

À Fundação Educacional de Andradina por todo apoio durante o projeto.

Ao centro de controle de zoonoses de Buritama, em especial a médica veterinária Ligia Faleiros Fontes, pela amizade e apoio durante a realização do projeto.

Ao Professor Alexandre, por ser a minha inspiração, e por me apresentar o universo da oftalmologia veterinária, na qual ele é a minha maior referência profissional. Por toda paciência e ensinamentos durante a graduação, residência e mestrado.

Ao Professor Edjalma por todo apoio, conhecimento e excelência profissional durante essa pesquisa.

À minha família e amigos pelo apoio e amor incondicional.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior- Brasil (CAPES) – Código De Financiamento 8887.929557/2023-00.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.” Theodore Roosevelt

RESUMO

Objetivou-se avaliar a influência da oscilação hormonal de cadelas híginas em diferentes fases do ciclo estral na fisiologia lacrimal quantitativa/qualitativa e sobre a pressão intraocular. Foram estudadas oitenta e quatro cadelas não castradas de diferentes raças com idades variadas. Os animais foram divididos de forma aleatória duplo-cego de acordo com a fase do ciclo estral, segundo os achados de citologia vaginal e a dosagem sérica de progesterona. A partir de então, foram constituídos quatro grupos experimentais: Grupo Anestro - GA (n= 76 olhos) composto por cadelas em anestro; Grupo Proestro - GP (n= 36 olhos) composto por cadelas em proestro; Grupo Estro - GE (n= 28 olhos) composto por cadelas em estro; Grupo Diestro - GD (n= 28 olhos) composto por cadelas em diestro. Todos os animais foram submetidos ao teste lacrimal de Schirmer tipo-1 (TSL-1), tempo de ruptura do filme lacrimal (TRLF) e aferição de pressão intraocular (PIO) pela tonometria de rebote. Não foram encontradas diferenças estatísticas nos testes TSL-1, TRFL e PIO em ambos os olhos de cadelas em diferentes fases do ciclo estral ($p>0,05$), porém os animais pertencentes ao grupo diestro apresentaram menores médias no TSL-1 nos olhos esquerdos e as menores médias de TRFL foram encontradas em ambos os olhos de cadelas no anestro. Os maiores valores de pressão intraocular foram encontrados nos olhos esquerdos de cadelas em anestro. Conclui-se que não houve influência do ciclo estral de cadelas híginas na avaliação lacrimal quantitativa e qualitativa e na PIO. Destaca-se a importância de se comporem estudos que desvendem a influência ou não dos hormônios sexuais de cadelas na patogênese do olho seco e na dinâmica da PIO como fator predisponente ao glaucoma, visto que na medicina veterinária, tais dados são escassos.

Palavras-chaves: afecções do sistema lacrimal; estrógeno; progesterona; patogênese do glaucoma; ceratoconjuntivite seca.

ABSTRACT

To evaluate the influence of hormonal oscillation in healthy female dog in different phases of the estrous cycle on quantitative/qualitative tear physiology and on intraocular pressure. Eighty-four non-castrated bitches of different breeds were studied. The animals were divided in a double-blind random manner according to the phase of the estrous cycle, according to vaginal cytology findings and serum progesterone levels. Then, four experimental groups were formed: Anestrus Group - GA (n= 76 eyes) composed of anestrus female dog; Proestrus Group - GP (n= 36 eyes) composed of female dog in proestrus; Estrus Group - GE (n= 28 eyes) composed of female dog in estrus; Diestro Group - GD (n= 28 eyes) composed of diestrus female dog. All animals underwent the Schirmer tear test type-1 (TSL-1), tear film break-up time (TRFL) and intraocular pressure (IOP) measurement using rebound tonometry. No statistical differences were found in the TSL-1, TRFL and IOP tests in both eyes of female dog in different phases of the estrous cycle ($p>0.05$), but animals belonging to the diestrus group showed lower means in TSL-1 in the eyes left eyes and the lowest TRFL averages were found in both eyes of anestrus dogs. The highest intraocular pressure values were found in the left eyes of anestrus female dogs. It is concluded that there was no influence of the estrous cycle of healthy chains on the quantitative and qualitative tear assessment and on IOP. The importance of composing studies that unveil the influence or not of sexual chain hormones on the pathogenesis of dry eye and on the dynamics of IOP as a predisposing factor to glaucoma is highlighted, given that in veterinary medicine, such data are scarce.

Keywords: disease of the lacrimal system; estrogen; progesterone; pathogenesis of glaucoma; keratoconjunctivitis sicca.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- “Box-plots” de distribuição dos valores em OD e O de: TLS-1 em mm/min, do TRFL em segundos e da PIO em mmHg, de 76 olhos de cadelas no anestro. 38
- Figura 2- “Box-plots” de distribuição dos valores em OD e O de: TLS-1 em mm/min, do TRFL em segundos e da PIO em mmHg, de 36 olhos de cadelas no proestro. 39
- Figura 3- “Box-plots” de distribuição dos valores em OD e O de: TLS-1 em mm/min, do TRFL em segundos e da PIO em mmHg, de 28 olhos de cadelas no estro. 40
- Figura 4- “Box-plots” de distribuição dos valores em OD e O de: TLS-1 em mm/min, do TRFL em segundos e da PIO em mmHg, de 28 olhos de cadelas no diestro. 41
- Figura 5- Linha A: Prevalência de células parabasais e intermediárias pequenas (anestro), aumento de 40x; Linha B: Predomínio de células epiteliais parabasais, intermediárias pequenas e grandes, e superficiais. Presença de neutrófilos e hemácias (proestro), aumento de 40x; Linha C: Predomínio de células superficiais com núcleos picnóticos ou células nucleadas. Neutrófilos ausentes (estro), aumento de 80x; Linha D: Presença de células intermediárias, parabasais e presença de neutrófilos (diestro), aumento de 40x. 42
- Figura 6- “Gráfico de barras” do valor da progesterona em ng/ml de cadelas no anestro, proestro, estro e diestro. 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Média e desvio padrão da idade de cadelas em diferentes fases do ciclo estral	37
Tabela 2- Valores de P para as variáveis oftálmicas em comparação com as diferentes fases do ciclo estral	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACVO	Colégio americano de oftalmologistas veterinários
ANOVA	Análise de variância
ALT	Alanina amino transferase
CCS	Ceratoconjuntivite seca
CEUA	Comitê de ética do uso de animais
CGR	Células ganglionares da retina
CL	Corpo Lúteo
FA	Fosfatase alcalina
FEA	Fundação Educacional de Andradina
FSH	Hormônio foliculoestimulante
FLPC	Filme lacrimal pré-corneal
GnHR	Hormônio liberador de gonadotrofinas
LH	Hormônio luteinizante
Ng/ml	Nanograma por mililitro
Mm/min	Milímetro por minuto
MMPS	Metaloproteinases de matriz
Pg/ml	Picograma por mililitro
PIO	Pressão intraocular
RNA _m	Ácido ribonucleico mensageiro
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF- β	Fator de transformação de crescimento beta

TLS-1	Teste lacrimal de Schirmer tipo 1
TRFL	Tempo de ruptura do filme lacrimal
TRH	Terapia de reposição hormonal

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	16
1.1	CERATOCONJUNTIVITE SECA (CCS)	18
1.1.1	Teste lacrimal de Schirmer tipo 1 (TLS-1)	19
1.1.2	Tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL)	20
1.1.3	Hormônios sexuais e a síndrome do olho seco	20
1.2	GLAUCOMA	21
1.2.1	Pressão intraocular (PIO)	22
1.2.2	Hormônios sexuais e o glaucoma	23
1.3	FASE DO CICLO ESTRAL, CITOLOGIA VAGINAL E DOSAGEM SÉRICA DE PROGESTERONA	23
1.3.1	Proestro	24
1.3.2	Estro	25
1.3.3	Diestro	26
1.3.4	Anestro	26
2	CAPÍTULO 1- INFLUÊNCIA DO CICLO ESTRAL EM CADELAS HÍDIGAS, SOBRE TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER-1, TEMPO DE RUPTURA DO FILME LACRIMAL E PRESSÃO INTRAOCULAR.	28
2.1	RESUMO	29
2.2	ABSTRACT	30
2.3	INTRODUÇÃO	31
2.4	MATERIAIS E MÉTODOS	32
2.4.1	Seleção de animais	33
2.4.2	Procedimentos clínicos oftalmológicos	33
2.4.3	Teste lacrimal de Schirmer tipo 1 (TLS-1)	34
2.4.4	Tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL)	34

2.4.5	Tonometria de rebote	35
2.4.6	Citologia vaginal	35
2.4.7	Dosagem de progesterona	35
2.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
2.6	RESULTADOS	36
2.7	DISCUSSÃO	43
2.8	CONCLUSÃO	47
2.9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
	REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	55
	ANEXO A- NORMAS DA REVISTA VETERINARY	
	OPHTHALMOLOGY	61

1 INTRODUÇÃO GERAL

O ciclo estral da cadela é dividido em quatro fases distintas, sendo essas: proestro, com duração média de 5-20 dias; estro, com duração aproximada de 5-15 dias; diestro, durando 50-80 dias e anestro, durando 80-240 dias. O termo diestro refere-se ao período que o corpo lúteo passa a ser funcional (Concannon, 2011). A cadela apresenta ciclos mais longos em comparação a outras espécies, com um extenso período de atividade lútea e uma longa fase de anestro (Concannon, 1993; Feldman; Nelson, 2004).

A correta detecção e acompanhamento das fases do ciclo estral é realizada através da junção de alguns parâmetros, sendo esses: observação dos sintomas reprodutivos e sinais anatômicos e fisiológicos, citologia vaginal, dosagem do nível sérico de progesterona, vaginoscopia e ultrassonografia abdominal (Crusco, 2022).

A citologia vaginal é um método eficaz para o diagnóstico, cuja coleta e preparo do material são fáceis, no entanto, a leitura da lâmina pode ser desafiadora; havendo a necessidade de estudos que determinem um padrão para as células (Reckers *et al.*, 2022). Dessa forma, a associação da citologia vaginal com a análise das concentrações séricas ou plasmáticas de progesterona deve ser utilizada para a correta identificação da fase do ciclo estral (Brugger *et al.*, 2011).

No cão doméstico o corpo lúteo (CL) é a única fonte de progesterona em cadelas prenhes e não prenhes; o perfil de secreção da progesterona é parecido em ambas as condições, até que haja um declínio acentuado da progesterona no último terço da fase lútea em cadelas gestantes, indicando o início da gestação. Consequentemente, a duração da fase lútea em fêmeas não prenhes excede o tempo em relação às prenhes (Kowalewski, 2012).

A ação da progesterona influencia diversos sistemas orgânicos. Como o diestro em cães é mais longo que nas demais espécies, Willson *et al.*, (2012) demonstraram que a progesterona pode influenciar também os valores de alguns exames laboratoriais. Dessa forma, a interpretação de alguns parâmetros laboratoriais devem ser realizada levando em consideração a fase o ciclo estral.

O estrógeno é um hormônio esteróide produzido pelo folículo ovariano, resultante do processo de conversão do colesterol em testosterona. Ocorre a ligação do hormônio luteinizante (LH) a receptores localizados nas células da teca interna. Por conseguinte, as células da granulosa possuem receptores do hormônio folículo estimulante (FSH) e, quando ativadas, sucede a conversão de testosterona em estradiol (Senger, 2005).

Durante as fases do ciclo estral ocorrem oscilações nos níveis hormonais. Assim, no proestro a cadela está sobre influência estrogênica, o estradiol atinge picos de 70 pg/ml antes do estro e a concentração de progesterona permanece em valores menores que 1 ng/ml (Concannon, 2011). No estro, há declínio nos níveis de estrógeno e aumento gradativo das concentrações de progesterona (Feldman; Nelson, 2004). No diestro, há aumento da concentração de progesterona que atinge valores de 15 a 90 ng/dl. Após esse período, a concentração de progesterona começa a diminuir gradativamente (Concannon, 1989). Okkens e Kooistra (2006) relataram que no anestro a concentração de progesterona atinge valores menores que 9,54 ng/dl.

A deficiência de andrógenos gera um ambiente pró inflamatório na superfície ocular, pois níveis específicos de andrógenos são necessários para manter a função secretória e antiinflamatória de todo o sistema da superfície ocular, incluindo as glândulas lacrimais e meibomiana. A redução dos níveis de andrógenos afeta a imunomeostase da conjuntiva, devido a redução da produção de fator de transformação de crescimento- β (TGF- β), havendo menor detecção local de antígenos e consequente ativação de linfócitos efetores e inflamação local (Smith, 2005).

Há diversos estudos que citam a influência hormonal na pressão intraocular, como por exemplo: a queda da PIO durante a gestação na mulher, a maior incidência de glaucoma e aumento da pressão intraocular no pós menopausa, quando há diminuição do estrógeno e progesterona e por influência da terapia de reposição hormonal (Borges-Giampini, 2005).

Em mulheres gestantes, ocorre a diminuição da PIO, porém o mecanismo fisiológico não está completamente esclarecido, mas há um aumento na facilidade da

drenagem do humor aquoso, e tem sido suposto também que ocorra aumento da drenagem úveo-escleral (Tolunay *et al.*, 2016).

1.1 CERATOCONJUNTIVITE SECA (CCS)

A doença do olho seco, também conhecida como ceratoconjuntivite seca (CCS) é uma afecção oftálmica complexa que consiste em dois subtipos principais: A) olho seco com deficiência aquosa e B) doença do olho seco evaporativa, também conhecida como quantitativa e/ou qualitativa respectivamente, podendo ter acometimento unilateral ou bilateral (Gellat, 2003; Hisey; Galor; Leonard, 2023; Slatter, 2005).

Mulheres na menopausa e/ou pós menopausa apresentam declínio dos hormônios ovarianos, progesterona e estrogênio, e podem desenvolver a síndrome de Sjögren, enfermidade que leva ao olho seco, xerostomia e artrite reumatoide (Rischmueller; Tieu; Lester, 2016).

O filme lacrimal é considerado a primeira camada da superfície ocular (Slatter, 2005). A camada mais externa é a lipídica, produzida pelas glândulas de meibômio; a camada intermediária é a aquosa, produzida pela glândula lacrimal principal e pela glândula da terceira pálpebra; e em contato com o epitélio corneano está a camada de mucina, produzida pelas células caliciformes e epiteliais superficiais da conjuntiva (Moore, 1999).

O CCS é uma oftalmopatia que acomete principalmente os cães, com origem multifatorial, progressiva, podendo tornar-se crônica. Nessa espécie, normalmente é resultado de uma inflamação idiopática imunomediada das células T e B que leva à destruição da glândula lacrimal. Outras causas incluem: fármaco-induzida, congênita, endócrina, adenite lacrimal infecciosa (cinomose e leishmaniose), iatrogênica, traumática, neurogênica, após exposição à radiação e por hipoplasia congênita, dentre outras (Giuliano, 2013; Ofri *et al.*, 2009; Woodham-Davies, 2020).

Os sinais clínicos da CCS manifestam-se por: secreção ocular mucoide, blefaroespasma, hiperemia conjuntival, vascularização e pigmentação corneana, dor

ocular, ceratites ulcerativas únicas ou recorrentes e diminuição da acuidade visual (Herrera, 2008; Woodham-Davies, 2020).

As principais ferramentas para o diagnóstico são o teste lacrimal de Schirmer (TLS) e tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL), sendo o primeiro classificado em: leve, moderado e grave. Essa classificação, é fator determinante para avaliar o prognóstico da doença. Alguns pacientes com CCS qualitativa podem apresentar o TLS dentro dos valores de referência e diminuição dos valores no TRFL (Angelico *et al.*, 2011; Giuliano, 2013; Johnson; Murphy, 2005).

O tratamento clínico medicamentoso é o de eleição, incluindo fármacos imunomoduladores (ciclosporina, *tacrolimus*, *pimecrolimus*), lágrimas artificiais, antibióticos e antiinflamatórios (Pigato *et al.*, 2007). Hendrix *et al.*, (2011) fizeram uma comparação da eficácia entre ciclosporina 2% e *tacrolimus* 0,03%, ambos dissolvidos em óleo de oliva, resultando em um efeito superior do *tacrolimus* 0,03%. Em casos em que há insucesso no tratamento medicamento há a opções de terapêuticas cirúrgicas, como por exemplo: o transplante de glândulas salivares ou o transplante de células mesenquimais alogênicas (Lopes *et al.*, 2021).

1.1.1 Teste lacrimal de Schirmer tipo 1 (TLS-1)

O TSL-1 é considerado padrão ouro para avaliar, de forma quantitativa, a produção aquosa do filme lacrimal pré corneano (FLPC). O teste mensura a produção basal e reflexa, do filme lacrimal incluindo a lágrima reflexa ao estímulo corneano e do nervo trigêmeo, sem a utilização de anestesia tópica (Dodi, 2015; Slatter, 2005).

Para a sua realização, são utilizadas tiras estéreis de papel absorvente que possuem em média 0,5 cm de largura e 4 cm de altura, sua extremidade possui cerca de 5mm e após ser dobrada é posicionada no saco conjuntival inferior, onde permanece durante 60 segundos e a produção é medida em milímetros por minuto (mm/min) (Herrera, 2008).

Os valores de referência considerados normais para TLS tipo I são de 15 a 25 mm/min. Valores entre 11 a 14 mm/min são sugestivos de CCS inicial ou subclínica;

entre 6 a 10 mm/min de CCS moderada, enquanto valores abaixo de 5 mm/min são considerados CCS grave (Maggio, 2019; Moore, 1999).

1.1.2 Tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL)

O TRFL avalia de forma qualitativa o FLPC, o teste baseia-se na aplicação oftálmica de fluoresceína sódica a 0,5%, após, o examinador mantém as pálpebras do paciente abertas e inicia a observação com o auxílio de um biomicroscópio com lâmpada de fenda e filtro azul de cobalto; cronometrando-se o tempo decorrido a partir do último piscar até o aparecimento do primeiro ponto seco que se forma na córnea. O tempo adequado para que se haja a ruptura do filme lacrimal é de 20 segundos ou mais (Colitz, 2008; Jorge *et al.*, 2015).

No Brasil, Kobashigawa *et al.*, (2015) determinaram valores de referência para raças braquicefálicas saudáveis de 13,66 segundos.

1.1.3 Hormônios sexuais e a síndrome do olho seco

Os andrógenos são hormônios esteroides precursores da síntese de estrógeno, e, através da ação da enzima aromatase, a testosterona perde um átomo de carbono sendo convertida em estradiol (Lucarelli; Martins; Forattini, 2013). Eles agem no epitélio acinar das glândulas sebáceas, cujas células contêm ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) e proteínas receptoras de andrógenos em seus núcleos. As células acinares respondem aos andrógenos produzindo proteínas que aumentam a síntese e a secreção de lipídeos. A testosterona regula os genes na glândula lacrimal responsáveis pelo crescimento celular, proliferação, metabolismo, comunicação e transporte celular, assim como a ligação ao ácido nucleídeo, transdução de sinal e atividades de receptor (Yamagami *et al.*, 2002).

Na glândula meibomiana a produção, transporte e secreção de lipídeos é estimulada pelos andrógenos (Steagall *et al.*, 2002). E a sua disfunção resulta em déficit qualitativo do filme lacrimal (Hartley; Williams; Adams, 2006). Estudos

evidenciam que os andrógenos modulam a anatomia, fisiologia, sistema imune da glândula lacrimal em ratos, coelhos, hamster e humanos (Sullivan *et al.*, 2003).

Há várias condições que cursam com oscilações ou níveis diminuídos de andrógenos em seres humanos, como: pós menopausa, processo de envelhecimento, oscilação hormonal durante a menstruação, uso de fármacos antiandrogênicos, lactação, gravidez (Gorimanipalli *et al.*, 2023). Em cadelas as oscilações nos níveis de andrógenos são observadas durante as fases do ciclo estral, gestação e em pacientes ovariectomizados (Concannon, 2011).

Nessas situações, a imunonomeostase da superfície ocular pode estar afetada, levando a um estado de inflamação e aquiescência da glândula lacrimal. Níveis adequados de andrógenos estão correlacionados com a integridade da superfície ocular e do filme lacrimal (Smith, 2005).

A redução da função da atividade da glândula lacrimal no pós menopausa reforça a influência positiva no estrogênio na glândula, uma vez que, nesse período há redução dos níveis de estrogênio, e consequente tendência ao olho seco (Evans *et al.*, 2002). No entanto, alguns estudos ressaltam haver piora da função da glândula lacrimal com a terapia de reposição hormonal (TRH) (Schaumberg *et al.*, 2001).

Susuki e Sullivan (2005) relataram que o estrogênio regula positivamente citocinas pró-inflamatórias, incluindo MMP9, pelas células epiteliais da córnea humana, e essa secreção contribui para o desenvolvimento de inflamação da superfície ocular nas síndromes do olho seco. Mulheres submetidas às reposições hormonais com estradiol apresentaram mais citocinas inflamatórias bem como mRNAs de MMP 2,7 e 9 do que as tratadas com placebo.

1.2 GLAUCOMA

O glaucoma representa uma das principais afecções oftálmicas responsáveis por causar cegueira irreversível, sendo caracterizado por uma dolorosa neuropatia óptica, que tem, em comum, os níveis elevados de pressão intraocular. Ocorre uma perda

das células ganglionares da retina (CGR) e seus axônios, associados à degeneração da cabeça do nervo óptico (Gellat; MacKay, 2004). Nos mamíferos as CGR não se regeneram (Laha; Stafford; Huberman, 2017).

Os valores normais de pressão intraocular oscilam de acordo com a literatura consultada. Laus *et al.*, (1995) padronizaram valores normais da PIO de 12,2 a 24,2 milímetro de mercúrio (mmHg) com a tonometria de indentação pelo método de Schiotz. Outros valores encontrados de PIO na faixa de normalidade são de 15 a 25 mmHg, pela tonometria de aplanção e rebote (Carneiro-Filho, 2004).

O glaucoma canino é definido como primário, quando há anormalidade no ângulo iridocorneano, ou secundário, quando há uma doença subjacente envolvida. Em muitos casos não há cura e o paciente evolui para perda da visão, mesmo diante de onerosos tratamentos clínicos e cirúrgicos (Weinreb; Aung; Medeiros, 2014).

Os principais sinais clínicos observados são a buftalmia, injeção episcleral, hiperemia conjuntival, edema corneano difuso, midríase e reflexeos pupilares diminuídos, fraturas de descemet, atenuação vascular na retina dentre outras (Gelatt, 2003).

A terapêutica do glaucoma baseia-se em condutas clínicas associadas ou não a tratamentos cirúrgicos. As medicações visam diminuir a produção o humor aquoso ou melhorar a sua drenagem através de vias convencionais e não convencionais. Em muitos casos a terapia falha dentro de meses levando a uma cegueira irreversível, o que motivou os membros do Colégio americano de oftalmologistas veterinários (ACVO), a elencarem, como prioridade, pesquisas direcionadas ao tratamento do glaucoma canino (Komáromi *et al.*, 2019).

1.2.1 Pressão intraocular (PIO)

A pressão intraocular PIO é resultado do balanço entre a produção do humor aquoso pelo corpo ciliar e a sua drenagem (Gum; MacKay, 2013). O aumento da PIO em cães, está principalmente relacionado a falha na drenagem do humor aquoso, do que a um aumento da sua produção (Broadwater *et al.*, 2008).

O tonômetro de rebote é um aparelho portátil, fácil de manusear, eficaz e pouco invasivo, devido à sutileza com que toca a córnea, porém é de custo elevado (Kontiola *et al.*, 2001). O aparelho possui uma probe esférica de aço revestida de plástico, sendo que o projétil é impulsionado em direção à córnea por uma mola e mantido flutuando no eixo correto por um campo magnético. Para a mensuração um microprocessador calcula a pressão intraocular em mmHg de acordo com o tempo de desaceleração do projétil ao tocar a córnea (Cervino, 2006).

Estudos comparativos entre a tonometria de rebote e de aplanção de Goldman mostraram que ambas sofrem interferência da espessura corneana (Martinez-de-la-Casa *et al.*, 2006) e a tonometria de rebote tem tendência a subestimar a PIO em cães (Leiva; Naranjo; Peña, 2006).

1.2.2 Hormônios sexuais e o glaucoma

A influência dos hormônios sexuais na pressão intraocular tem sido o foco de diversos estudos (Chobanian *et al.*, 2003).

Níveis diminuídos de estrógeno e progesterona que ocorrem em mulheres na menopausa correlacionam-se ao maior risco de desenvolvimento do glaucoma (Hulsman *et al.*, 2001). Em humanos, há receptores de estrógeno em todo olho, em especial na retina, e a expressão desses receptores podem ser influenciados pelo gênero, ciclo menstrual e idade (Sullivan, 2004).

1.3 FASE DO CICLO ESTRAL, CITOLOGIA VAGINAL E DOSAGEM SÉRICA DE PROGESTERONA

As fases do ciclo estral canino são sucessivas e recorrentes, sendo denominadas de quatro a cinco, de acordo com a definição de diferentes autores em: proestro, estro, diestro e anestro (Silva; Lima, 2018).

As cadelas possuem início da atividade reprodutiva com idades variáveis, havendo influências da raça, escore corporal, dentre outras. As cachorras de pequeno porte, podem iniciar a puberdade de 6 e 10 meses, e as de grande, porte entre 8 e 24 meses (Kowalewski, 2012). O período entre doisaios é chamado de interestro, também sendo variável entre as raças, normalmente o período de intervalos é entre 5 a 12 meses (Concannon, 2011).

1.3.1 Proestro

A duração do proestro oscila entre 5 a 20 dias (Concannon, 2011). Nessa fase, iniciam-se os sintomas e sinais de cio na fêmea, ocorrendo edema vulvar e uma secreção vaginal serosanguinolenta. Nessa fase, há recusa do macho pela fêmea (Romagnoli, 2017).

Na citologia vaginal do proestro observa-se que o epitélio sofre progressivamente um processo de queratinização, com modificação das características celulares. Nota-se a presença de células parabasais, intermediárias pequenas e grandes, superficiais, neutrófilos e eritrócitos (Vannucchi; Satzinger; Santos, 1997). No início, há uma população de vários tipos de células epiteliais com grande variação na forma e núcleo e, conforme se aproximam do estro vão se tornando mais homogêneas e anucleadas (Reckers *et al.*, 2022).

O proestro é marcado pela influência estrogênica secretada pelas células da granulosa do folículo ovariano (Feldman; Nelson, 2004). Na fase folicular há liberação pelo centro tônico, localizado no hipotálamo, do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), de forma pulsátil e em pequenas amplitudes, o que desencadeia a liberação de FSH e LH, resultando no crescimento e desenvolvimento dos folículos ovarianos. A produção do estrógeno aumenta, há *feedback* positivo da secreção de GnRH, que por sua vez irá estimular o centro pré ovulatório no hipotálamo e aumentar a produção de LH (Senger, 2005)

Segundo Concannon (2011), a concentração sérica do estradiol aumenta gradativamente, com valores iniciais entre 5 a 15 pg/ml, antes do estro essa

concentração atingindo o pico de 70 pg/ml. O início do estro é marcado pelo declínio do estrógeno, que se mantém em valores basais até a próxima fase folicular. A concentração de progesterona permanece em níveis basais (1ng/ml) durante todo o proestro. Há relato de concentrações de progesterona obtidas no final do proestro e início do estro de 2,85ng/ml (Benetti; Toniollo; Oliveira, 2004).

O fim do proestro e início do estro são marcados pela elevação plasmática da progesterona, e, enquanto a fêmea evolui nas fases do ciclo estral, mais progesterona é liberada, enquanto há queda dos níveis de estrógeno (Feldman; Nelson, 2004).

1.3.2 Estro

A duração média do estro é de 5 a 15 dias, e nesta fase a fêmea aceita o macho, ocorrendo a ovulação, maturação e fertilização (Concannon, 2011).

A citologia vaginal do estro é composta predominantemente por células superficiais e células anucleadas ou com núcleos picnóticos, e não há neutrófilos (Vannucchi; Satzinger; Santos, 1997). De acordo com Romagnoli (2017) a população de células é composta por mais de 50% de células epiteliais superficiais anucleadas.

O estro na cadela ocorre em resposta ao declínio da concentração plasmática de estrógeno, que precede o pico do LH e continua em ritmo decrescente durante toda a fase (Concannon, 2011). A concentração de estradiol tende a diminuir para valores basais (menores que 15 pg/ml) (Feldman; Nelson, 2004).

O início do estro é facilitado pelo aumento da progesterona resultante do pico de LH. A progesterona começa a se elevar antes do desenvolvimento do corpo lúteo, através da síntese e secreção pelas células foliculares que passaram por luteinização (Feldman; Nelson, 2004).

A ovulação ocorre em cerca de 2 a 3 dias após o pico de LH (Johnston; Kustritz; Olson, 2001). A concentração sérica de progesterona aumenta rapidamente acima de 1-3 ng/mL durante o pico pré-ovulatório de LH e atinge valores de 10-25 ng/mL, logo após ao término do estro (Concannon, 2011). Durante o estro os níveis de progesterona encontram-se em torno de 5,2ng/ml (Benetti; Toniollo; Oliveira, 2004).

No momento da ovulação os níveis séricos de progesterona alcançam valores de $4,8 \pm 0,9$ ng/ml e $7,2 \pm 1,3$ ng/ml (Hollinshead; Hanlon, 2019).

1.3.3 Diestro

É a fase seguinte ao estro, na qual a fêmea não aceita mais a monta, e possui alta secreção de progesterona (Kowalewski, 2018). O diestro gestacional apresenta duração média de 56 a 58 dias, enquanto que o não gestacional dura, em média, de 60 a 100 dias (Feldman; Nelson, 2004).

Na citologia vaginal nota-se uma diminuição das células epiteliais superficiais, e uma mudança abrupta para não queratinizadas, havendo um aumento de células intermediárias, parabasais, com presença neutrófilos e células espumosas (*foam cells*) (Kustritz, 2020).

A cadela é a única, dentre os animais domésticos, que possui a fase lútea com maior duração nos animais não gestantes do que durante a gestação (Kowalewski, 2012).

A produção de progesterona ocorre no corpo lúteo, e os seus valores aumentam de 15-80 ng/ml, após a ovulação (Concannon, 2011). Após este período, ocorre a diminuição gradativa da concentração sérica de progesterona (Johnston; Kustritz; Olson, 2001).

1.3.4 Anestro

O anestro possui duração de 80 a 240 dias (Concannon, 2011). Nessa fase ocorre involução uterina e há uma quiescência do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (Concannon, 1989).

Na citologia vaginal são vistas células parabasais isoladas ou em pequenos grupos e intermediárias pequenas (Kustritz, 2020).

Durante o anestro, ocorrem ondas curtas e espessadas de LH, e isso relaciona-se com um aumento abrupto do LH nas fases seguintes, induzindo: um pico de LH imediatamente antes do começo do proestro e outro pico que antecede o início do estro (Feldman; Nelson, 2004). Os níveis de progesterona sérica estão menores do que 0,1ng/ml (Concannon, 2011).

2 CAPÍTULO 1- INFLUÊNCIA DO CICLO ESTRAL EM CADELAS HÍGIDAS SOBRE TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER-1, TEMPO DE RUPTURA DO FILME LACRIMAL E PRESSÃO INTRAOCULAR¹

Larissa B. Polizel^{1*}; Murilo Ferraz¹; Edjalma R. S. Junior²; Alexandre L. de Andrade³

¹ Discente de pós-graduação, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Campus de Araçatuba

² Professor Doutor do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária - Campus de Araçatuba, Unesp, São Paulo, Brasil

³ Professor Titular do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária - Campus de Araçatuba, Unesp, São Paulo, Brasil

Rua Projetada 7 casa 145, Residencial Adisa, CEP 16201632, Birigui, São Paulo;
l.bomfim@unesp.br; (55) (18) 981655512

¹ Citações e referências conforme as normas da revista Veterinary Ophthalmology (ANEXO A).

2.1 RESUMO

Objetivo: Avaliar a influência da oscilação hormonal de cadelas jovens adultas em diferentes fases do ciclo estral na fisiologia lacrimal quantitativa/qualitativa e sobre a pressão intraocular.

Animais estudados: oitenta e quatro cadelas não castradas de diferentes raças com idade entre 6 meses e 10 anos.

Procedimentos: Os animais foram divididos de forma aleatória duplo-cego de acordo com a fase do ciclo estral, segundo os achados de citologia vaginal e a dosagem sérica de progesterona. A partir de então, foram constituídos quatro grupos experimentais: Grupo Anestro - GA (n= 76 olhos) composto por cadelas em anestro; Grupo Proestro - GP (n= 36 olhos) composto por cadelas em proestro; Grupo Estro - GE (n= 28 olhos) composto por cadelas em estro; Grupo Diestro - GD (n= 28 olhos) composto por cadelas em diestro. Todos os animais foram submetidos ao teste lacrimal de Schirmer tipo-1 (TLS-1), tempo de ruptura do filme lacrimal (TRLF) e aferição de pressão intraocular (PIO) pela tonometria de rebote.

Resultados: Não foram encontradas diferenças estatísticas nos testes TLS-1, TRFL e PIO em ambos os olhos de cadelas em diferentes fases do ciclo estral ($p>0,05$), porém os animais pertencentes ao grupo diestro apresentaram menores médias no TLS-1 nos olhos esquerdos e as menores médias de TRFL foram encontradas em ambos os olhos de cadelas no anestro. Os maiores valores de pressão intraocular foram encontrados nos olhos esquerdos de cadelas em anestro.

Conclusões: Conclui-se que não houve influência do ciclo estral de cadelas híginas na avaliação lacrimal quantitativa e qualitativa e na PIO. Destaca-se a importância de se comporem estudos que desvendem a influência ou não dos hormônios sexuais de cadelas na patogênese do olho seco e na dinâmica da PIO como fator predisponente ao glaucoma, visto que na medicina veterinária, tais dados são escassos.

Palavras-chaves: afecções do sistema lacrimal; estrógeno; progesterona; patogênese do glaucoma; ceratoconjuntivite seca.

2.2 ABSTRACT

Aims: To evaluate the influence of hormonal oscillation in young adult bitches in different phases of the estrous cycle on quantitative/qualitative tear physiology and on intraocular pressure.

Animals studied: eighty-four non-castrated female dogs of different breeds aged between 6 months and 10 years.

Procedures: The animals were divided in a double-blind random manner according to the phase of the estrous cycle, according to vaginal cytology findings and serum progesterone levels. From then on, four experimental groups were formed: Anestrus Group - GA (n= 76 eyes) composed of female dogs; Proestrus Group - GP (n= 36 eyes) composed female dogs in proestrus; Estrus Group - GE (n= 28 eyes) composed of female dogs in estrus; Diestro Group - GD (n= 28 eyes) composed of diestrus female dogs. All animals underwent the Schirmer tear test type-1 (TLS-1), tear film break-up time (TRLF) and intraocular pressure (IOP) measurement using rebound tonometry.

Results: No statistical differences were found in the TLS-1, TRFL and IOP tests in both eyes of bitches in different phases of the estrous cycle ($p>0.05$), however animals belonging to the diestrus group presented lower means in TLS-1 in the left eyes and the lowest TRFL means were found in both eyes of bitches in anestrus. The highest intraocular pressure values were found in the left eyes of anestrus bitches.

Conclusions: It is concluded that there was no influence of the estrous cycle of healthy bitches on the quantitative and qualitative tear assessment and on IOP. The importance of composing studies that unveil the influence or not of sexual hormones in female dogs on the pathogenesis of dry eye and on the dynamics of IOP as a predisposing factor to glaucoma is highlighted, given that in veterinary medicine, such data are scarce.

Keywords: lacrimal system disorders; estrogen; progesterone; glaucoma pathogenesis; dry keratoconjunctivitis.

2.3 INTRODUÇÃO

A cadela apresenta características reprodutivas que a difere de outras espécies, sendo monoéstricas não sazonais com ovulação espontânea ¹. Portanto, durante as fases do ciclo estral ocorrem oscilações dos níveis hormonais, principalmente de estrógeno e progesterona ^{1,2,3,4}.

A citologia vaginal é um método eficaz para o diagnóstico das fases do ciclo estral, sendo método simples, de baixo custo e fácil execução. No entanto, a leitura da lâmina pode ser desafiadora; assim, a associação da citologia vaginal com a análise das concentrações séricas ou plasmáticas de progesterona favorece a correta identificação da fase do ciclo estral ⁶. A dosagem da progesterona é uma adição valiosa para correta avaliação clínica do estágio do ciclo estral, se medida de forma confiável ⁷.

Estudos relacionaram a patogênese do olho seco com o desequilíbrio dos hormônios sexuais (estrógeno/andrógeno)^{8,9,10,11}. Os andrógenos estimulam os genes envolvidos na produção, transporte e secreção de lipídeos nas glândulas meibomianas¹². Há evidências que a sua deficiência tem efeitos prejudiciais na morfologia da glândula de meibômio¹³, estruturas responsáveis pela produção lipídica do filme lacrimal; portanto, a sua disfunção resulta em déficit qualitativo do filme lacrimal ¹⁴. No homem, é consenso que fármacos antiandrogênicos estão associados a um aumento da prevalência da síndrome do olho seco¹³.

Os receptores de estrógeno e progesterona são encontrados em estruturas da superfície ocular, como a córnea, a conjuntiva, glândulas de meibômio e glândula lacrimal principal¹⁵. No entanto, a influência dos estrogênios sobre a última é controversa, havendo relatos de ação positiva do estradiol sobre a sua anatomia e fisiologia¹⁶. Paradoxalmente, alguns autores sugerem um efeito negativo na produção lacrimal, como: indução da regressão glandular, ruptura de células acinares e necrose glandular. E, ainda, outros autores citam que a ausência de estrogênio não constitui um fator de risco para o desenvolvimento de inflamação na glândula lacrimal¹⁷.

Na medicina humana há estudos que correlacionam a menopausa precoce ao maior risco de desenvolvimento de glaucoma, presumindo-se que a diminuição nos

níveis de estrógeno e progesterona que ocorrem nessa fase, possa desencadear mecanismos fisiológicos influenciados por esses hormônios¹⁸. Pois há receptores de estrogênio em todo bulbo do olho, em especial na retina, cuja expressão desses receptores pode ser influenciada pelo gênero, ciclo menstrual e idade¹⁹.

O estradiol aumenta os níveis de óxido nítrico endotelial, elevando a atividade enzimática do óxido nítrico sintase III, que pode reduzir a pressão intraocular, decorrente de um relaxamento da rede trabecular e do músculo ciliar que impacta na regulação do humor aquoso^{20,21}. Além disso, esse hormônio também desencadeia um efeito vasodilatador que pode influenciar no suprimento sanguíneo do nervo óptico, na circulação uveal, retina e coroide²².

Há evidências do efeito antagonista da progesterona aos glicocorticoides²³, substâncias conhecidas por elevarem a pressão intraocular²⁴. Em coelhos, a progesterona pode inibir o efeito hipertensivo ocular dos glicocorticoides endógenos, competindo pelo sítio de ligação ao receptor, encontrado nas células do corpo ciliar²⁵. Não há relatos que o mesmo ocorra em outras espécies.

Em mulheres após a menopausa, há descrições sobre influência da terapia de reposição hormonal com estrógeno sobre a pressão intraocular, em que se observa uma discreta, porém significativa redução da pressão intraocular²⁶. Porém, estudos em cadelas versando sobre os impactos da variação hormonal sobre os valores de testes que avaliam a saúde da superfície ocular e pressão intraocular em cadelas são escassos e merecem, portanto, novas e originais investigações. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar a influência da oscilação dos hormônios sexuais de diferentes fases do ciclo estral de cadelas híginas na fisiologia lacrimal quantitativa/qualitativa e sobre a pressão intraocular.

2.4 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado com autorização expressa dos tutores/treinadores dos animais através do termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, campus de Araçatuba (Processo n.

852/2023). Os cuidados bioéticos foram seguidos de acordo com as normas da *Association for Research in Vision and Ophthalmology - ARVO (National Institutes of Health Publications número 85-23: Revised 1985)*.

2.4.1 Seleção dos animais

Foram avaliadas cadelas de diversas raças, com idades entre 6 meses e 10 anos e de pesos variados provenientes do atendimento do hospital veterinário de Andradina- São Paulo na fundação educacional de Andradina (FEA) e no centro de controle de zoonoses de Buritama- São Paulo. O grupo experimental foi composto por 84 animais, divididos de acordo com a fase do ciclo estral em que se encontravam, baseando-se na análise da citologia vaginal e na dosagem de progesterona. As cadelas foram submetidas, de forma aleatória, à avaliação clínica geral através de exame físico geral e complementares (sorologia para leishmaniose, hemograma completo, contagem total de plaquetas e dosagem sérica de ALT, FA, creatinina e ureia). Cadelas castradas ou que apresentavam outros sinais clínicos sistêmicos ou oftálmicos foram excluídas da pesquisa. Foram constituídos quatro grupos experimentais: GA (n= 76 olhos) composto por cadelas em anestro; GP (n= 36 olhos) composto por cadelas em proestro; GE (n= 28 olhos) composto por cadelas em estro e GD (n= 28 olhos) composto por cadelas em diestro

2.4.2 Procedimentos clínicos oftalmológicos

Todas as cadelas foram submetidas, em sequência, ao teste lacrimal de Schirmer tipo 1 (TLS-1), tempo de ruptura do filme lacrimal (TRLF) e aferição de pressão intraocular (PIO) pelo método da tonometria de rebote. Também foram submetidas à coleta de citologia vaginal com auxílio de *swab* estéril e rolagem em lâmina, seguido de coloração com panótico rápido (Instant Prov I, II, III, *new prov*, Pinhais- Paraná) e coleta de sangue por venopunção para dosagem sérica de progesterona. Todas as aferições oftálmicas foram realizadas no período vespertino,

pois o TSL-1 e PIO podem variar de acordo com influências do ciclo circadiano ^{14,27}. O examinador oftálmico não tinha ciência à qual fase do ciclo estral cada paciente pertencia, constituindo-se um estudo duplo cego. A leitura da citologia vaginal foi realizada por um outro colaborador com experiência, e avaliadas separadamente aos exames oftalmológicos.

Ressalta-se que todas as aferições foram conduzidas pelo mesmo examinador e sob condições semelhantes de temperatura e período do dia. Todo o material utilizado era do mesmo lote de tiras para o TSL-1 e de colírio de fluoresceína sódica, com intuito de minimizarem-se inconsistências ¹⁴.

Todos os pacientes foram submetidos à avaliação de ambos os olhos com auxílio da biomicroscopia com lâmpada em fenda (lâmpada de fenda portátil SLP-Z, Apramed, SL-15, São Carlos- São Paulo) para avaliação das pálpebras superiores e inferiores, terceira pálpebra, conjuntivas bulbar e palpebral, córnea, câmara anterior, íris e lente ²⁸.

2.4.3 Teste lacrimal de Schirmer tipo 1 (TSL-1)

O exame foi realizado mediante a inserção da tira milimetrada (*Tear Touch Blue-Schirmer Strips, Madhu Instruments* PVT. LTD importado e distribuído por Ophtalmos®, Índia) no saco conjuntival na porção medial da pálpebra inferior em ambos olhos durante 60 segundos, contados com auxílio de um cronômetro, sendo o resultado registrado em mm/min ^{28,29}.

2.4.4 Tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL)

Após a avaliação pelo TSL-1, foi realizado o TRFL. Para tanto, foi instilado no fórnice conjuntival inferior o colírio de fluoresceína sódica 1% (Fludiag, Oftalmopharma®, Artur Nogueira- São Paulo), aguardando-se o animal piscar. Em seguida, as pálpebras eram mantidas abertas e sob iluminação com filtro azul de

cobalto da lâmpada de fenda. Assim, o tempo entre o último ato de piscar e o primeiro ponto seco sem a fluoresceína foi determinado e considerado o tempo de ruptura do filme lacrimal ³⁰.

2.4.5 Tonometria de rebote

Cinco minutos após o teste do TRFL, a pressão intraocular de ambos os olhos foi mensurada pelo método de rebote com o tonômetro apropriado (Tonovet®, Icare, Finlândia). A ponteira do equipamento foi posicionada de forma vertical em um ângulo de 90° e a uma distância de 4 a 8 mm da córnea, sendo obtidas seis medidas consecutivas, e finalizada por um aviso sonoro.

2.4.6 Citologia vaginal

Após a realização dos testes oftálmicos foi realizado a coleta de citologia vaginal. Antes do procedimento, a vagina foi higienizada com solução fisiológica. A coleta foi realizada com o auxílio de um *swab* estéril, inicialmente introduzido pela vulva no ângulo de 45°, e rotacionado 180° no vestíbulo vaginal para obtenção da amostra em toda vagina. O material obtido foi espalhado em lâmina de vidro, fixado, identificado e corado com corante rápido de *Romanowsky* ³¹.

2.4.7 Dosagem de progesterona

A coleta foi realizada sempre no período matutino. O sangue foi coletado por venopunção da veia cefálica, utilizando-se seringas descartáveis de 5 ml e agulhas hipodérmicas 25x7 estéreis, sendo posteriormente colocados em tubos sem anticoagulantes

A amostra foi submetida à centrifugação por um período de 5 minutos a 1500 gramas. Em seguida, com o auxílio de uma pipetadora as amostras foram

aconditionadas em tubos de polietileno, tipo Eppenddorf e armazenadas a -20°C até as análises serem realizadas.

Para mensuração dos valores séricos foi utilizado a técnica de radioimunoensaio (RIE) com o *kit comercial RIA Progesterone* em fase sólida (BECKMANCOULTER – IMMUNOTECH- CzechRepublic).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para o delineamento experimental, foi considerado como evento fixo a fase do ciclo estral e a comparação com os testes oftálmicos (TLS-1, TRFL e PIO). Foi utilizado o pacote estatístico do *Software GraphPad Prism* versão 5.0 para *Windows* (*GraphPad software*, San Diego, Califórnia, USA).

As médias, desvio e erro padrão foram comparados pela análise visual do histograma e teste de distribuição normal de *Kolmogorov-Smirnov* e *Shapiro-Wilk*. Para os dados que apresentaram distribuição normal, foi utilizada a análise de variância (*two-way ANOVA*), com aplicação do pós-teste de *Tukey* na comparação das médias. Para os dados que não se comportaram com distribuição normal, seguiu-se com a análise de variância (*two-way ANOVA*), analisados pelo teste *Kruskall-Wallis* e pós-teste de *Dunn's*, sendo considerados os valores de $p < 0,05$ para as diferenças estatísticas.

2.6 RESULTADOS

As médias de idade dos diferentes grupos estudados estão expressas na Tabela 1. Embora o grupo amostral tenha sido constituído por animais de diferentes faixas etárias, observou-se que as médias de idade estiveram próximas.

Tabela 1- Média e desvio padrão da idade das cadelas em diferentes fases do ciclo estral.

Grupo	Idade (Anos)
GA	2,1±1,4
GP	2,1±1,7
GE	3,1±3,0
GD	3,5±2,2

Legenda: idade, anos; GA, grupo anestro; GP, grupo proestro; GE, grupo estro; GD grupo diestro.
Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os testes: TSL-1, TRFL e PIO de ambos os olhos de cadelas em diferentes fases do ciclo estral ($p>0,05$) (Tabela 2).

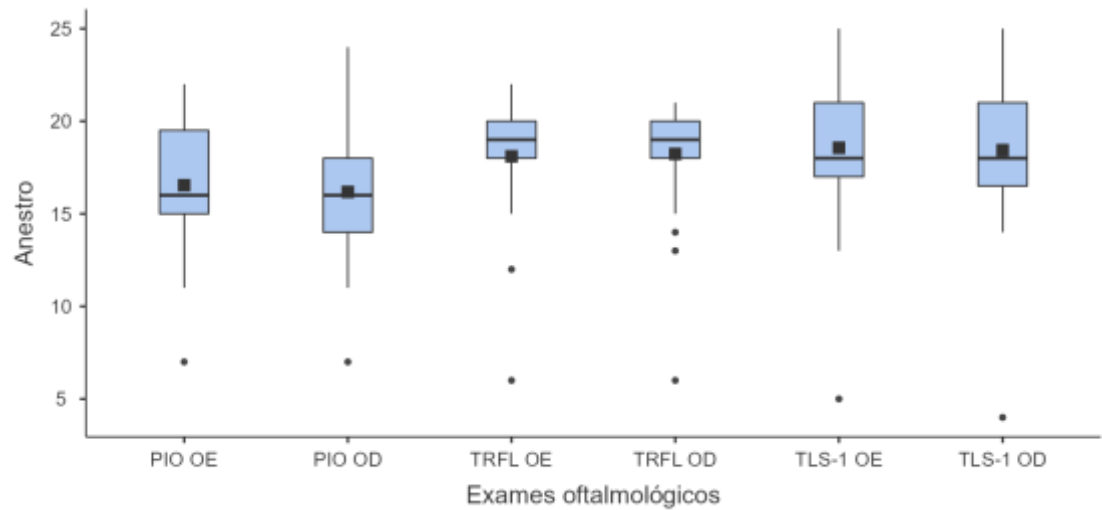
Tabela 2- Comparações Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk entre as diferentes fases do ciclo estral em relação aos parâmetros oftálmicos

Parâmetro oftálmico	Valor de P
Schirmer OD	0,6648
Schirmer OE	0,6663
TRFL OD	0,0896
TRFL OE	0,1587
PIO OD	0,7466
PIO OE	0,7841

Legenda: TSL-1, teste lacrimal de Schirmer tipo 1; TRFL, tempo de ruptura do filme lacrimal; PIO, pressão intraocular; OD, olho direito; OE, olho esquerdo.
Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Nas cadelas em anestro, a dispersão dos dados relativos encontra-se na figura 1. As médias do TSL-1 OD e OE foram de $19,6\pm 3,8$ e $19,5\pm 3,3$ mm/min, respectivamente. E TRFL no OD e OE foram $17,5\pm 3,5$ e $17,5\pm 3,3$ segundos, respectivamente. As médias da PIO no OD e OE foram de $15,8\pm 3,5$ e $16,7\pm 3,6$ mmHg, respectivamente.

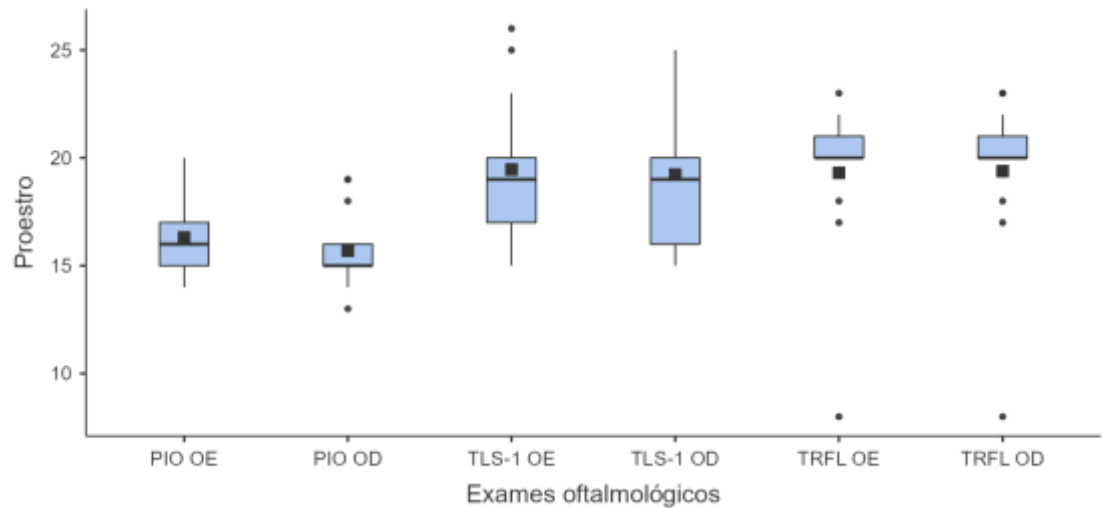
Figura 1- “Box-plots” de distribuição dos valores em OD e OE de: TLS-1 em mm/min, do TRFL em segundos e da PIO em mmHg, de 76 olhos de cadelas no anestro.



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

A dispersão dos dados relativos de cadelas em proestro encontra-se na figura 2. As médias do TSL-1 no OD e OE foram de $18,4 \pm 2,7$ e $18,7 \pm 2,8$ mm/min respectivamente. E do TRFL no OD e OE foram $19,2 \pm 3,4$ e $19 \pm 3,3$ segundos, respectivamente. As médias da PIO no OD e OE foram de $15,9 \pm 2$ e $16,2 \pm 1,9$ mmHg, respectivamente.

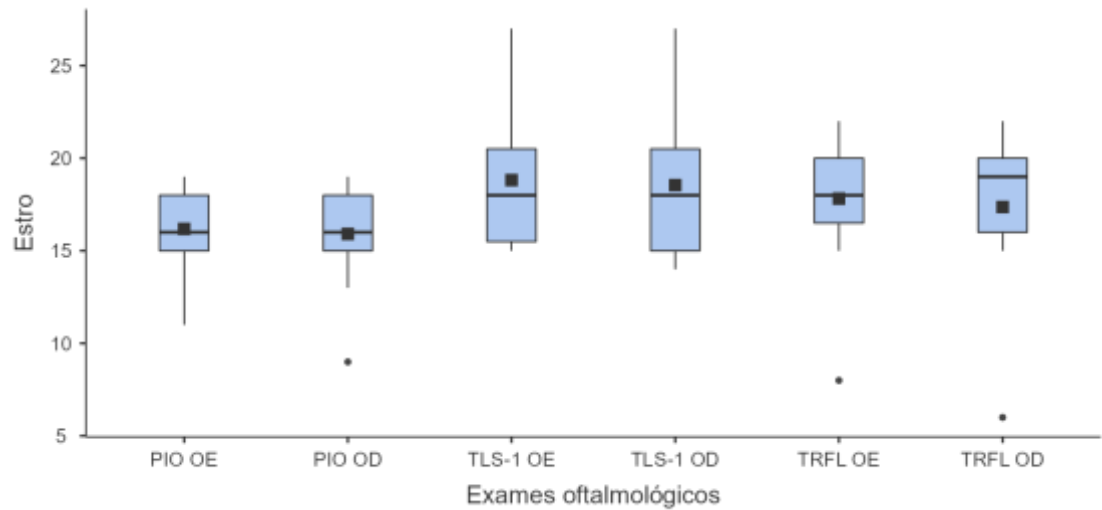
Figura 2- “Box-plots” de distribuição dos valores em OD e OE de: TLS-1 em mm/min, do TRFL em segundos e da PIO em mmHg, de 36 olhos de cadelas no proestro.



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

A dispersão dos dados relativos de cadelas no estro encontra-se na figura 3. As médias do TSL-1 no OD e OE foram de $18,1 \pm 5,8$ e $18,1 \pm 5,6$ mm/min respectivamente. E do TRFL no OD e OE, foram de $18,5 \pm 2,5$ e $18,5 \pm 2,7$ segundos, respectivamente. As médias da PIO em OD e OE foram de $16,5 \pm 2,7$ e $16,5 \pm 2,8$ mmHg, respectivamente.

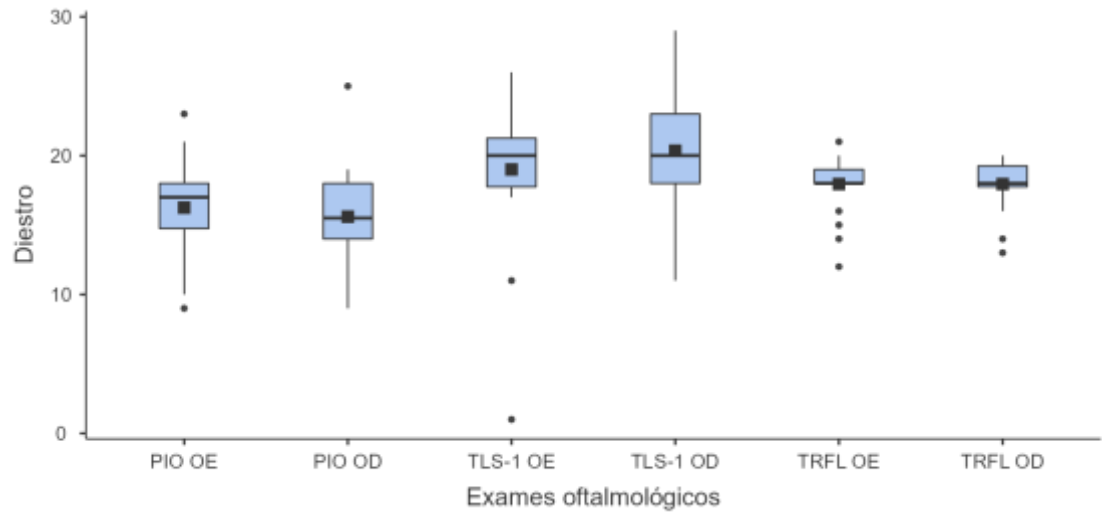
Figura 3- “Box-plots” de distribuição dos valores em OD e OE de: TLS-1 em mm/min, do TRFL em segundos e da PIO em mmHg, de 28 olhos de cadelas no estro.



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

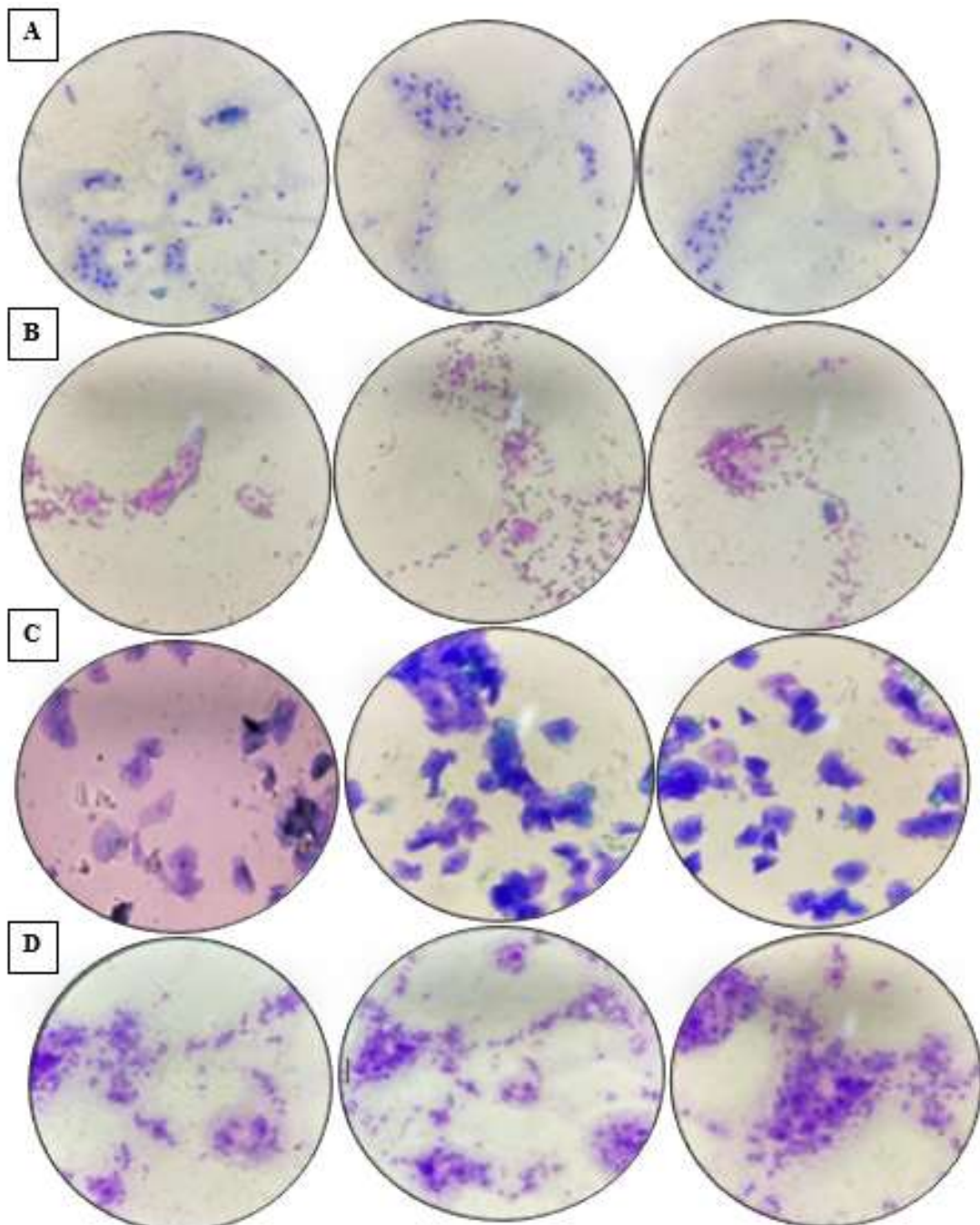
A dispersão dos dados relativos ao diestro encontra-se na figura 4. As médias do TSL-1 no OD e OE foram de $18,7 \pm 4,0$ e $17,6 \pm 5,7$ mm/min respectivamente. E do TRFL no OD e OE, foram de $17,7 \pm 1,7$ e $17,9 \pm 1,9$ segundos, respectivamente. As médias da PIO em OD e OE foram de $16,1 \pm 3,5$ e $16 \pm 3,4$ mmHg, respectivamente. A figura 5 apresenta imagens fotográficas da citologia vaginal de cadelas em diferentes fases do ciclo estral que foram incluídas no estudo.

Figura 4- “Box-plots” de distribuição dos valores em OD e OE de: TLS-1 em mm/min, do TRFL em segundos e da PIO em mmHg, de 28 olhos de cadelas no diestro



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

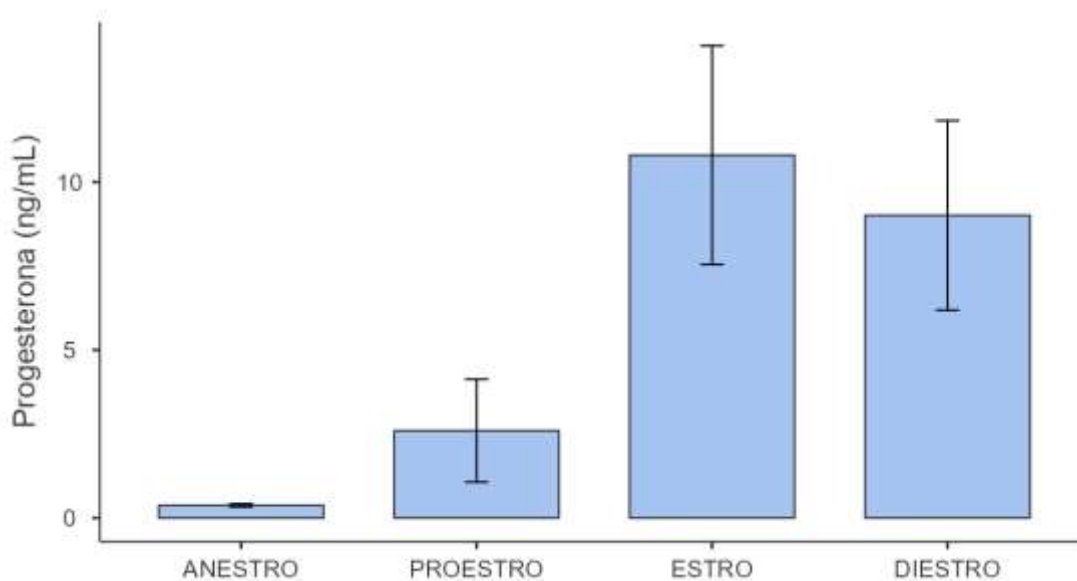
Figura 5- **Citologia vaginal.** **Linha A:** Prevalência de células parabasais e intermediárias pequenas (anestro), aumento de 40x; **Linha B:** Predomínio de células epiteliais parabasais, intermediárias pequenas e grandes, e superficiais. Presença de neutrófilos e hemácias (proestro), aumento de 40x; **Linha C:** Predomínio de células superficiais com núcleos picnóticos ou células nucleadas. Neutrófilos ausentes (estro), aumento de 80x; **Linha D:** Presença de células intermediárias, parabasais e presença de neutrófilos (diestro), aumento de 40x.



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

A figura 6 representa os valores da dosagem de progesterona, em ng/ml, das cadelas em diferentes fases do ciclo estral incluídas no estudo.

Figura 6- Gráfico de barras do valor da progesterona em ng/ml de cadelas no anestro, proestro, estro e diestro



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

2.7 DISCUSSÃO

Sabe-se que o fator idade pode influenciar na PIO ²⁷. No entanto, no presente estudo os valores obtidos das médias das idades das cadelas avaliadas em diferentes fases do ciclo estral, (tabela 1) eram similares entre os grupos.

A identificação do olho seco requer a realização de testes clínicos oftalmológicos, bem como a observação de sinais clínicos oculares. Optou-se pela realização do TSL-1 e TRFL, como testes de triagem para atestar a saúde da superfície ocular³² em cadelas híginas em diferentes fases do ciclo estral, visto que tais dados são escassos na literatura veterinária.

Os valores do TSL-1 encontrados (tabela 2) assemelharam-se aos valores encontrados na literatura em cães híginos ^{33,34}, assim como a média dos valores do TRFL de 20 segundos ou mais ³⁵.

É descrito na literatura que cães mais velhos tendem a apresentar valores menores no TLS-1, e maior risco de desenvolvimento de olho seco ²⁹ (a média do TLS-1 pode diminuir 0,4 mm para cada um ano de aumento da idade ¹⁴.) porém, como no presente trabalho, a idade média das pacientes avaliadas variou de forma discreta (2,1 a 3,5 anos) entre os grupos estudados, (Tabela 1), não foi possível avaliar a correlação desse fator com animais senis.

Há controvérsias sobre a maior predisposição das fêmeas em desenvolver olho seco ^{14,36}. Alguns autores destacaram, ainda, sobre a necessidade de mais estudos envolvendo um maior número de animais não castrados em diferentes fases do ciclo estral, animais gestantes e lactantes, para demonstrar o efeito dos hormônios sexuais na produção e função lacrimal. O presente estudo avaliou 168 olhos de fêmeas inteiras em diferentes fases do ciclo estral, com o intuito de desvendar tais incongruências na literatura¹⁴.

Embora sem diferença estatística, os animais pertencentes ao GD foram os que apresentaram menores médias no TSL-1 nos olhos esquerdos e as menores médias no TRFL foram encontradas em ambos os olhos de cadelas no anestro (figura 1 e 4). No anestro ocorre um declínio dos níveis dos andrógenos circulantes¹, como ocorre na menopausa em mulheres que apresentam maior tendência ao desenvolvimento de olho seco ¹¹. No diestro há aumento da progesterona e diminuição nos níveis de estrógeno. a coleta foi realizada sempre no período matutino. Visto que esse hormônio¹, pode influenciar de maneira positiva o funcionamento das glândulas lacrimais, a sua ausência pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de olho seco ¹⁶.

As menores médias encontradas no TRFL foram no anestro (figura 1), onde se reconhece que há decréscimo dos níveis séricos dos andrógenos, que atuam sobre as glândulas de meibômio, afetando a produção lipídica do filme lacrimal ¹³. No entanto, os valores encontrados neste teste encontravam-se dentro da faixa de normalidade. Supõe-se que outros fatores possam suprimir os níveis dos hormônios sexuais durante períodos em que haja decréscimo dos mesmos ou aquiescência das gônadas sexuais¹. Embora, a função primária da glândula adrenal seja a síntese de glicocorticoides e mineralocorticoides, essa glândula pode sintetizar todas as classes de hormônios esteroidais, incluindo os sexuais ³⁷.

Ocorrem oscilações nas concentração de citocinas inflamatórias na lágrima de mulheres saudáveis em diferentes fases do ciclo menstrual. Os níveis de citocinas pró-inflamatórias, incluindo as metaloproteinases, encontram-se aumentados na fase da ovulação e lútea em comparação à fase folicular inicial, evidenciando que a presença de citocinas em tecidos responsivos ao estrogênio pode oscilar nas diferentes fases do ciclo menstrual. Assim, as variações nos níveis de estrogênio podem impactar na gravidade da síndrome do olho seco e na consequente cicatrização de feridas na córnea ¹¹. No entanto observou-se, no presente estudo, que a correlação das flutuações hormonais, decorrentes das diferentes fases do ciclo estral, avaliadas pelo TLS-1 e TRFL, não foram estatisticamente significantes.

Após a castração de coelhos, há atrofia das células epiteliais da glândula lacrimal, regressão das vesículas de muco das células acinares e diminuição de células caliciformes da conjuntiva ³⁸. Portanto, a realização de estudos que avaliem a produção lacrimal quantitativa e qualitativa em cadelas castradas pode demonstrar resultados estatisticamente significantes em relação à influência dos hormônios sexuais na patogênese do olho seco. Neste sentido, em um estudo foram observados, baixos níveis de testosterona e estradiol circulantes em cadelas castradas e sendo observadas alterações quali/quantitativas do filme lacrimal, independentemente do tempo de castração ³⁹. Paralelamente, foram avaliados, os níveis de testosterona em mulheres no pós-menopausa e sua correlação com o risco de desenvolver olho seco ⁴⁰, e os autores observaram que não houve diferença estatisticamente significativa. No presente trabalho, não foi observada diferença estatisticamente significativa, no período de aquiescência das gônadas sexuais da cadela com os testes realizados, achado em que se contrapõe ao que se espera com menores níveis de andrógenos circulantes. Assim, destaca-se a necessidade de novos estudos clínicos para melhor esclarecer a relação dos níveis séricos dos androgênios em cães que desenvolvem de olho seco.

Na medicina humana há divergências em relação ao efeito da terapia de reposição hormonal (TRH) em mulheres no pós-menopausa. Em alguns estudos destaca-se a importância dos andrógenos na produção da fração aquosa do filme lacrimal pela glândula lacrimal, bem como a secreção lipídica do filme lacrimal, por ação nos receptores de andrógenos nas glândulas de meibômio. Porém, Schellini, et al. (2004) ³² realizaram um estudo em que não foram observadas diferenças entre os

valores do TSL-1 e TRFL em mulheres após a TRH com estradiol e medroxiprogesterona. No entanto, outros autores apontaram que a medicação oral sistêmica em mulheres na menopausa influencia, de maneira positiva, o funcionamento da glândula lacrimal ⁴¹.

Os valores médios da PIO no presente estudo, encontraram-se próximos aos valores já estabelecidos como dentro da normalidade variando de 15 a 25 mmHg ⁴². Destaca-se que as aferições foram realizadas no mesmo horário pela manhã, levando-se em consideração a interferência circadiana sobre este parâmetro. Nas espécies de hábitos diurnos como, cães, macacos e humanos, a PIO eleva-se durante o dia ²⁷. Porém, há trabalhos em que os autores citam que o ciclo circadiano não influencia a PIO em cadelas saudáveis ⁴³.

A espessura corneana influencia na aferição da PIO, sendo que córneas mais espessas tendem a superestimar os valores da tonometria ⁴⁴. Na mulher, a superfície ocular sofre alterações de acordo com as variações cíclicas dos níveis circulantes dos hormônios estrogênio e progesterona, sendo que a córnea se torna-se mais espessa no final do ciclo menstrual devido aos receptores de estrogênio presentes nela ⁴⁵, demonstrando assim a influência dos hormônios sexuais na pressão intraocular.

No presente trabalho embora, estatisticamente insignificante, e dentro de valores de referência, ^{33,42} a maior média observada de PIO foi nos olhos esquerdos das cadelas em anestro, onde os níveis de estrógeno estão diminuídos ¹ (figura 1). Assim, esse achado corrobora o que ocorre em algumas mulheres no período da menopausa ¹⁷. Ressalta-se, que esse estudo é pioneiro na avaliação da PIO de cadelas em diferentes fases do ciclo estral, o que permite pressupor que os hormônios femininos não apresentam correlação com patogênese do glaucoma em cadelas, assim como relatado em humanos ⁴⁶.

Na mulher, condições que cursam com uma diminuição no nível de estrogênio como a idade do início da menarca, pacientes submetidas a ooforectomia bilateral e idade de início precoce da menopausa aumentam os riscos do desenvolvimento de glaucoma. Em contrapartida, situações que levem a um estado de hiperestrogenismo, como a gravidez, conferem menores riscos para o desenvolvimento do glaucoma ⁴⁷. No presente estudo, embora estatisticamente insignificante, o período em que se observou a maior média da PIO foi no anestro. Assim, pode-se concluir que, para os

casos de elevação de PIO em cadelas em fase de anestro, uma possível alternativa terapêutica para a prevenção glaucoma, seria a suplementação com 17beta-estradiol. Esse fármaco hormonal previne a perda de CGR (células ganglionares da retina) induzida quando há aumento agudo da PIO ⁴⁸, com efeito neuroprotetor ao nervo óptico ⁴⁷. Em mulheres grávidas, sob influência da progesterona, encontrou-se diminuição nos valores médios de PIO ⁴⁹. Em coelhos é reconhecida que há a presença de receptores de progesterona no corpo ciliar, cuja ligação deste hormônio pode inibir o efeito hipertensivo ocular dos glicocorticoides endógenos, competindo pelo sítio de ligação ao receptor ⁵⁰.

Dessa forma, ressalta-se que estudos que avaliem a PIO de cadelas gestantes e/ou castradas, seriam válidos para melhor elucidar a relação dos hormônios sexuais na patogênese do glaucoma, visto que a diminuição do estrógeno circulante incita um maior risco para ocorrência de glaucoma, outrossim, situações clínicas que levem ao hiperestrogenismo, podem reduzir a PIO ⁴⁶.

Tendo em vista que na mulher prioriza-se a importância do conhecimento dos níveis hormonais normais em diferentes fases do seu ciclo reprodutivo no auxílio para rastreamento do glaucoma ⁵¹, julga-se ser pertinente a identificação oscilações da PIO em cadelas nas diferentes fases do ciclo estral.

2.8 CONCLUSÃO

Conclui-se que não houve influência do ciclo estral de cadelas híginas na avaliação lacrimal quantitativa e qualitativa e na PIO. Destaca-se a importância de se comporem estudos que desvendem a influência ou não dos hormônios sexuais de cadelas na patogênese do olho seco e na dinâmica da PIO como fator predisponente ao glaucoma, visto que na medicina veterinária, tais dados são escassos.

Conflitos de interesse

Nenhum dos autores possui conflito de interesse.

2.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Concannon PW. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal reproduction Science*. 2011; 124(3-4), 200-210.
- ² Concannon PW. Induction of fertile oestrus in anoestrous dogs by constant infusion of GnRH agonist. *J Reprod Fertil Suppl*. 1989; 39:149-60.
- ³ Feldman EC, Nelson RW. *Canine and feline endocrinology and reproduction*. Missouri: Saunders, 2004; (3)1089-1095.
- ⁴ Okkens AC, Kooistra HS. Anoestrus in the dog: a fascinating story. *Reprod Domest Anim*. 2006 ;41(4):291-6.
- ⁵ Reckers F, Klopfleisch R, Belik V, Arlt S. Canine Vaginal Cytology: A Revised Definition of Exfoliated Vaginal Cells. *Front Vet Sci*. 2022; 24(9):834031. doi: 10.3389/fvets.2022.834031.
- ⁶ Brugger N, Otzdorff C, Walter B, Hoffmann B, Braun J. Quantitative determination of progesterone (P4) in canine blood serum using an enzyme-linked fluorescence assay. *Reprod Domest Anim*. 2011 ;46(5):870-3. doi: 10.1111/j.1439-0531.2011.01757.x
- ⁷ Conley A.J, Gonzales K.L, Erb HN, Christensen BW. Progesterone Analysis in Canine Breeding Management. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2023;53(5):931-949. doi:10.1016/j.cvsm.2023.05.007
- ⁸ Smith RE. The tear film complex: pathogenesis and emerging therapies for dry eyes. *Cornea*. 2005;24(1):1-7. doi:10.1097/01.ico.0000141486.56931.9b
- ⁹ Peck T, Olsakovsky L, Aggarwal S. Dry Eye Syndrome in Menopause and Perimenopausal Age Group. *J Midlife Health*. 2017 ;8(2):51-54. doi: 10.4103/jmh.JMH_41_17.
- ¹⁰ Lurati AR. Menopause and Dry Eye Syndrome. *Nurs Womens Health*. 2019; 23(1):71-78. doi: 10.1016/j.nwh.2018.11.001.

- ¹¹ Gorimanipalli B, Khamar P, Sethu S, Shetty R. Hormones and dry eye disease. *Indian J Ophthalmol.* 2023;(4):1276-1284. doi: 10.4103/IJO.IJO_2887_22.
- ¹² Steagall RJ, Yamagami H, Wickham LA, Sullivan DA. Androgen control of gene expression in the rabbit meibomian gland. *Adv Exp Med Biol.* 2002;506(Pt A):465-476. doi:10.1007/978-1-4615-0717-8_65
- ¹³ Krenzer KL, Dana MR, Ullman MD, et al. Effect of androgen deficiency on the human meibomian gland and ocular surface. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(12):4874-4882. doi:10.1210/jcem.85.12.7072
- ¹⁴ Hartley C, Williams DL, Adams VJ. Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. *Vet Ophthalmol.* 2006;9(1):53-57. doi:10.1111/j.1463-5224.2005.00437.x
- ¹⁵ McKay TB, Priyadarsini S, Karamichos D. Sex hormones, growth hormone, and the cornea. *Cells* 2022;11:224. doi:10.3390/cells11020224.
- ¹⁶ Da Y, Niu K, Wang K, et al. A comparison of the effects of estrogen and Cimicifuga racemosa on the lacrimal gland and submandibular gland in ovariectomized rats. *PLoS One.* 2015;10(3):e0121470. doi:10.1371/journal.pone.0121470
- ¹⁷ Rahimi Darabad R, Suzuki T, Richards SM, Jakobiec FA, Zakka FR, Barabino S, et al. Does estrogen deficiency cause lacrimal gland inflammation and aqueous-deficient dry eye in mice? *Exp Eye Res.* 2014;127:153-60.
- ¹⁸ Hulsman CA, Westendorp IC, Ramrattan RS, et al. Is open-angle glaucoma associated with early menopause? The Rotterdam Study. *Am J Epidemiol.* 2001;154(2):138-144. doi:10.1093/aje/154.2.138
- ¹⁹ Sullivan DA. Tearful relationships? Sex, hormones, the lacrimal gland, and aqueous-deficient dry eye. *Ocul Surf.* 2004;2(2):92-123. doi:10.1016/s1542-0124(12)70147-7

- ²⁰ Rosselli M, Imthurm B, Macas E, Keller PJ, Dubey RK. Circulating nitrite/nitrate levels increase with follicular development: indirect evidence for estradiol mediated NO release. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;202(3):1543-1552. doi:10.1006/bbrc.1994.2107
- ²¹ Wiederholt M, Sturm A, Lepple-Wienhues A. Relaxation of trabecular meshwork and ciliary muscle by release of nitric oxide. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994;35(5):2515-2520.
- ²² Nathanson JA, McKee M. Identification of an extensive system of nitric oxide-producing cells in the ciliary muscle and outflow pathway of the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995;36(9):1765-1773.
- ²³ Alves LMS. Efeitos de estrógeno e de progesterona na atividade basal do eixo hipotálamo hipófise adrenal. *Tese de Doutorado*. Universidade de São Paulo. 2010; 44-48.
- ²⁴ Shroff S, Thomas RK, D'Souza G, Nithyanandan S. The effect of inhaled steroids on the intraocular pressure. *Digit J Ophthalmol*. 2018 May 12;24(3):6-9. doi: 10.5693/djo.01.2018.04.001.
- ²⁵ Weinstein BI, Altman K, Gordon GG, Dunn M, Southren AL. Specific glucocorticoid receptor in the iris--ciliary body of the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1977;16(10):973-976.
- ²⁶ Vajaranant TS, Maki PM, Pasquale LR, Lee A, Kim H, Haan MN. Effects of Hormone Therapy on Intraocular Pressure: The Women's Health Initiative-Sight Exam Study. *Am J Ophthalmol*. 2016 May; 165:115-24. doi: 10.1016/j.ajo.2016.02.025.
- ²⁷ Piccione G, Giannetto C, Fazio F, Giudice E. Influence of different artificial lighting regimes on intraocular pressure circadian profile in the dog (*Canis familiaris*). *Exp Anim*. 2010;59(2):215-23. doi: 10.1538/expanim.59.215.
- ²⁸ Andrade AL. Semiologia do sistema visual dos animais domésticos. In: Feitosa, FLP. *Semiologia Veterinária*, São Paulo: Roca. 2008; (2):623-653

- ²⁹ Herrera D. Afecções da córnea. In: *Oftalmologia Clínica em Animais de Companhia*. Ed. MedVet. 2008; (1):111-113
- ³⁰ Colitz CMH. Doenças do sistema lacrimal. In: *Manual Saunders: clínica de pequenos animais*. São Paulo: Roca.2008; (3):1416-1421.
- ³¹ Da Costa ECF, Palazzo EL, Neves L. "Estimativa da fase do ciclo estral por citologia vaginal em cadelas (canis familiaris, linnaeus, 1758) da região de ituverava-SP." *Nucleus Animalium*. 2009; 1(2), 1-10.
- ³² Schellini SA., Sakamoto R H, Ishii LA, Hoyama E, Nahas, EAP, Padovani CR. Influência da terapia hormonal sobre o filme lacrimal em mulheres na pós-menopausa. *Revista de Ciências Médicas*. 2004;13(4):347-353.
- ³³ Slatter D. *Fundamentos de oftalmologia veterinária*. São Paulo: Roca. 2005;(3)686-706.
- ³⁴ Laus JL, Galera, PD, de Souza, MSB, Morales, de Andrade A L. Padronização dos valores do "Teste da Lágrima de Schirmer modificado" e da "Tonometria de Indentação pelo método de Schiötz", em cães da região de Jaboticabal-SP– Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. (1995); 32(3), 173-176.
- ³⁵ Jorge A, Honsho C, Pereira L, Dias L G, Dias F. Diferentes respostas ao tratamento clínico na ceratoconjuntivite seca em cães. *Enciclopédia Biosfera*. 2015;11(21),764.
- ³⁶ Barnett KC. Keratoconjunctivitis sicca: sex incidence. *Journal of Small Animal Practice*. 1988; 29(8), 531-534. doi:10.1111/j.1748-5827.1988.tb02304.x
- ³⁷ Frank LA, Rohrbach BW, Bailey EM, West JR, Oliver JW. Steroid hormone concentration profiles in healthy intact and neutered dogs before and after cosyntropin administration. *Domest Anim Endocrinol*. 2003;(1):43-57. doi: 10.1016/s0739-7240(02)00204-7.
- ³⁸ Luo F, Zhang H, Sun X. The change of tear secretion and tear film stability in castrated male rabbits. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 2001; 37(6):458-61.

- ³⁹ Campinho DDSP. Efeito da ovariosalpingohisterectomia sobre produção lacrimal, citologia e microbiota conjuntival de cadelas. *Tese de Doutorado*. Universidade federal rural de Pernambuco. 2006; 40-45.
- ⁴⁰ Duarte MCB, Pinto NT, Moreira H, Moreira ATR, Wasilewski D. Nível de testosterona total em mulheres pós-menopausa com olho seco. *Arquivos brasileiros de oftalmologia*. 2007;70, 465-469.
- ⁴¹ Jin X, Lin Z, Liu Y, Lin L, Zhu B. Hormone replacement therapy benefits meibomian gland dysfunction in perimenopausal women. *Medicine Baltimore*. 2016;95(31):e4268. doi: 10.1097/MD.00000000000004268.
- ⁴² Carneiro-Filho L. Glaucoma. In: *Oftalmologia Veterinária: Clínica e Cirurgia*. São Paulo: Roca. 2004; 35-39.
- ⁴³ Ávila DFD. Pressão intraocular de cadelas das raças Shih-Tzu, Maltês e Lulu da Pomerânia por tonometria de aplanção. *Tese de Doutorado*. Universidade federal de Uberlândia. 2012; 12-14.
- ⁴⁴ Komáromy AM, Bras D, Esson DW, Fellman RL, Grozdanic SD, Kagemann L, Miller PE, Moroi SE, Plummer CE, Sapienza JS, Storey ES, Teixeira LB, Toris CB, Webb TR. The future of canine glaucoma therapy. *Vet Ophthalmol*. 2019;(5):726-740. doi: 10.1111/vop.12678.
- ⁴⁵ Giuffrè G, Di Rosa L, Fiorino F, Bubella DM, Lodato G. Variations in central corneal thickness during the menstrual cycle in women. *Cornea*. 2007; 26(2):144-6. doi: 10.1097/01.ico.0000244873.08127.3c.
- ⁴⁶ Lee AJ, Mitchell P, Rohtchina E, Healey PR; Blue Mountains Eye Study. Female reproductive factors and open angle glaucoma: the Blue Mountains Eye Study. *Br J Ophthalmol*. 2003; 87(11):1324-8. doi: 10.1136/bjo.87.11.1324.
- ⁴⁷ Dewundara SS, Wiggs JL, Sullivan DA, Pasquale LR. Is Estrogen a Therapeutic Target for Glaucoma? *Semin Ophthalmol*. 2016;31(1-2):140-6. doi: 10.3109/08820538.2015.1114845

- ⁴⁸ Russo R, Cavaliere F, Watanabe C, Nucci C, Bagetta G, Corasaniti MT, Sakurada S, Morrone LA. 17Beta-estradiol prevents retinal ganglion cell loss induced by acute rise of intraocular pressure in rat. *Prog Brain Res*. 2008;173:583-90. doi: 10.1016/S0079-6123(08)01144-8.
- ⁴⁹ Borges-Giampani AS. Influência da terapia hormonal sobre a pressão ocular de mulheres na pós-menopausa. *Dissertação de doutorado*. 2005 - Universidade de São Paulo. 25-30.
- ⁵⁰ Weinstein BI, Altman K, Gordon GC, et al. Specific glucocorticoid receptor in the iris-ciliary body of the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1977;16:973–6.
- ⁵¹ Ebeigbe JA., Ebeigbe PN, Ighoroje AA. Intraocular pressure in postmenopausal Nigerian women with and without systemic hypertension. *African Vision and Eye Health*. 2011;70(3), 117-122.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na medicina veterinária os estudos sobre a influência do ciclo estral de cadelas híginas, na análise quantitativa e qualitativa do filme lacrimal, bem como da pressão intraocular são escassos. O presente trabalho foi pioneiro na avaliação dessa correlação, mas entende-se que mais estudos são necessário para melhor elucidar a influência dos hormônios sexuais na cadela e sua influência da produção lacrimal quantitativa e qualitativa e na dinâmica da pressão intraocular.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ANGÉLICO, G. T; RANZANI, J. J. T; BRANDÃO, C. V. S; SCHELLINI, S. A; PADOVANI, C. R; SERENO, M. G; CREMONINI, D. N. Transplante de glândulas salivares menores no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 5, p. 1087-1092, 2011. DOI: 10.1590/S0102-09352011000500007.

BENETTI, A. H.; TONIOLLO, G. H.; OLIVEIRA, J. A. Concentrações séricas de progesterona, 17 b-estradiol e cortisol durante o final do próestro, estro e diestro gestacional em cadelas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 471-478, 2004. DOI: 10.1590/S0103-84782004000200021.

BORGES-GIAMPANI, A. S. **Influência da terapia hormonal sobre a pressão ocular de mulheres na pós-menopausa**. 2005. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

BROADWATER, J. J.; SCHORLING, J. J.; HERRING, I. P.; ELVINGER, F. Effect of body position on intraocular pressure in dogs without glaucoma. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 69, n. 4, p. 527-530, 2008. DOI: 10.2460/ajvr.69.4.527.

BRUGGER, N.; OTZDORFF, C.; WALTER, B.; HOFFMANN, B.; BRAUN, J. Quantitative determination of progesterone (P4) in canine blood serum using an enzyme-linked fluorescence assay. **Reproduction in Domestic Animal**, Berlin, v. 46, n. 5, p. 870-873, 2011. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2011.01757.x.

CARNEIRO-FILHO, L. Glaucoma. *In*: CARNEIRO-FILHO, L. **Oftalmologia veterinária: clínica e cirurgia**. São Paulo: Roca, 2004. p. 35-39.

CERVINO, A. Rebound tonometry: new opportunities and limitations of non-invasive determination of intraocular pressure. **British Journal of Ophthalmology**, London, v. 90, n. 12, p. 1444-1446, 2006. DOI: 10.1136/bjo.2006.102970.

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

CONCANNON, P. W. Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs. **Journal of Reproduction and Fertility. Supplements**, Oxford, v. 47 p. 3-27, 1993.

CONCANNON, P. W. Induction of fertile oestrus in anestrus dog by constant infusion of GnRH agonist. **Journal Reproduction Fertility. Supplement**, Oxford, v. 39, p. 149-160, 1989.

CONCANNON, P. W. Reproductive cycles of the domestic bitch. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 124, n. 3-4, p. 200-210, 2011. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2010.08.028.

COSTA, E. C. F.; LÉGA, E.; NEVES, L. Estimativa da fase do ciclo estral por citologia vaginal em cadelas (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) da região de Ituverava-SP. **Nucleus Animalium**, Ituverava, v. 1, n. 2, p. 75-83, 2009.

CHOBANIAN, A. V.; BAKRIS, G. L.; BLACK, H. R.; CUSHMAN, W. C.; GREEN, L. A.; IZZO JR, J. L.; JONES, D. W.; MATERSON, B. J.; OPARIL, S.; WRIGHT JR, J. T.; ROCCELLA, E. J. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. **Hypertension**, Philadelphia, v. 42, n. 6, p. 1206-1252, 2003. DOI: 10.1161/01.HYP.0000107251.49515.c2Hypertension.

CRUSCO, S. E. Tópicos do ciclo estral em cadelas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 46, n. 4, p. 373-376, 2022.

DODI, P. L. Immune-mediated Keratoconjunctivitis sicca in dogs: current perspectives on management. **Veterinary Medicine**, Auckland, v. 6, p. 341-347, 2015. DOI: 10.2147/VMRR.S66705.

EVANS, V.; MILLAR, T. J.; EDEN, J. A.; EDEN, M. D. P.; WILLCOX, M. D. P. Menopause, hormone replacement therapy and tear function. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 506, pt. B, p. 1029-1033, 2002. DOI: 10.1007/978-1-4615-0717-8_145.

FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W. **Canine and feline endocrinology and reproduction**. 3. ed. St. Louis: Saunders, 2004. 1089 p.

GELLATT, K. N. Glaucoma do cão. In: GELLATT, K. N. **Manual de oftalmologia veterinária**. 4. ed. Barueri: Manole, 2003. p. 165-196.

GELATT, K. N.; MACKAY, E. O. Prevalence of the breed-related glaucomas in pure-bred dogs in North America. **Veterinary Ophthalmology**, Oxford, v. 7, n. 2, p. 97-111, 2004. DOI: 10.1111/j.1463-5224.2004.04006.x.

GIULIANO, E. A. Diseases and surgery of canine lacrimal secretory system. In: GELATT, K. N.; GILGER, B. C.; KERN, T. J. (Eds.). **Veterinary ophthalmology**. 5. ed. Oxford: John Wiley & Sons, 2013. p. 912-945.

GORIMANIPALLI, B.; KHAMAR, P.; SETHU, S.; SHETTY, R. Hormones and dry eye disease. **Indian Journal of Ophthalmology**, Mumbai, v. 71, n. 4, p. 1276-1284, 2023. DOI: 10.4103/IJO.IJO_2887_22.

GUM, G. G; MACKAY, E. O. Physiology of the eye. In: GELATT, K. N.; GILGER, B. C.; KERN, T. J. (Eds.). **Veterinary ophthalmology**. 5. ed. Oxford: John Wiley & Sons, 2013. p. 171-207.

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**, Oxford, v. 9, n. 1, p. 53-57, 2006. DOI: 10.1111/j.1463-5224.2005.00437.x.

HENDRIX, D. V.; ADKINS, E. A.; WARD, D. A.; STUFFLE, J.; SKOROBOHACH, B. An investigation comparing the efficacy of topical ocular application of tacrolimus and cyclosporine in dogs. **Veterinary Medicine International**, New York, v. 2011, article 487592, p. 1-5, 2011. DOI: 10.4061/2011/487592.

HERRERA, D. Afecções da córnea. In: HERRERA, D. **Oftalmologia clínica em animais de companhia**. São Paulo: MedVet, 2008. p. 111-113.

HISEY, E. A.; GALOR, A.; LEONARD, B. C. A comparative review of evaporative dry eye disease and meibomian gland dysfunction in dogs and humans. **Veterinary Ophthalmology**, Oxford, v. 26, p. 16-30, 2023. Supl. 1. DOI: 10.1111/vop.13066.

HOLLINSHEAD, F. K.; HANLON, D. W. Normal progesterone profiles during estrus in the bitch: A prospective analysis of 1420 estrous cycles. **Theriogenology**, New York, v. 125, p. 37-42, 2019. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2018.10.018.

HULSMAN, C. A.; WESTENDORP, I. C.; RAMRATTAN, R. S.; WOLFS, R. C.; WITTEMAN, J. C.; VINGERLING, J. R.; HOFMAN, A.; JONG, P. T. Is open-angle glaucoma associated with early menopause? The Rotterdam Study. **American Journal of Epidemiology**, Cary, v. 154, n. 2, p. 138-144, 2001. DOI: 10.1093/aje/154.2.138.

JOHNSON, M. E.; MURPHY, P. J. The effect of instilled fluorescein solution volume on the values and repeatability of TBUT measurements. **Cornea**, Hagerstown, v. 24, n. 7, p. 811-817, 2005. DOI: 10.1097/01.ico.0000154378.67495.40.

JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. V. R.; OLSON, P. N. S. **Canine and feline theriogenology**. Philadelphia: Saunders, 2001. p. 490-592.

JORGE, A. T.; HONSHO, C. S.; PEREIRA, L. F.; DIAS, L. G. G. G.; DIAS, F. G. G. Diferentes respostas ao tratamento clínico na ceratoconjuntivite seca em cães. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 764-776, 2015.

KOBASHIGAWA, K. K.; LIMA, T. B.; PADUA, I. R. M.; BARROS SOBRINHO, A. A. F.; MARINHO, F. A.; ORTÊNCIO, K. P.; LAUS, J. L. Ophthalmic parameters in adult Shih Tzu dogs. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 7, p. 1280-1285, 2015. DOI: 10.1590/0103-8478cr20141214.

KOMÁROMY, A. M.; BRAS, D.; ESSON, D. W.; FELLMAN, R. L.; GROZDANIC, S. D.; KAGEMANN, L.; MILLER, P. E.; MOROI, S. E.; PLUMMER, C. E.; SAPIENZA, J. S.; STOREY, E. S.; TEIXEIRA, L. B.; TORIS, C. B.; WEBB, T. R. The future of canine glaucoma therapy. **Veterinary Ophthalmology**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 726-740, 2019. DOI: 10.1111/vop.12678.

KONTIOLA, A. I.; GOLDBLUM, D.; MITTAG, T.; DANIAS, J. The induction/impact tonometer: a new instrument to measure intraocular pressure in the rat. **Experimental Eye Research**, London, v. 73, n. 6, p. 781-785, 2001. DOI: 10.1006/exer.2001.1088.

KOWALEWSKI, M. P. Endocrine and molecular control of luteal and placental function in dogs: a review. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 47, p.19-24, 2012. Supl. 6. DOI: 10.1111/rda.12036.

KOWALEWSKI, M. P. Selected comparative aspects of canine female reproductive physiology. *In*: SKINNER, M. K. (Ed.). **Encyclopedia of reproduction**. 2. ed. Amsterdam: Academic Press, 2018. p. 682-691. DOI: 10.1016/B978-0-12-809633-8.20527-X.

KUSTRITZ, M. V. R. Vaginal cytology in the bitch and queen. *In*: SHARKEY, L. C.; RADIN, M. J.; SEELIG, D. (Eds.). **Veterinary cytology**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2020. Cap. 42, p. 552-558. DOI: 10.1002/9781119380559.ch42.

LAHA, B.; STAFFORD, B. K.; HUBERMAN, A. D. Regenerating optic pathways from the eye to the brain. **Science**, Washington-DC, v. 356, n. 6342, p. 1031-1034, 2017. DOI: 10.1126/science.aal5060.

LAUS, J. L.; GALERA, P. D.; SOUZA, M. S. B.; MORALES, A; ANDRADE, A. L. Padronização dos valores do “Teste da Lágrima de Schirmer modificado” e da “Tonometria de Indentação pelo método de Schiötz”, em cães da região de Jaboticabal-SP–Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 173-176, 1995.

LEIVA, M.; NARANJO, C.; PEÑA, M. T. Comparison of the rebound tonometer (ICare) to the applanation tonometer (Tonopen XL) in normotensive dogs. **Veterinary Ophthalmology**, Oxford, v. 9, n. 1, p. 17-21, 2006. DOI: 10.1111/j.1463-5224.2005.00429.x.

LOPES, T. V.; SOUZA, J. G. S. G.; SILVA, J. S.; RODRIGUES, J. C.; ALVARES, E. M.; LOPES, I. V.; SCHONS, S. V. Ceratoconjuntivite seca: revisão sistemática. **Research, Society and Development**, Itabira, v. 10, n. 8, article e56510817354, p. 1-8, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i8.17354.

LUCARELLI, A. P.; MARTINS, M. M.; FORATTINI, A. Inibidores da aromatase no tratamento de pacientes com câncer de mama = Aromatase inhibitors on the treatment of patients with breast cancer. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, São Paulo, v. 58, n. 2, p. 88-91, 2013.

MAGGIO, F. Ocular surface disease in dogs part 2: diagnosis and treatment. **Companion Animal**, London, v. 24, n. 6, p. 319-328, 2019. DOI: 10.12968/coan.2019.24.6.319.

MARTINEZ-DE-LA-CASA, J. M.; GARCIA-FEIJOO, J.; VICO, E.; FERNANDEZ-VIDAL, A.; BENITEZ DEL CASTILLO, J. M.; WASFI, M.; GARCIA-SANCHEZ, J. Effect of corneal thickness on dynamic contour, rebound and goldman tonometry. **Ophthalmology**, New York, v. 113, n. 12, p. 2156-2162, 2006. DOI: 10.1016/j.ophtha.2006.06.016.

MOORE, C. P. Diseases and surgery of the lacrimal secretory system. *In*: GELATT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott, 1999. Cap.16, p. 583-607.

OFRI, R.; LAMBROU, G. N.; ALLGOEWER, I.; GRAENITZ, U.; PENA, T. M.; SPIESS, B. M.; LATOUR, E. Clinical evaluation of pimecrolimus eye drops for treatment of canine keratoconjunctivitis sicca: a comparasion with cyclosporine A. **The Veterinary Journal**, London, v. 179, n. 1, p. 70-77, 2009. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.08.034.

OKKENS, A. C.; KOOISTRA, H. S. Anestrous in the dog: a fascinating story. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 41, n. 4, p. 291-296, 2006. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2006.00702.x.

PIGATTO, J. A. T; PEREIRA, F. Q; ALMEIDA, A. C. V. R.; REDAELLI, R; FAGANELLO, C. S; FRANZEN, A. A. Ceratoconjuntivite seca em cães e gatos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, p. s250-s251, 2007. Supl. 2.

RECKERS, F; KLOPFLEISCH, R; BELIK, V; ARLT, S. Canine vaginal cytology: a revised definition of exfoliated vaginal cells. **Frontiers in Veterinary Science**, Lausanne, v. 9, article 83403, p. 1-10, 2022. DOI: 10.3389/fvets.2022.834031.

RISCHMUELLER, M.; TIEU, J.; LESTER, S. Primary Sjögren's syndrome. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, Amsterdam, v. 30, n. 1, p. 189-220, 2016. DOI: 10.1016/j.berh.2016.04.003.

ROMAGNOLI, S. Top 5 reproduction concerns in dogs. **Clinician's Brief**, Tulsa, v. 15, p. 82-88, 2017.

SCHAUMBERG, D. A.; BURING, J. E.; SULLIVAN, D. A.; DANA, M. R. Hormone replacement therapy and dry eye syndrome. **Journal of the American Medical Association - JAMA**, Chicago, v. 286, n. 17, p. 2114-2119, 2001. DOI: 10.1001/jama.286.17.2114.

SENGER, P. L. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2. ed. rev. Pullman: Current Conceptions, 2005. 373 p.

SILVA, L. D. M.; LIMA, D. B. C. Aspectos da fisiologia reprodutiva da cadela. *In*: CONGRESSO NORTE E NORDESTE DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., 2018, Belém. **Anais [...]**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2018. p. 135-140.

SLATTER, D. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2005. p. 686-706.

SMITH, R. E. Tear film complex: pathogenesis and emerging therapies for dry eyes. **Cornea**, Hagerstown, v. 24, n. 1, p. 1-7, 2005. DOI: 10.1097/01.ico.0000141486.56931.9b.

STEAGALL, R. J.; YAMAGAMI, H.; WICKHAM, L. A.; SULLIVAN, D. A. Androgen control of gene expression in the rabbit meibomian gland. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 506, pt. A, p. 465-476, 2002. DOI: 10.1007/978-1-4615-0717-8_65.

SULLIVAN, D. A.; BÉLANGER, A.; CERMAK, J. M.; BÉRUBÉ, R.; PAPAS, A. S.; SULLIVAN, R. M.; YAMAGAMI, H.; DANA, M. R.; LABRIE, F. Are women with Sjögren's syndrome androgen-deficient? **The Journal of Rheumatology**, Toronto, v. 30, n. 11, p. 2413-2419, 2003.

SULLIVAN, D. A. Tearful relationships? Sex, hormones and aqueous-deficient dry eye. **Ocular Surface**, Philadelphia, v. 2, n. 2, p. 92-123, 2004. DOI: 10.1016/s1542-0124(12)70147-7.

SUZUKI, T.; SULLIVAN, D. A. Estrogen stimulation of proinflammatory cytokine and matrix metalloproteinase gene expression in human corneal epithelial cells. **Cornea**, Hagerstown, v. 24, n. 8, p. 1004-1009, 2005. DOI: 10.1097/01.ico.0000160973.04072.a5.

TOLUNAY, H. E.; ÖZCAN, S. C.; ŞÜKÜR, Y. E.; ÖZCAN, D. Ö.; ADIBELLI, F. M.; HILALI, N. G. Changes of intraocular pressure in different trimesters of pregnancy among Syrian refugees in Turkey: a cross-sectional study. **Turkish Journal of Obstetrics and Gynecology**, Istanbul, v. 13, n. 2, p. 67-70, 2016. DOI: 10.4274/tjod.40221.

VANNUCCHI, C. I.; SATZINGER, S.; SANTOS, S. E. C. Técnica de citologia vaginal como método diagnostico da fase do ciclo estral em cadelas. **Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 2, n. 9, p. 14-19, 1997.

WEINREB, R. N.; AUNG, T.; MEDEIROS, F. A. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. **Journal of the American Medical Association - JAMA**, Chicago, v. 311, n. 18, p. 1901-1911, 2014. DOI: 10.1001/jama.2014.3192.

WILLSON, C. J.; CHANDRA, S. A.; KIMBROUGH, C. L.; JORDAN, H. L. Effect of estrous cycle phase on clinical pathology values in beagle dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, Baton Rouge, v. 41, n. 1, p. 71-76, 2012. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2011.00392.x.

WOODHAM-DAVIES, S. Keratoconjunctivitis sicca in dogs. **The Veterinary Nurse**, London, v. 11, n. 1, p. 19-23, 2020. DOI: 10.12968/vetn.2020.11.1.19.

YAMAGAMI, H.; SCHIRRA, F.; LIU, M.; RICHARDS, S. M.; SULLIVAN, B. D.; SULLIVAN, D. A. Androgen influence on gene expression in the meibomian gland. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 506, pt. A, p. 477-481, 2002. DOI: 10.1007/978-1-4615-0717-8_66.

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA VETERINARY OPHTHALMOLOGY

23/10/2023, 15:33

Veterinary Ophthalmology Author Guidelines

Advertisement




AUTHOR GUIDELINES

Sections

1. [Submission and Peer Review Process](#)
2. [Article Types](#)
3. [After Acceptance](#)

Veterinary Ophthalmology is a peer-reviewed, online, international journal that welcomes submission of manuscripts whose target audience includes Diplomates of the American College of Veterinary Ophthalmologists (ACVO) and the European College of Veterinary Ophthalmologists (ECVO), members of international ophthalmic societies and associations, academic researchers with interests in veterinary or comparative ophthalmology, specialists and general practitioners with an ophthalmology interest.

Veterinary Ophthalmology strives to serve as the primary journal for all articles pertaining to veterinary and comparative ophthalmology published worldwide. *Veterinary Ophthalmology* publishes original material relating to all aspects of clinical and investigational veterinary and comparative ophthalmology.

1. Submission and Peer Review Process

Once the submission materials have been prepared in accordance with the Author Guidelines, manuscripts should be submitted online at <https://mc.manuscriptcentral.com/vop>

For help with submissions, please contact the Journal's Editorial Office at VOP.office@wiley.com

This journal does not charge submission fees.

Article Preparation Support

Wiley Editing Services offers expert help with English Language Editing, as well as translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design – so you can submit your manuscript with confidence.

Also, check out our resources for [Preparing Your Article](#) for general guidance about writing and preparing your manuscript.

Free Format submission

Veterinary Ophthalmology offers Free Format submission for a simplified and streamlined submission process. Before you submit, you will need:

- Your manuscript: this should be an editable file including text, figures, and tables, or separate files—whichever you prefer. All required sections should be contained in your manuscript, including abstract, introduction, methods, results, and conclusions. Figures and tables should have legends. Figures should be uploaded in the highest resolution possible. If the figures are not of sufficiently high quality, your manuscript may be delayed. References may be submitted in any style or format, as long as it is consistent throughout the manuscript. Supporting information should be submitted in separate files. If the manuscript, figures or tables are difficult for you to read, they will also be difficult for the editors and reviewers, and the editorial office will send it back to you for revision. Your manuscript will be sent back to you for revision if the quality of English language is poor.
- An ORCID ID, freely available at <https://orcid.org>. *(Why is this important? Your article, if accepted and published, will be attached to your ORCID profile. Institutions and funders are increasingly requiring authors to have ORCID IDs.)*
- The title page of the manuscript, including:
 - Your co-author details, including affiliation and email address. *(Why is this important? We need to keep all co-authors informed of the outcome of the peer review process.)*
 - Statements relating to our ethics and integrity policies, which may include any of the following *(Why are these important? We need to uphold rigorous ethical standards for the research we consider for publication):*
 - Data availability statement
 - Funding statement
 - Conflict of interest disclosure
 - Ethical approval statement

Important: Veterinary Ophthalmology operates a double-anonymized peer review policy. Please anonymize your manuscript and supply a separate title page file.

Open Access

Veterinary Ophthalmology is a subscription journal that offers an Open Access option. You'll have the option to make your article open access after acceptance, which will be subject to an APC unless a waiver applies. Read more about APCs [here](#).

Preprint Policy

Please find the Wiley preprint policy [here](#).

Veterinary Ophthalmology will consider for review articles previously available as preprints. You may also post the submitted version of a manuscript to a preprint server at any time. You are requested to update any pre-publication versions with a link to the final published article.

This journal operates a double-anonymized peer review process. Authors are responsible for anonymizing their manuscript in order to remain anonymous to the reviewers throughout the peer review process (see "Main Text File" below for more details). Since the journal also encourages posting of preprints, however, please note that if authors share their manuscript in preprint form this may compromise their anonymity during peer review.

Data Sharing and Data Availability

Veterinary Ophthalmology expects data sharing. Review Wiley's Data Sharing policy where you will be able to see and select the data availability statement that is right for your submission.

Data Citation

Please review Wiley's Data Citation policy.

Data Protection

By submitting a manuscript to or reviewing for *Veterinary Ophthalmology*, your name, email address, and affiliation, and other contact details the publication might require, will be used for the regular operations of the publication. Please review Wiley's [Data Protection Policy](#) to learn more.

Funding

You should list all funding sources in the Acknowledgments section. You are responsible for the accuracy of their funder designation. If in doubt, please check the [Open Funder Registry](#) for the correct nomenclature.

Authorship

All listed authors should have contributed to the manuscript substantially and have agreed to the final submitted version. Review editorial standards and scroll down for a description of authorship criteria.

Author Pronouns

Authors may now include their personal pronouns in the author bylines of their published articles and on Wiley Online Library. Authors will never be required to include their pronouns; it will always be optional for the author. Authors can include their pronouns in their manuscript upon submission and can add, edit, or remove their pronouns at any stage upon request. Submitting/corresponding authors should never add, edit, or remove a coauthor's pronouns without that coauthor's consent. Where post-publication changes to pronouns are required, these can be made without a correction notice to the paper, following Wiley's Name Change Policy to protect the author's privacy. Terms which fall outside of the scope of personal pronouns (e.g. proper or improper nouns), are currently not supported.

ORCID

This journal requires ORCID. Please refer to [Wiley's resources on ORCID](#).

Reproduction of Copyright Material

If excerpts from copyrighted works owned by third parties are included, credit must be shown in the contribution. It is your responsibility to also obtain written permission for reproduction from the copyright owners. For more information visit [Wiley's Copyright Terms & Conditions FAQ](#).

The corresponding author is responsible for obtaining written permission to reproduce the material "in print and other media" from the publisher of the original source, and for supplying Wiley with that permission upon submission.

Title Page

The title page should contain:

- i. A brief informative title containing the major key words. The title should not contain abbreviations (see Wiley's best practice SEO tips);
- ii. A short running title of less than 50 characters;
- iii. The full names of the authors;
- iv. The author's institutional affiliations where the work was conducted, with a footnote for the author's present address if different from where the work was conducted;
- v. Acknowledgments;
- vi. Conflicts of interest (if declared);
- vii. Ethical approval statement.

Important: *Veterinary Ophthalmology* operates a double-anonymized peer review policy. Please anonymize your manuscript and prepare a separate title page containing author details.

Main Text File

The main text file should be in Word or PDF format. As *Veterinary Ophthalmology* operates a double-anonymized peer review process, authors are required to provide an anonymized main text file upon initial submission. The anonymized version should have no obvious references or hints as to the authors' country or region. The laboratory/ institution/practice information should be removed from the anonymized version and written as "XXXX-anonymized for review". Authors of manuscripts which proceed to revision stage will be asked to provide a de-anonymized version, in addition to their anonymized version, upon submission of their revision.

Please note: It is no longer required to include the location of the manufacturer when providing manufacturer information (equipment, devices, and reagents).

Your main document file should include:

- A short informative title containing the major key words. The title should not contain abbreviations;
- Abstract structured (Objective; Animal Studied; Procedure(s); Results; and Conclusions);
- Six keywords (please ensure these are not already included within your title guidance on keywords creation is available on Wiley Author Services);
- Main body: formatted as introduction, materials & methods, results, discussion and/or conclusion;
- References;
- Tables (each table complete with title and footnotes);
- Figure legends: Legends should be supplied as a complete list in the text. Figures should be uploaded as separate files (see below).

Reference Style

This journal uses AMA reference style. Review your reference style guidelines prior to submission. As *Veterinary Ophthalmology* offers Free Format submission, however, this is for information only and you do not need to format the references in your article. This will instead be taken care of by the typesetter.

Figures and Supporting Information

Figures, supporting information, and appendices should be supplied as separate files. You should review the basic figure requirements for manuscripts for peer review, as well as the more detailed post-acceptance figure requirements. View Wiley's FAQs on supporting information.

Embedded Rich Media

Veterinary Ophthalmology has the option for authors to embed rich media (i.e. video and audio) within their final article. These files should be submitted with the manuscript files online, using either the "Embedded Video" or "Embedded Audio" file designation. If the video/audio includes dialogue, a transcript should be included as a separate file. Maximum file size is 300 MB, and **the combined manuscript files, including video, audio, tables, figures, and text must not exceed 350 MB**. For full guidance on accepted file types and resolution please see [here](#).

Ensure each file is numbered (e.g. Video 1, Video 2, etc.). Legends for the rich media files should be placed at the end of the article.

The content of the video should not display overt product advertising. Educational presentations are encouraged.

Any narration should be in English, if possible. A typed transcript of any speech within the video/audio should be provided. An English translation of any non-English speech should be provided in the transcript.

All embedded rich media will be subject to peer review. Editors reserve the right to request edits to rich media files as a condition of acceptance. Contributors are asked to be succinct, and the Editors reserve the right to require shorter video/audio duration. The video/audio should be high quality (both in content and visibility/audibility). The video/audio should make a specific point; particularly, it should demonstrate the features described in the text of the manuscript.

Participant Consent: It is the responsibility of the corresponding author to seek informed consent from any identifiable participant in the rich media files. Masking a participant's eyes, or excluded head and shoulders is not sufficient. Please ensure that a consent form (<https://authorservices.wiley.com/author-resources/journal-authors/licensing/licensing-info-faqs.html>) is provided for each participant.

Peer Review

This journal operates under a double-anonymized peer review model. Except where otherwise stated, manuscripts are peer reviewed by at least two anonymous reviewers and an Editorial Board Member. Papers will only be sent to review if the Editor-in-Chief determines that the paper meets the appropriate quality and relevance requirements.

Authors may suggest potential reviewers that have expertise in the field and can provide an unbiased evaluation. Previous or current mentors, mentees, collaborators, colleagues, or personal relations are not suitable recommendations. Authors can also oppose reviewers who would have a conflict of interest in reviewing their manuscripts.

The reviewers' comments are reviewed by an Editorial Board Member who makes a recommendation on the suitability of the report for publication to the Editor-in-Chief, who makes the final decision. The editors reserve the right to seek consultation on appropriateness of study design, survey instruments, and methods used for statistical analysis of data.

Manuscripts that report studies that are otherwise scientifically sound may be rejected before or after peer review because they lack breadth of appeal, impact, or are outside the interest area of the journal. Likewise, studies that are simply additive to the literature and do not provide substantial discovery, mechanistic insight, challenge dogma, or highlight novel understanding are not likely to be considered suitable for publication.

Manuscripts that are poorly prepared or written or do not follow ethical guidelines will be returned without peer review. It is the authors' responsibility to submit manuscripts that are written in a style that enhances readability (clear, direct, concise, with appropriate grammar and spelling). Authors with limited experience in scientific writing in English are encouraged to seek assistance from professional editing services.

In-house submissions, i.e. papers authored by Editors or Editorial Board members of the title, will be sent to Editors unaffiliated with the author or institution and monitored carefully to ensure there is no peer review bias.

Wiley's policy on the confidentiality of the review process is available [here](#).

Appeals and Complaints

Authors may appeal an editorial decision if they feel that the decision to reject was based on either a significant misunderstanding of a core aspect of the manuscript, a failure to understand how the manuscript advances the literature or concerns regarding the manuscript-handling process. Differences in opinion regarding the novelty or significance of the reported findings are not considered as grounds for appeal. To

raise an appeal, please contact the journal by email, quoting your manuscript ID number and explaining your rationale for the appeal. The editor's decision following an appeal consideration is final.

To raise a complaint regarding editorial staff, policy or process please contact the journal in the first instance. If you believe further support outside the journal's management is necessary, please refer to Wiley's Best Practice Guidelines on Research Integrity and Publishing Ethics.

Refer and Transfer Program

Wiley believes that no valuable research should go unshared. *Veterinary Ophthalmology* participates in Wiley's Refer & Transfer program. If your manuscript is not accepted, you may receive a recommendation to transfer your manuscript to another suitable Wiley journal, either through a referral from the journal's editor or through our Transfer Desk Assistant.

Guidelines on Publishing and Research Ethics in Journal Articles

Veterinary Ophthalmology requires that you include in the manuscript details of ethical review board approvals, ethical treatment of human and animal research participants, and gathering of informed consent, as appropriate. You will be expected to declare all conflicts of interest, or none, on submission. Please review Wiley's policies surrounding human studies, animal studies, clinical trial registration, biosecurity, and research reporting guidelines.

This journal follows the core practices of the Committee on Publication Ethics (COPE) and handles cases of research and publication misconduct accordingly (<https://publicationethics.org/core-practices>).

This journal uses iThenticate's CrossCheck software to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. Read Wiley's [Top 10 Publishing Ethics Tips for Authors](#) and Wiley's [Publication Ethics Guidelines](#).

Guidelines for Ethical Research in Veterinary Ophthalmology (GERVO)

The journal reserves the right to decline to publish manuscripts that do not comply with the [Guidelines for Ethical Research in Veterinary Ophthalmology \(GERVO\)](#), such as the appropriate regulatory approval is not reported, the journal has concerns about the welfare or treatment of animals used in the study, there is reason to believe that animals have been subjected to unnecessary or avoidable pain or distress or the journal has concerns about involvement of people in the study.

The journal is not obliged to reveal the basis for such a decision.

The journal may request further information about care and use of animals, or involvement of people, including evidence of regulatory approval or compliance with local regulations.

Ethical Approval Statement

We require that authors indicate during submission of their manuscript if the study required institutional or governmental approval in the jurisdiction in which it was conducted, and whether such approval was granted.

To confirm adherence to the journal's ethical policies, including compliance with the [Guidelines for Ethical Research in Veterinary Ophthalmology \(GERVO\)](#), authors must provide an Ethical Approval Statement. Please select (and edit accordingly) the most suitable Ethical Approval Statement from our templated statements available here: [Templates for Ethical Approval Statements](#). The finalized statement should be included in the Title Page.

Conflict of Interest

Veterinary Ophthalmology requires that all authors include a conflict of interest statement (this should be included in the Title Page). Any interest or relationship, financial or otherwise, that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when directly relevant or indirectly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include but are not limited to patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company.

If authors are unsure whether a past or present affiliation or relationship should be disclosed in the manuscript, they can query the editorial office at vop.office@wiley.com. The existence of a conflict of interest does not preclude publication in this journal. **If the authors have no conflict of interest to declare, they must also state this in the manuscript and at submission.** It is the responsibility of the corresponding author to review this policy with all authors and collectively to list in the manuscript, and in the online submission system ALL pertinent commercial and other relationships.

2. Article Types

Article Type	Description	Word Guide (this is a suggested range and not prescriptive)	Abstract / Structure	Other Requirements
Original Articles	Including clinical studies (prospective and retrospective)	4,000 - 5,000	Yes, structured	Ethical Approval Conflict of Interest Statement
Review Articles	Papers which clarify, summarize and critically evaluate the current literature	4,000 - 5,000	Yes, unstructured	Conflict of Interest Statement
Case Reports	Case reports making a substantial contribution to ophthalmic knowledge	2,000 – 2,500 (with a recommendation of around 4 figures and between 18-20 references)	Yes, structured	Ethical Approval Conflict of Interest Statement
Viewpoint	Papers which challenge existing concepts or	2,000 – 2,500	Yes, unstructured	Conflict of Interest Statement

	present an alternative interpretation of available information			
Brief Communications	Brief communications are used when the extent of the investigation or the findings do not warrant a full paper, but are still considered of value to the ophthalmic community	1,500 – 2,000 (with a recommendation of around 2 figures and between 10 - 12 references)	Yes, structured	Ethical Approval Conflict of Interest Statement
Letter to the Editor	Letters may cover a variety of topics	750 – 1,000 (including references and a recommendation of around 1-2 figures/tables)	No	Conflict of Interest Statement

3. After Acceptance

Wiley Author Services

When an accepted article is received by Wiley's production team, the corresponding author will receive an email asking them to login or register with Wiley Author Services. You will be asked to sign a publication license at this point as well as pay for any applicable APCs.

Copyright & Licensing

You may choose to publish under the terms of the journal's standard copyright agreement, or Open Access under the terms of a Creative Commons License.

Standard re-use and licensing rights vary by journal. Note that certain funders mandate a particular type of CC license be used. This journal uses the CC-BY/CC-BY-NC/CC-BY-NC-ND Creative Commons License.

Self-Archiving Definitions and Policies: Note that the journal's standard copyright agreement allows for self-archiving of different versions of the article under specific conditions.

Early View

Upon publication, articles are available as full text HTML or PDF in Early View prior to inclusion in an issue and can be cited as references using their Digital Object Identifier (DOI) number.

Proofs

Authors will receive an e-mail notification with a link and instructions for accessing HTML page proofs online. Authors should also make sure that any renumbered tables, figures, or references match text citations and that figure legends correspond with text citations and actual figures. Proofs must be returned within 48 hours of receipt of the email.

Article Promotion Support

Wiley Editing Services offers professional video, design, and writing services to create shareable video abstracts, infographics, conference posters, lay summaries, and research news stories for your research – so you can help your research get the attention it deserves.

Author Name Change Policy

In cases where authors wish to change their name following publication, Wiley will update and republish the paper and redeliver the updated metadata to indexing services. Our editorial and production teams will use discretion in recognizing that name changes may be of a sensitive and private nature for various reasons including (but not limited to) alignment with gender identity, or as a result of marriage, divorce, or religious conversion. Accordingly, to protect the author's privacy, we will not publish a correction notice to the paper, and we will not notify co-authors of the change. Authors should contact the journal's Editorial Office with their name change request.

Correction to Authorship

In accordance with Wiley's Best Practice Guidelines on Research Integrity and Publishing Ethics and the Committee on Publication Ethics' guidance, *Veterinary Ophthalmology* will allow authors to correct authorship on a submitted, accepted, or published article if a valid reason exists to do so. All authors – including those to be added or removed – must agree to any proposed change. To request a change to the author list, please complete the Request for Changes to a Journal Article Author List Form and contact either the journal's editorial or production office, depending on the status of the article. Authorship changes will not be considered without a fully completed Author Change form. [Correcting the authorship is different from changing an author's name; the relevant policy for that can be found in Wiley's Best Practice Guidelines under "Author name changes after publication."]

Sign up for email alerts

Enter your email to receive alerts when new articles and issues are published.

Email address*

[Continue](#)

 [Submit an article](#)

 [Browse free sample issue](#)

 [Subscribe to this journal](#)