

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO
DE *Ottonia martiana* Miq. (PIPERACEAE), COMO
ANESTÉSICO LOCAL, PARA O EXAME OFTÁLMICO EM
CÃES**

Carolina Bonduki Salles Lisbão
Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE *Ottonia martiana*
Miq. (PIPERACEAE), COMO ANESTÉSICO LOCAL, PARA
O EXAME OFTÁLMICO, EM CÃES**

Carolina Bonduki Salles Lisbão

**Orientador: Prof. Dr. José Luiz Laus
Co-orientador: Prof. Dr. Newton Nunes
Co-orientadora: Prof^a. Maria Alice Corrêa**

Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2010**

Lisbão, Carolina Bonduki Salles
L769e Efeitos do extrato aquoso de *Ottonia martiana* Miq. (Piperaceae),
como anestésico local, para o exame oftálmico, em cães / Carolina
Bonduki Salles Lisbão. – – Jaboticabal, 2010
xvi, 46 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010
Orientador: José Luiz Laus
Banca examinadora: Alexandre Lima de Andrade, Aline Adriana
Bolzan
Bibliografia

1. cão. 2. córnea. 3. *Ottonia martiana*. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:617.7:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CAROLINA BONDUKI SALLES LISBÃO - nascida em Sacramento no estado da Califórnia (EUA), no dia 01 de junho de 1979. Graduiu-se em Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, em dezembro de 2003. Bolsista do programa de Iniciação Científica do CNPQ, durante o ano de 2002. Residente da área de Anestesiologia de Pequenos Animais da mesma faculdade, de fevereiro de 2006 a fevereiro de 2008.

“A única doença do espírito é a falta de conhecimento”.

(José Gabriel da Costa)



Dedico este trabalho,

*Ao meu filho Estevan e ao meu
companheiro Juan Pablo, luzes da
minha vida!*

Meus agradecimentos a

Deus, por estar presente em minha vida, por me dar saúde e condições de lutar, por me dar uma família maravilhosa e pela oportunidade de conhecer a União do Vegetal.

Meu filho Estevan, que pelo seu amor e alegria de viver tem me ensinado a ser uma pessoa cada dia melhor.

Meu amor e companheiro Juan Pablo, pelo seu imenso amor pela vida, por estar sempre presente ao meu lado e pela ajuda neste estudo.

Minha mãe amada Rachel, pelo seu amor incondicional e por me apoiar sempre.

Meu querido pai Rogério, que apesar de não estar mais entre nós, está presente na minha memória e no meu coração. Só tenho boas lembranças.

Meus irmãos queridos Luciana e Daniel, pelo companheirismo e amizade.

Avós queridas, Isabel e Maria Emília, por seu amor de vó, que não tem igual.

Minha querida tia Alice, pelo apoio, pela paciência em me ensinar assuntos de botânica e pela disposição em participar deste trabalho.

Meu primo-irmão Klaus, que acendeu em mim a vontade de levar este trabalho para frente com as seguintes palavras: “Aí meu, você poderia

estudar o porquê do João brandinho ser anestésico, você que mexe com anestesia, daria um trabalho legal”. E deu mesmo!

Laura, companheira e amiga, pelo seu exemplo de força e felicidade constante.

Minha querida família internacional, Yeya, Yeyo, Geca, Cucha, Catay, Mari Cami, Lucy, Rafa, Kiko, Nico, Ramón, Estela, Pureza, Niña, Ñata, Ofélia, Jorge e Chachi, por todo o amor e carinho ao me receber como parte da família.

Meu grande amigo Mestre Gabriel, pelo exemplo de vida, pela amizade e orientação.

União do Vegetal, por trabalhar a favor do bem da humanidade e por fornecer o material vegetal para este estudo.

Todos os amigos do núcleo Alto das Cordilheiras, pela convivência e pelo aprendizado.

Meu orientador e amigo José Luiz Laus, por me compreender nos momentos em que precisei, pelo apoio e pela amizade.

Meu co-orientador Newton Nunes, por apoiar este projeto.

Meus amigos do Hospital Veterinário, em especial Danielle, companheira de todos os momentos.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa concedida, que permitiu a execução deste trabalho.

Prof. Aulus e toda equipe da Nutrição, pelo apoio na autorização da utilização dos animais do Laboratório de Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”, na FCAV – UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

GUABI, empresa parceira do “Laboratório de Nutrição Prof. Dr. Flávio Prada”, na UNESP de Jaboticabal.

Equipe do laboratório de Patologia Clínica do “Hospital Veterinário Governador Laudo Natel”, em especial o Prof. Áureo, o Eugênio e o Matheus, pela ajuda no experimento.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMO.....	xv
SUMMARY.....	xvi
1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....	17
1.1 <i>Ottonia martiana</i>	20
1.2 Inervação corneal.....	23
1.3 Estesiometria corneal.....	25
1.4 Anestesia local em oftalmologia.....	26
2 OBJETIVOS.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Aspectos éticos.....	29
3.2 Animais.....	29
3.3 Grupos de experimentação.....	30
3.4 Preparo do extrato aquoso de <i>Ottonia martiana</i>	30
3.5 Protocolos de tratamento.....	30
3.6 Protocolos de avaliação.....	31
3.6.1 Teste lacrimal de Schirmer.....	31
3.6.2 Estesiometria corneal.....	32
3.6.3 Pressão ocular.....	34
3.6.4 Biomicroscopia e teste do tingimento pela fluoresceína.....	34
3.6.5 Análise estatística.....	34
4 RESULTADOS.....	35
4.1 Estesiometria corneal.....	35
4.2 Teste lacrimal de Schirmer.....	41
4.3 Pressão ocular.....	45

4.4 Biomicroscopia e tingimento pela fluoresceína.....	47
5 DISCUSSÃO.....	48
6 CONCLUSÕES.....	54
7 REFERÊNCIAS.....	54

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1	Tabela de conversão dos valores do comprimento do filamento de náilon do estesiômetro de Cochet-Bonnet para seus respectivos valores de pressão aplicados à superfície corneal (COCHET & BONNET, 1960 apud LUCCI et al., 2004).....
	33
Tabela 2	Valores basais médios e desvios-padrão da estesiometria corneal, com estesiômetro de Cochet-Bonnet (Ea) em olho esquerdo de 45 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, imediatamente antes dos tratamentos com solução fisiológica, com cloridrato de proximetacaína a 0,5% ou com extrato aquoso de <i>Ottonia martiana</i> . Jaboticabal- SP, 2010.....
	36
Tabela 3	Valores médios e desvios-padrão da estesiometria corneal, com estesiômetro de Cochet-Bonnet, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo controle (GC), antes do tratamento (Ea), decorridos 5 minutos (Eb) e decorridos 10 minutos (Ec). Jaboticabal-SP, 2010.....
	37
Tabela 4	Valores médios e desvios-padrão da estesiometria corneal, com estesiômetro de Cochet-Bonnet, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo proximetacaína (GP), antes do tratamento (Ea), decorridos 5 minutos (Eb) e 10 minutos (Ec). Jaboticabal-SP, 2010.....
	38
Tabela 5	Valores médios e desvios-padrão da estesiometria corneal, com estesiômetro de Cochet-Bonnet, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo ottonia (GO), antes do tratamento (Ea), decorridos 5 minutos (Eb) e decorridos 10 minutos (Ec). Jaboticabal-SP, 2010.....
	39
Tabela 6	Valores médios e desvios-padrão do teste lacrimal de Schirmer, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo controle (GC), antes do tratamento (TLSa) e decorridos 10 minutos (TLSb). Jaboticabal.....
	42
Tabela 7	Valores médios e desvios-padrão do teste lacrimal de Schirmer, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo proximetacaína (GP), antes do tratamento (TLSa) e decorridos 10 minutos (TLSb). Jaboticabal-SP, 2010.....
	42

Tabela 8	Valores médios e desvios-padrão do teste lacrimal de Schirmer, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo <i>Ottonia</i> (GO), antes do tratamento (TLSa) e decorridos 10 minutos (TLSb). Jaboticabal-SP, 2010.....	43
Tabela 9	Valores médios e desvios-padrão relativos à PO, dados em mmHg, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo controle (GC), antes do tratamento (POa) e decorridos 10 minutos (POb). Jaboticabal, 2010.....	45
Tabela 10	Valores médios e desvios-padrão relativos à PO, dados em mm/Hg, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo proximetacaína (GP), antes do tratamento (POa) e decorridos 10 minutos (POb). Jaboticabal, 2010.....	46
Tabela 11	Valores médios e desvios-padrão relativos à PO, dados em mm/Hg, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle do grupo ottonia (GO), antes do tratamento (POa) e decorridos 10 minutos (POb). Jaboticabal-SP, 2010.....	46

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1	Imagem fotográfica de folhas e inflorescências de <i>Ottonia martiana</i> . Foto: Maria Alice Corrêa. São Paulo–SP, 2008..... 21
Figura 2	Estesiômetro de Cochet-Bonnet. Foto: KLAUMANN. Curitiba-PR, 2007..... 32
Figura 3	Imagem fotográfica de estesiometria corneal em cão adulto, macho, da raça Beagle. Notar o contato do monofilamento de náilon com a região axial da córnea. Jaboticabal-SP, 2010..... 33
Figura 4	Representação gráfica, quanto à estesiometria corneal, Ea, em cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle. Jaboticabal-SP, 2010..... 40
Figura 5	Representação gráfica, quanto aos valores de estesiometria corneal, Ea, Eb e Ec, em cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo GP. Jaboticabal-SP, 2010..... 40
Figura 6	Representação gráfica, quanto aos valores de estesiometria corneal, Ea, Eb e Ec, em cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo GO. Jaboticabal-SP, 2010..... 41
Figura 7	Representação gráfica, quanto aos valores do teste lacrimal de Schirmer, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo proximetaína (GP), antes do tratamento (TLSa) e decorridos 10 minutos (TLSb). Jaboticabal-SP, 2010..... 44
Figura 8	Representação gráfica, quanto aos valores do teste lacrimal de Schirmer, em olho esquerdo de 45 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, dos grupos controle (GC), proximetaína (GP) e ottonia (GO), decorridos 10 minutos do tratamento (TLSb). Jaboticabal-SP, 2010..... 44
Figura 9	Representação gráfica, quanto aos valores da tonometria em olho esquerdo de 45 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, dos grupos controle (GC), proximetaína (GP) e ottonia (GO), decorridos 10 minutos do tratamento (POb). Jaboticabal-SP, 2010..... 47

LISTA DE ABREVIATURAS

®	Símbolo indicativo de marca registrada
cm	Centímetros
g	Gramas
mg	Miligramas
mL	Mililitros
mm	Milímetro
mm²	Milímetros quadrados
ARVO	<i>Association for Research in Vision and Ophthalmology</i>
CEBEA	Comissão de Ética e Bem-Estar Animal
CEBUDV	Centro Espírita Beneficente União do Vegetal
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
Ea	Estesiometria a
Eb	Estesiometria b
Ec	Estesiometria c
EtOH	Álcool etílico hidratado de cereais
GC	Grupo controle
GO	Grupo <i>Ottonia</i>
GP	Grupo proximetaína
OMS	Organização Mundial da Saúde
PO	Pressão ocular
POa	Pressão ocular a

POb	Pressão ocular b
S	Desvio padrão
SP	Substância P
T₀	Tempo 0
T₃	Tempo decorridos 3 minutos
TLSa	Teste lacrimal de Schirmer a
TLSb	Teste lacrimal de Schirmer b

EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE *Ottonia martiana* Miq. (PIPERACEAE), COMO ANESTÉSICO LOCAL, PARA O EXAME OFTÁLMICO EM CÃES

RESUMO - Estudaram-se os efeitos anestésicos do extrato aquoso das folhas da *Ottonia martiana*, sobre a superfície ocular de cães hígidios, adultos, oftalmologicamente sadios, da raça Beagle. Compuseram-se três grupos de tratamento (n=15): grupo controle (GC), grupo proximetacaína (GP) e grupo *Ottonia* (GO), tratados respectivamente com solução fisiológica, colírio de cloridrato de proximetacaína a 0,5% e extrato aquoso de *O. martiana* na concentração de 18 mg/mL. Antes dos tratamentos, foram realizados o teste lacrimal de Schirmer a, a pressão ocular (POa) e a estesiometria corneal (Ea). Os tratamentos foram realizados no tempo 0 (T₀) e decorridos 3 minutos (T₃). Avaliaram-se a sensibilidade axial da córnea por estesiometria, após 5 e 10 minutos de T₀, e a produção lacrimal e a pressão ocular, decorridos 10 minutos de T₀. Realizaram-se a biomicroscopia com lâmpada em fenda, aos 10 e 20 minutos de T₀, e o teste do tingimento pela fluoresceína, aos 20 minutos de T₀. Os resultados foram comparados empregando-se o teste *t* de Student e de análise de variância Kruskal-Wallis, com nível de significância $P \leq 0,05$. Relativamente à estesiometria, houve diminuição da sensibilidade corneal nos grupos GP e GO. Relativamente ao teste de Schirmer, observou-se diminuição no GP. Observou-se alteração clínica somente no GP, onde 13 animais apresentaram hiperemia conjuntival. Concluiu-se que a utilização do extrato aquoso de *O. martiana* como anestésico local no exame oftálmico em cães é factível e que a sua utilização não diminui a produção lacrimal nem causa alterações clínicas na superfície ocular de cães.

Palavras-Chave: cão, córnea, anestesia, *Ottonia martiana*, Piperaceae.

EFFECTS OF AQUEOUS EXTRACT OF *Ottonia martiana* Miq. (PIPERACEAE) AS A LOCAL OCULAR ANESTHETICS FOR OPHTHALMIC EXAMINATION IN DOGS

SUMMARY - The anesthetics effects of aqueous extract of *Ottonia martiana* leaves on dog's ocular surface were studied. Forty five healthy, adult, ophthalmologically healthy Beagles were used and divided into three groups (n=15): control group (CG), proxymetacaine group (PG), and *Ottonia* group (OG). They were treated with 0,9% sodium chloride solution, 0,5% proxymetacaine hydrochloride and aqueous extract of *O. martiana* (18 mg/mL), respectively. The Schirmer tear test 1 (Schirmer 1), intraocular pressure (PO-1), and corneal esthesiometry (E_0) was performed before the treatments. The animals received 1 drop of the respective treatment at time 0 (T_0) and 3 minutes later (T_3). Corneal sensibility was evaluated by esthesiometry, 5 and 10 minutes after T_0 . Lacrimal production and intraocular pressure were measured 10 minutes after T_0 . Slit lamp microscopy was performed 10 and 20 minutes after T_0 . Fluorescein staining was performed 20 minutes after T_0 . Student t-test and Kruskal-Wallis analysis of variance were used to compare the results. A P value of 0.05 or less was considered statistically significant. Esthesiometry revealed decrease in cornea sensibility on PG and OG groups. An significant decrease of lacrimal production was observed for PG. No significant clinical alteration was observed in OG. Mild conjunctival hyperemia was noticed in 13 animals of PG. It was concluded that the use of aqueous extract of *O. martiana* as a local anesthetic for ophthalmic examination in dogs is viable and that its use neither reduces the tear production nor causes clinical alterations on ocular surface of dogs.

Keywords: dog, cornea, anesthesia, *Ottonia martiana*, Piperaceae.

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

A utilização de plantas ou de seus extratos como alimento, cosmético ou para a cura de enfermidades é tão antiga quanto a existência do ser humano. Ela teve início a partir da observação do comportamento dos animais e, também, ao acaso (CAMPELO, 2006; FERRO, 2006).

De consoante com a Organização Mundial da Saúde (OMS), plantas medicinais são vegetais silvestres ou cultivados, utilizados para prevenir, aliviar, curar ou modificar condições fisiológicas ou patológicas. Adjunto, usados como substrato para a produção de fármacos ou de seus precursores. Elas são tradicionalmente utilizadas por certas populações ou comunidades como medicamento (VEIGA Jr. et al., 2005). Fitoterápicos, por sua vez, são produtos medicinais industrializados, cujos componentes ativos são constituídos por segmentos aéreos ou subterrâneos de vegetais, em estado bruto ou em preparações (RATES, 2001).

A fitoterapia foi a principal forma de tratamento de enfermidades, até meados do século XIX (ALMEIDA et al., 2006). Com o tempo, pela maior facilidade de obtenção de compostos puros e pela crescente industrialização farmacêutica, produtos sintéticos passaram a ganhar maior popularidade. Produtos naturais, todavia, não perderam o seu lugar na terapêutica, já que são mais baratos e considerados seguros pela população (CORDEIRO et al., 2005).

Como o mercado de fitoterápicos implementa-se a cada ano (CORDEIRO et al., 2005), renovam-se os interesses pela descoberta de novas técnicas de extração e produção de extratos vegetais (CUNICO et al., 2003a).

O uso seguro e correto de vegetais para fins terapêuticos, requer que sejam selecionadas plantas medicinais, reconhecidas por sua eficácia e segurança, validadas cientificamente (LORENZI & MATOS, 2002).

As plantas são importante fonte geradora de produtos naturais biologicamente ativos. Ao se considerar a perspectiva de obtenção de novos fármacos, dois aspectos distinguem os produtos de origem natural dos sintéticos: a diversidade molecular e a função biológica. A diversidade molecular dos produtos naturais é superior à gerada a

partir do processo de síntese em laboratório, que apesar dos avanços consideráveis, ainda é limitada (GUERRA & NODARI, 2004).

O Brasil abriga 55 mil espécies de plantas, o que representa, aproximadamente, um quarto de todas as espécies conhecidas, das quais 10 mil são supostamente medicinais, aromáticas ou úteis para outros fins. No país, a utilização de plantas como medicamentos é influenciada pelas culturas indígena, africana e européia, que constituem a base da medicina popular, atualmente retomada pela medicina natural, em caráter científico (MARINHO et al., 2007).

A família Piperaceae ocorre de Norte a Sul do Brasil e suas espécies são utilizadas para fins medicinais desde tempos antigos, sendo, por isso, uma fonte estimulante para a pesquisa em fitoquímica e à luz da farmacologia (MARQUES et al., 2008). Ela contempla cerca de 1400 espécies distribuídas em todas as regiões tropicais do planeta. No Brasil, encontra-se representada por 460 espécies distribuídas em 5 gêneros: *Pothomorphe* Miq., *Sarcorhachis* Trel., *Peperomia* Ruiz & Pav. , *Piper* L. e *Ottonia* Spreng (BARROSO et al., 2002). Dentre as variedades empregadas na “medicina popular” brasileira, elencam-se espécies do gênero *Ottonia* e *Piper* (PESSINI et al., 2003).

Os nomes populares ou vernaculares são atribuídos a partir de identificação feita por adeptos de seu uso na cultura popular, levando-se em consideração muitos aspectos, que incluem não apenas as características morfológicas das folhas, sabor, aromas, cores, habitat, mas os ligados à cosmovisão e à simbologia associadas à planta e ao habitat. Um mesmo nome pode designar plantas de espécies, gêneros ou mesmo de famílias distintas, segundo a classificação biológica, gerando pluralidade de nomes de espécies científicas para um mesmo nome vernacular. O nome João brandinho ou João brandim representa um desses casos, em que se vêem associados, pelo menos, quatro nomes de espécies botânicas de gêneros distintos (*Piper* e *Ottonia*), para um mesmo nome popular (ALBUQUERQUE, 2002).

Análises fitoquímicas de membros do gênero *Piper*, usados em preparações tradicionais, têm sido realizadas (DUNSTAN & GARNETT, 1895; GIESBRECHT et al., 1981; COSTA & MORS, 1981; PRING, 1982; MAKAPUGAY et al., 1983). Várias espécies desse gênero têm propriedades medicinais. Tribos indígenas da Venezuela

utilizam a espécie *Piper piscatorum* como analgésico e também para a pesca, onde o caule e a raiz da planta macerada são misturados à água para entorpecer peixes, que são facilmente capturados (McFERREN & RODRIGUEZ, 1998). *Piper ottonoides* Yuncker é utilizada na cultura popular e por populações tradicionais amazônicas, como fármaco anticefaléico e antitérmico, recebendo o nome de João brandinho (MING, 1995). A espécie *Piper regnelli* é popularmente utilizada no controle da dor, da febre e no tratamento do reumatismo. A espécie *Piper umbellatum* é utilizada no Brasil como antiblenorrágica, vermífugo e no combate da inflamação, entre outras. Revelou-se, ainda, a atividade antimalárica e antioxidante (BARDELLI et al., 2008).

O gênero *Ottonia* contempla 23 espécies, das quais 21 são nativas do Brasil (ANTUNES et al., 2001). YUNCKER (1973) informou que o gênero *Ottonia* é uma forma evolutiva recente de *Piper*, pois não se observam diferenças significantes entre suas espécies.

Entre as espécies do gênero *Ottonia* utilizadas na medicina popular, (LOPES, 1989; CUNICO et al., 2005) citam-se:

- *Ottonia anisum* Sprengel: cujas raízes são diuréticas, diaforéticas, sialagogas e afrodisíacas. Ela é utilizada na forma de tintura em fricções no tratamento de paralisias e reumatismos e para o alívio de odontoalgias. É conhecida popularmente como Falso jaborandi.
- *Ottonia propinqua* Kunth: sua raiz provoca anestesia e salivação. Era utilizada pelos índios como antídoto na intoxicação por cogumelos. Conhecida como Jaborandi, Xericaá e Jaguarandi.
- *Ottonia corcovadensis* Miq.: popularmente conhecida como João brandinho. No Brasil, é encontrada com frequência nas regiões Norte e Nordeste, mas pode ser vista em outras, como a Sudeste. Suas raízes e ramos são empregados empiricamente no alívio de dores dentais ou da mucosa oral. No estado do Acre, por exemplo, é uma das principais espécies vegetais da “medicina popular”. Suas folhas, na forma de emplastros, são empregadas para aliviar sintomas de reumatismo, gripes e resfriados (FACUNDO et al., 2004).

O gênero *Ottonia* destaca-se por apresentar uma grande diversidade de metabólitos secundários bioativos, dentre eles as amidas, de grande interesse

medicinal (ANTUNES et al., 2001). Estudos fitoquímicos mostram que as espécies são constituídas, principalmente, da amida piperovatina (CUNICO et al., 2005), que apresenta atividade sialagoga, piscicida e anestésica local (McFERREN & RODRIGUEZ, 1998). O mecanismo de ação da piperovatina, como substância anestésica, não foi elucidado completamente, mas mostrou-se que ela provoca aumento significativo do cálcio intracelular neuronal e que atua como agonista dos canais de sódio, o que explica a sua utilização, pelos índios, na pesca, já que os peixes apresentam hipersensibilidade a esse grupo de substâncias, como os piretróides e o DDT. É agonista dos canais de sódio, ao contrário dos anestésicos locais que atuam bloqueando-os, embora sua atividade seja similar à destas substâncias (McFERREN et al., 2002).

Estudo realizado com a espécie *Ottonia propinqua*, em cobaias, por KUZE RATES et al. (1997), mostrou que o extrato da planta, aplicado pela via subcutânea, apresenta atividade anestésica local de curta duração, com rápido início de ação, mas induz à irritação local. Os mesmos autores relataram que as amidas piperovatina e piperlongumina, isoladas desta espécie e também da espécie *Ottonia martiana*, apresentam característica química geral análoga à capsaicina, isolada do gênero *Capsicum*, cujas propriedades mais estudadas são voltadas ao controle da dor crônica e ao alívio da dor decorrente da infecção por *Herpes zoster*.

1.1 *Ottonia martiana*

A espécie *Ottonia martiana* é uma planta de porte herbáceo-arbustiva, com ramos estriados e glabros, folhas curto-pecioladas e elíptico-ovadas, flores em espigas e frutos drupáceos oblongo-ovóides (Figura 1). Distribui-se pela mata atlântica, sendo conhecida por diversos nomes populares, entre eles Jaguarandi e Taburutá, no sul de Santa Catarina (GUIMARÃES et al., 1978) e “anestésica”, pelas populações do litoral Paranaense, que empregam suas raízes ou partes aéreas nas odontalgias. O fazem em alcooluturas para bochechos ou por mastigação (LOPES, 1989; CUNICO et al., 2003b).



Figura 1. Imagem fotográfica de folhas e inflorescências de *Ottonia martiana*.
Fonte: Maria Alice Corrêa. São Paulo, 2008.

Na sociedade Centro Espírita Beneficente União do Vegetal (CEBUDV – www.udv.org.br), o conhecimento sobre o uso de plantas medicinais é um saber cultural popular entre os seus cerca de 15 mil filiados. Este saber constitui parte do conhecimento espiritual sobre as plantas, nesta sociedade, transmitido pelo seu fundador, o senhor José Gabriel da Costa (Mestre Gabriel), que trabalhou como seringueiro na Amazônia, na década de 60. Assim, entre os sócios da UDV, diversas espécies do gênero *Ottonia* e *Piper* são denominadas como João brandim ou João brandinho, reconhecidas como antitérmico, anticefaléico, anestésico, relaxante muscular e usadas como colírio, nos casos de conjuntivite e irritação ocular. A forma de preparo da planta, para estas formas distintas do uso, varia entre a extração em água ou maceração em álcool de cereais* (informação verbal).

CUNICO (2007) estudou o potencial antibacteriano do extrato bruto etanólico de *O. martiana* frente a microrganismos presentes na microbiota oral humana e a alguns relacionados a infecções nosocomiais, através do método de difusão em ágar. Observou potencial antibacteriano do extrato da planta contra *Enterococcus faecium*, relacionado à infecções nosocomiais, e à microrganismos presentes na microbiota oral humana como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus*

* Corrêa, M. A. (Bióloga, Msc, Universidade Braz Cubas, UBC – Mogi das Cruzes-SP). Comunicação pessoal, 2009.

saprophyticus, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius* e *Serratia marcescens*.

Adjunto, em teste com fitopatógenos, apresentou atividade antifúngica frente ao *Fusarium oxysporum*, ao *Colletotrichum acutatum*, ao *Rhizoctonia* sp. (CUNICO, 2004) e ao *Cylindrocladium spathulatum*, encontrado em folhas de erva-mate (CUNICO et al., 2003). O extrato aquoso de *O. martiana* foi também testado contra os microrganismos *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida parapsilosis*, através de método de difusão em ágar, não havendo crescimento das espécies testadas (CURSINO & CORRÊA, 2008).

Estudos realizados com o extrato bruto etanólico dos órgãos totais (EBEtOH) de *O. martiana* foram realizados por CUNICO (2007). Verificou-se haver inibição de reflexos cutâneos em cobaias que o receberam pela via subcutânea. O mesmo autor estudou a atividade anestésica do extrato na superfície corneal de coelhos, seguindo o modelo experimental descrito por VOGEL (2002), onde não observou a inibição dos reflexos corneais após a instilação do extrato, quando a córnea foi tocada por um fio de náilon.

Para o modelo descrito (VOGEL, 2002), inicialmente os cílios dos coelhos são cortados, procedendo a aplicação perpendicular na córnea de um náilon não graduado por 10 vezes, registrando-se o número de reflexos corneais produzidos. Em seguida, instila-se a substância desejada na quantidade de 0,5 ml repetindo-se a aplicação do mesmo volume após 30 segundos. Na sequência, cada um dos olhos é tocado 10 vezes pelo fio de nylon, a cada 5 minutos, durante uma hora, contando-se o número de reflexos corneais. No estudo, após a aplicação do extrato bruto etanólico de *O. martiana*, observou-se salivação e sinais de irritação ocular em todos os animais que receberam a preparação tópica (CUNICO, 2007).

1.2 INERVAÇÃO CORNEAL

A córnea é um dos tecidos mais inervados do organismo, recebendo densa inervação sensorial do nervo trigêmio e inervação simpática do gânglio cervical superior. Pequena inervação parassimpática, originária do gânglio ciliar, foi demonstrada em ratos e gatos. Sua presença em outros mamíferos, todavia, não é evidente (MÜLLER et al., 2003). A inervação corneal exerce importante papel na fisiologia epitelial, incluindo a regulação do transporte de íons, a proliferação, diferenciação, adesão e migração celulares, além da reparação de defeitos epiteliais. O mecanismo pelo qual os nervos corneais exercem efeitos tróficos demanda mais esclarecimento. Ele envolve, em parte, a liberação de neurotransmissores e neuropeptídeos pelos nervos corneais, como a substância P (SP), o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e a norepinefrina (MARFURT et al., 2001). Uma diminuição da sensibilidade corneal ou sua denervação induzem ao aumento da permeabilidade celular epitelial, diminuição da migração e divisão celulares, além de ser um fator de risco para o desenvolvimento de úlceras, retardos na reparação e maior incidência de infecções (KAFARNIK et al., 2008). O metabolismo corneal e seu índice mitótico estão relacionados a uma inervação sensitiva normal (PIPPI & GONÇALVES, 2009).

Em cães, são frequentes os defeitos epiteliais espontâneos crônicos da córnea, com características clínicas semelhantes às apresentadas por pacientes humanos, como episódios repetidos de erosão corneal, sem histórico de trauma. Considerando-se que os nervos corneais são importantes para a manutenção de um epitélio saudável, hipotetiza-se que alterações relacionadas a tal decorram, pelo menos em parte, de déficits funcionais ou anatômicos da inervação (MARFURT et al., 2001).

Relatos sobre a anatomia e fisiologia neurais da córnea são inúmeros. Não obstante, o conhecimento acerca da função e arquitetura neurais é, ainda, pouco elucidado. O tema tem despertado o interesse, notadamente por conta das cirurgias refrativas (MÜLLER et al., 2003; BELMONTE et al., 2004).

Os neurônios corneais podem ser classificados em finamente mielinizados, do tipo A delta, ou amielinizados, do tipo C. Esses dois tipos de fibras nervosas respondem de forma distinta aos estímulos, sendo a velocidade de condução do impulso em cada um deles variável (GALLAR et al., 1993).

Estudos em eletrofisiologia comprovaram a existência de diferentes fibras sensoriais (Figura 3) e, aproximadamente 20% delas, todas finamente mielinizadas, respondem somente a forças mecânicas, sendo chamadas de mecanonociceptores. Essas fibras produzem um ou vários pequenos impulsos nervosos em resposta a uma breve ou contínua indentação sobre a superfície da córnea, identificando assim, a presença do estímulo, e, em um grau limitado, sua intensidade, mas não a duração. São, possivelmente, responsáveis pela sensação de dor aguda produzida pelo contato mecânico (BELMONTE et al., 2004).

Outro grupo de fibras sensoriais, cerca de 70% delas, chamadas de polimodais, respondem ao estímulo mecânico e ao calor, bem como a mediadores químicos endógenos liberados pelo tecido corneal lesionado. A maioria dos nociceptores polimodais é do tipo C, embora haja fibras do tipo A delta. São nociceptores que indicam a presença do estímulo nocivo, como também sua intensidade e duração. Na inflamação, os mediadores liberados estimulam os nociceptores polimodais, levando a contínuos disparos, que produzem sensação contínua de dor (BELMONTE et al., 2004).

Cerca de 10 a 15 % das fibras nervosas sensoriais são sensíveis ao frio. Elas produzem a sensação consciente do frio e detectam discretas variações de temperatura. Constituem-se em dois tipos de fibras nervosas (A delta e C) (GALLAR et al., 1993).

MARFURT et al. (2001) estudaram a morfologia e os neuropeptídeos da inervação corneal de cães, observando, como conteúdo peptidérgico, a substância P, o CGRP e a tirosina hidroxilase. A numerosa presença de inervação peptidérgica na córnea de cães indica que a maioria dos nervos corneais são nociceptores do tipo C e A delta.

Há um abundante plexo nervoso estromal anterior, além de uma rica inervação epitelial orientada horizontalmente, na direção da região perilímbica corneal (MARFURT et al., 2001). Os feixes nervosos penetram pela periferia corneal em direção radial,

paralelamente à sua superfície, perdendo sua bainha de mielina a, aproximadamente, 1mm do limbo. Tal aspecto microanatômico é essencial à sua transparência. Em grande parte dos mamíferos, a maioria das fibras nervosas estromais está localizada no terço anterior do estroma (MÜLLER et al., 2003). A maior densidade nervosa na área central da córnea justifica sua maior sensibilidade (GALLAR et al., 1993).

Em estudo *in vivo*, realizado com cães e gatos, utilizando-se a microscopia confocal, observou-se que a densidade de fibras nervosas na córnea de gatos é superior. Tais achados corroboram com estudos realizados à estesiometria, nessas duas espécies. A densidade nervosa da córnea está diretamente relacionada à sua sensibilidade (KAFARNIK, et al., 2008). O mesmo estudo revelou que gatos braquicefálicos têm densidade nervosa da córnea significativamente menor, em comparação aos não braquicefálicos. Em cães, o mesmo ocorre, mas de forma não significativa.

1.3 ESTESIOMETRIA CORNEAL

O estesiômetro de Cochet-Bonnet é um instrumento que permite quantificar a sensibilidade corneal frente a um estímulo. Ele consiste de um monofilamento de náilon, com 0,12 mm de diâmetro e 66 mm de comprimento, acoplado a um suporte, que permite regular o comprimento do monofilamento de 5 a 60 mm. A intensidade de pressão aplicada à córnea é variável segundo o comprimento do náilon. Quanto mais longo ele for, menor será a intensidade do estímulo (MAHÉ et al., 2004). De acordo com o seu comprimento, a pressão exercida sobre a superfície corneal pode variar de 11 a 200 mg/0,0113 mm² (LUCCI et al., 2004).

O estesiômetro de Cochet-Bonnet é amplamente utilizado como ferramenta para avaliar a sensibilidade corneal (BROOKS et al., 2000; HERRING et al., 2005; BINDER & HERRING, 2006).

HERRING et al. (2005) obtiveram valores médios de 1,75 cm, correspondentes à estesiometria, em cães dolicocefálicos, em um estudo que objetivou determinar o tempo

de anestesia promovido pela proparacaína na superfície corneal. Em outro estudo visando o mesmo propósito em gatos, o valor médio de 1,58 cm foi relatado por BINDER e HERRING (2006). KLAUMANN (2007) observou valores basais em cães que variaram entre 1,5 e 2,5 cm. Em seres humanos consideram-se normais os valores da estesiometria corneal central acima de 4 cm (COCHET & BONNET, 1960, apud RÊGO et al., 2003). BROOKS et al. (2000) estudaram-na em potros saudáveis e enfermos e em cavalos adultos obtendo valores médios de $5,01 \pm 0,24$ cm, $3,21 \pm 0,24$ cm e $4,82 \pm 0,87$ cm, respectivamente.

O estesiômetro também foi utilizado por MAHÉ et al. (2004), como instrumento para a avaliação da eficácia anestésica de soluções com diferentes concentrações de bupivacaína na córnea de pacientes humanos submetidos à cirurgia da catarata.

Quantificar a sensibilidade corneal, constitui-se importante meio para o diagnóstico diferencial de doenças do segmento anterior do bulbo do olho. Observa-se, por exemplo, diminuição da sensibilidade corneal em várias circunstâncias, como no diabetes mellitus, na hanseníase, em usuários de lentes de contato, nas cirurgias oculares diversas, incluindo as refrativas, e em pacientes com hiposecreção lacrimal (LUCCI et al., 2004).

1.4 ANESTESIA LOCAL EM OFTALMOLOGIA

A utilização de anestésicos tópicos na oftalmologia veterinária remonta de muitos anos. Procedimentos como a aferição da pressão ocular, remoção de suturas corneais e corpos estranhos, biópsias conjuntivais e injeção intracameral só são factíveis com a utilização da anestesia da superfície ocular (HERRING et al., 2005).

Para a transmissão dos impulsos nervosos, é necessário um potencial de ação gerado pelo influxo de íons sódio para o interior do axônio. Os anestésicos locais agem impedindo tal influxo pelo bloqueio dos canais de sódio (DUKE, 2000).

Os anestésicos tópicos são utilizados para reduzir a dor, mas o curto tempo de ação obriga à repetidas aplicações. Da sua utilização decorre, todavia, o declínio agudo

dos valores do teste lacrimal de Schirmer (TLS). Segundo HAMOR et al. (2000), a dessensibilização corneal induz à diminuição da produção lacrimal pelo bloqueio da sua produção reflexa. Os mesmos autores observaram, em cães, diminuição significativa nos valores do teste lacrimal de Schirmer após a instilação de solução de proparacaína a 0,5%, que diminuíram de 20,3 para 6,2 (mm/min) em média.

Quando utilizados cronicamente, os anestésicos locais podem causar irritação ocular e lesão ao epitélio corneal, por sua toxicidade e retardo na reparação corneal, além de ocultar sinais de desconforto ou de doença ocular. Por esta razão, sua utilização deve ser restrita a procedimentos diagnósticos ou manobras cirúrgicas pouco invasivas e de curta duração (GROSS & GIULIANO, 2007).

Na medicina, a anestesia tópica ocular associada à sedação tem sido utilizada na cirurgia da catarata pela facoemulsificação. Com a medida, evitam-se complicações sistêmicas que podem decorrer da anestesia retrobulbar ou peribulbar, como depressão respiratória, coma e convulsões, e locais como perfuração do bulbo do olho, hemorragias, ptose e descolamentos de retina (BERTRAND et al., 2008).

O cloridrato de proximetacaína ou proparacaína é o anestésico mais empregado em oftalmologia, por sua baixa toxicidade à córnea (MEDEIROS et al., 2000). Não obstante, úlceras puntiformes já foram relacionadas com seu uso crônico (ROSENWASSER et al., 1990).

HERRING et al. (2005) observaram que a proparacaína instilada em olhos de cães desprovidos de oftalmopatias possibilitou anestesia corneal de 45 minutos de duração, com duração do efeito anestésico máximo de 15 minutos após a sua instilação.

BINDER & HERRING (2006) utilizando solução de proparacaína a 0,5% em gatos oftalmologicamente sadios, observaram efeito anestésico de 25 minutos de duração, com duração do efeito anestésico máximo de somente 5 minutos após a instilação.

2 OBJETIVOS

Avaliar, em cães desprovidos de oftalmopatias, as propriedades e outros eventuais efeitos referentes a produção lacrimal, pressão ocular e alterações clínicas da superfície ocular, do extrato aquoso de *O. martiana* sobre a superfície ocular, comparando-os com o colírio de cloridrato de proximetacaína a 0,5%, empregado na rotina oftálmica.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

Cuidados bioéticos obedeceram ao protocolo preconizado pela *Association for Research in Vision and Ophthalmology – ARVO, National Institutes of Health Publications* N° 85 – 23: *Revised* 1985, de consoante com o código de Nüremberg (GOLDIM, 1995) e às normas vigentes da Comissão de Ética e Bem-Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Câmpus de Jaboticabal (Protocolo nº 003292-08).

3.2 ANIMAIS

Quarenta e cinco cães (*Canis familiaris*, LINNAEUS, 1758), hígidos, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, oferecidos pelo Laboratório de Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”, na FCAV – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, participaram do estudo. Realizaram-se o teste lacrimal de Schirmer[†], a biomicroscopia com lâmpada em fenda[‡], a tonometria de aplanção[§], a oftalmoscopia binocular indireta^{**}, a avaliação da sensibilidade corneal central à estesiometria^{††} e o teste do tingimento pela fluoresceína^{‡‡}. Os cães, durante toda a pesquisa, foram mantidos em canis individuais com água potável e ração^{§§} apropriada.

[†] Teste lacrimal de Schirmer – Ophthalmos Ltda., São Paulo, Brasil.

[‡] Slit Lamp SL – 14 – Kowa Company Ltda, Torrance, EUA.

[§] TonoPen XL – Medtronic, Jacksonville, EUA.

^{**} Oftalmoscópio binocular indireto FOH – 5 – Eyetec. S.A, São Carlos, Brasil

^{††} Estesiômetro de Cochet Bonnet® - Luneau Ophthalmologie, Paris, França.

^{‡‡} Fluoresceína strips – Ophthalmos Ltda., São Paulo Brasil.

^{§§} Guabi Natural, Guabi Ltda., Campinas, Brasil.

3.3 GRUPOS DE EXPERIMENTAÇÃO

Compuseram-se três grupos de 15 animais: grupo controle (GC), grupo proximetacaína (GP) e grupo *Ottonia* (GO).

3.4 PREPARO DO EXTRATO AQUOSO DE *Ottonia martiana*

O extrato aquoso foi preparado a partir das folhas de *O. martiana*, cedida pelo CEBUDV, devidamente identificadas no Herbário Dom Bento Pickel – São Paulo-SP. Para a preparação do extrato, as folhas foram limpas com gaze umedecida em solução estéril e secas com o mesmo tecido. Utilizou-se a padronização de 10 g de folhas frescas para 100 mL do solvente álcool etílico hidratado de cereais (EtOH 70%), na proporção 1:10 (m/v). O extrato ficou sob maceração a frio por 30 dias, em frasco âmbar e estéril. Após esse período, o líquido filtrado foi levado à evaporação sob pressão reduzida, com a finalidade de eliminar todo o solvente da amostra, obtendo-se o extrato seco (SONAGLIO et al., 1999). O extrato seco resultou em 90 mg, que foi resuspenso em 5 mL de solução fisiológica estéril, resultando em uma concentração de 18 mg/mL. O extrato aquoso estéril foi armazenado em frasco conta-gotas também estéril, na geladeira, durante o período do experimento, apresentando validade de dois dias.

3.5 PROTOCOLOS DE TRATAMENTO

Para os grupos controle (GC), proximetacaína (GP) e *Ottonia* (GO), adotaram-se respectivamente a instilação de solução fisiológica, de colírio de cloridrato de proximetacaína a 0,5% e de extrato aquoso de *Ottonia martiana*, no olho esquerdo dos cães, no tempo 0 (T_0) e decorridos 3 minutos (T_3).

3.6 PROTOCOLOS DE AVALIAÇÃO

Os protocolos de avaliação e tratamentos obedecem aos momentos descritos no quadro 1.

Quadro 1. Descrição das avaliações e tratamentos realizados de acordo com os momentos (Jaboticabal, 2010).

Momentos	Avaliações
Antes dos tratamentos	Teste lacrimal de Schirmer (TLSa) Estesiometria (Ea) Pressão ocular (POa) Biomicroscopia com lâmpada em fenda (BioA)
T0	Primeira instilação do tratamento
T3 (3 minutos após T0)	Segunda instilação do tratamento
T5 (5 minutos após T0)	Estesiometria (Eb)
T10 (10 minutos após T0)	Teste lacrimal de Schirmer (TLSb) Estesiometria (Ec) Pressão ocular (POb) Biomicroscopia com lâmpada em fenda (BioB)
T20 (20 minutos após T0)	Biomicroscopia com lâmpada em fenda (BioC) Teste do tingimento pela fluoresceína

3.6.1 Teste lacrimal de Schirmer

O teste lacrimal de Schirmer foi realizado imediatamente antes dos tratamentos (TLSa) e decorridos 10 minutos de cada um deles (TLSb) de acordo com técnica descrita por SLATTER (2005).

3.6.2 Estesiometria corneal

Antes dos tratamentos, decorridos 5 (T_5) e 10 (T_{10}) minutos de T_0 , avaliou-se a sensibilidade corneal central à estesiometria Ea, Eb e Ec, respectivamente. Os testes foram realizados com o estesiômetro de Cochet-Bonnet (Figura 2), estando o equipamento graduado entre 0,5 e 6 cm, onde 0,5 cm representou o menor comprimento do filamento de náilon e o mais contundente para a córnea. O teste iniciou-se com o comprimento do náilon em 4 cm, sendo decrescido a intervalos de 0,5 cm, até que o animal iniciasse incursões palpebrais consistentes, em resposta ao estímulo. Foram realizadas, na região central da córnea, cinco tentativas para se estimular o ato de piscar, em cada comprimento do estesiômetro (Figura 3). O limiar de sensibilidade foi registrado quando o monofilamento de náilon, em no mínimo três dos cinco toques, motivou a ocorrência do reflexo corneal. O valor da estesiometria foi considerada 0 quando os animais não apresentavam o reflexo corneal para o comprimento de 0,5 cm do estesiômetro. Os indivíduos foram mantidos em estação e os exames conduzidos por um único executor (HERRING et al., 2005).



Figura 2: Estesiômetro de Cochet-Bonnet. Fonte: KLAUMANN, 2007.



Figura 3. Imagem fotográfica de estesiometria corneal em cão adulto, macho, da raça Beagle. Notar o contato do monofilamento de náilon com a região axial da córnea. Jaboticabal-SP, 2010.

A tabela 1 representa os valores de pressão aplicados à córnea em cada comprimento do estesiômetro (COCHET & BONNET, 1960 apud LUCCI et al., 2004).

Tabela 1. Tabela de conversão dos valores do comprimento do filamento de náilon do estesiômetro de Cochet-Bonnet para seus respectivos valores de pressão aplicados à superfície corneal (COCHET & BONNET, 1960 apud LUCCI et al. 2004).

Comprimento do náilon (cm)	Valores de pressão (mg/0,0113mm ²)
6,0	11
5,5	12
5,0	13
4,5	16
4,0	21
3,5	27
3,0	36
2,5	52
2,0	75
1,5	100
1,0	145
0,5	200

3.6.3 Pressão ocular

A avaliação da pressão ocular, foi realizada antes dos tratamentos (POa), e decorridos 10 minutos deste (POb), utilizando técnica descrita por SLATTER (2005).

3.6.4 Biomicroscopia e teste do tingimento pela fluoresceína

Empregou-se a biomicroscopia com lâmpada em fenda antes dos tratamentos (BioA), aos 10 (BioB) e 20 minutos (BioC) de T_0 . Foram avaliados hiperemia conjuntival, alterações da transparência corneal e eventuais sinais de inflamação, quantificados em: (-) para ausente, (+) discreto, (++) moderado e (+++) intenso. Aos 20 minutos de T_0 , realizou-se o teste do tingimento pela fluoresceína, para se certificar da integridade corneal após os procedimentos.

3.6.5 Análise estatística

Os eventos foram analisados empregando-se o software Sigma Stat, mediante o teste t de Student, quando comparados dois grupos e o teste de variância ANOVA (*Kruskal-Wallis Analysis of Variance*), quando comparados os três grupos. Em ambos, considerou-se o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 ESTESIOMETRIA CORNEAL

Os valores basais da estesiometria corneal, nos 45 cães avaliados, variaram entre 0,5 e 3 cm (Tabela 2), onde cada valor, em centímetros, representa um determinado valor de pressão exercida pelo monofilamento de náilon, sobre a porção central da córnea, como demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Valores basais médios e desvios padrão da estesiometria corneal, com estesiômetro de Cochet-Bonnet (Ea) em olho esquerdo de 45 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, imediatamente antes dos tratamentos com solução fisiológica, com cloridrato de proximetacaína a 0,5% ou com extrato aquoso de *Ottonia martiana*. Jaboticabal-SP, 2010.

Animais	Valor da estesiometria (cm)
1	3,0
2	2,0
3	2,5
4	1,5
5	1,0
6	2,0
7	1,5
8	2,5
9	1,5
10	2,0
11	2,0
12	2,5
13	1,5
14	1,5
15	1,5
16	2,5
17	2,0
18	1,5
19	1,5
20	3,0
21	1,5
22	2,5
23	2,0
24	1,5
25	2,0
26	2,0
27	2,0
28	1,5
29	1,5
30	2,0
31	1,5
32	0,5
33	1,0
34	1,0
35	1,5
36	1,5
37	1,5
38	1,0
39	2,0
40	1,5
41	1,5
42	1,0
43	0,5
44	1,5
45	1,5
$\bar{x}$	1,7
S	0,57

$\bar{x}$ = Média; S = Desvio padrão

Os resultados quanto à estesiometria Ea, Eb e Ec encontram-se expressos nas tabelas 3, 4 e 5.

Tabela 3. Valores médios e desvios padrão da estesiometria corneal central, com estesiômetro de Cochet-Bonnet, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo controle (GC), antes do tratamento (Ea), decorridos 5 minutos (Eb) e decorridos 10 minutos (Ec). Jaboticabal-SP, 2010.

Animais (GC)	Ea (cm)	Eb (cm)	Ec (cm)
1	3,0	3,0	2,5
2	2,0	2,5	2,5
3	2,5	2,0	2,0
4	1,5	2,5	2,0
5	1,0	2,0	1,5
6	2,0	2,0	2,0
7	1,5	2,0	2,0
8	2,5	2,0	1,5
9	1,5	1,5	1,5
10	2,0	2,0	2,0
11	2,0	2,0	2,0
12	2,5	1,5	2,0
13	1,5	1,5	1,5
14	1,5	1,5	1,5
15	1,5	1,5	1,5
$\bar{x}$	1,90	1,96	1,86
S	0,54	0,44	0,35

$\bar{x}$ = Média; S = Desvio padrão.

Tabela 4. Valores médios e desvios padrão da estesiometria corneal central, com estesiômetro de Cochet-Bonnet, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo proximetaína (GP), antes do tratamento (Ea), decorridos 5 minutos (Eb) e 10 minutos (Ec). Jaboticabal-SP, 2010.

Animais (GP)	Ea (cm)	Eb (cm)	Ec (cm)
1	2,5	0	0
2	2,0	0	0
3	1,5	0	0
4	1,5	0	0
5	3,0	0	0
6	1,5	0	0
7	2,5	0	0
8	2,0	0	0
9	1,5	0	0
10	2,0	0	0
11	2,0	0	0
12	2,0	0	0
13	1,5	0	0
14	1,5	0	0
15	2,0	0	0
$\bar{x}$	1,93	0	0
S	0,46	0	0

$\bar{x}$ = Média; S = Desvio padrão

Tabela 5. Valores médios e desvios padrão da estesiometria corneal central, com estesiômetro de Cochet-Bonnet, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo *Ottonia* (GO), antes do tratamento (Ea), decorridos 5 minutos (Eb) e decorridos 10 minutos (Ec). Jaboticabal-SP, 2010.

Animais (GO)	Ea (cm)	Eb (cm)	Ec (cm)
1	1,5	0,5	0,5
2	0,5	0,5	0,5
3	1,0	0,5	0,5
4	1,0	0,5	0,5
5	1,5	0,5	0,5
6	1,5	0,5	0,5
7	1,5	0,5	0,5
8	1,0	0,5	0,5
9	2,0	0,5	0,5
10	1,5	0,5	0,5
11	1,5	0,5	0,5
12	1,0	0,5	0,5
13	0,5	0	0
14	1,5	0,5	0,5
15	1,5	0,5	0,5
$\bar{x}$	1,26	0,46	0,46
S	0,54	0,44	0,35

$\bar{x}$ = Média; S = Desvio padrão.

Relativamente à estesiometria corneal central, houve diferença significativa quando comparados os valores de Ea entre o GO e os grupos GC e GP (Figura 4). Nos grupos GP e GO, observou-se diminuição significativa de Ea decorridos 5 minutos dos tratamentos (Eb). Os valores mantiveram-se constantes após 10 minutos (Ec). Identificou-se diferença ($P \leq 0,001$), quando comparados os valores de Ea, Eb e Ec nos grupos GP e GO (Figuras 5 e 6).

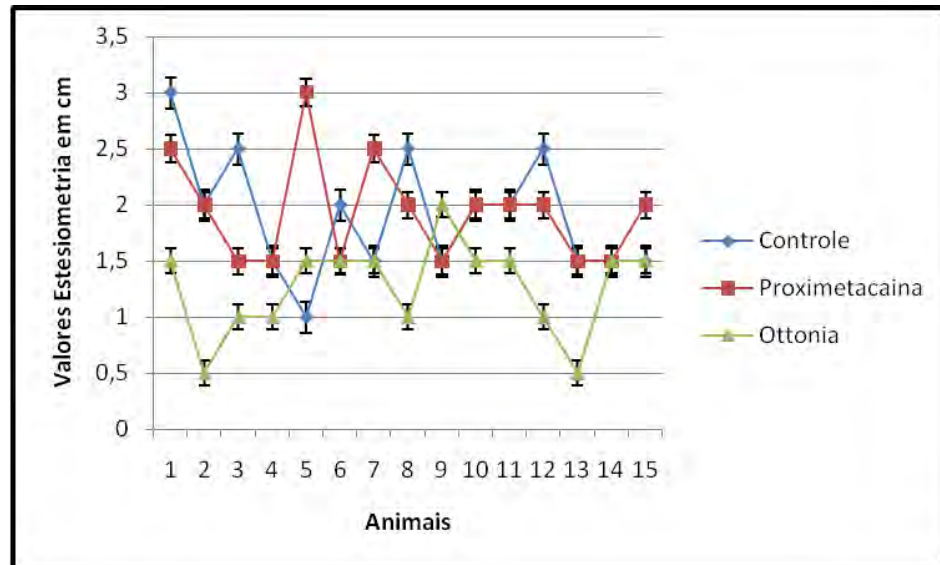


Figura 4. Representação gráfica, quanto à estesiometria corneal, Ea, em cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle. Jaboticabal-SP, 2010.

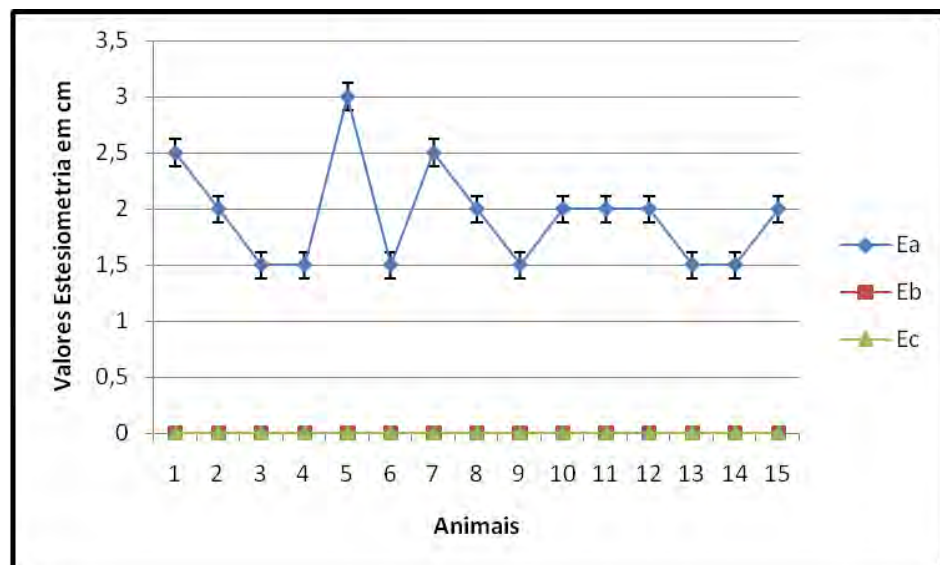


Figura 5. Representação gráfica, quanto aos valores de estesiometria corneal, Ea, Eb e Ec, em cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo GP. Jaboticabal-SP, 2010.

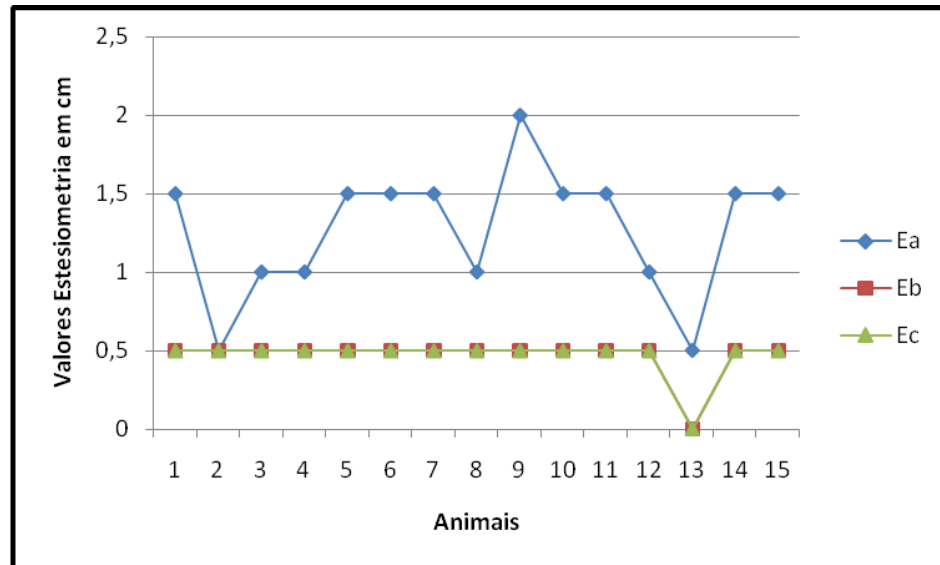


Figura 6. Representação gráfica, quanto à estesiometria corneal, Ea, Eb e Ec, em cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo GO. Jaboticabal-SP, 2010.

4.2 TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER

Os valores do teste lacrimal de Schirmer a e b, dos grupos controle (GC), proximetacaína (GP) e *Ottonia* (GO), encontram-se expressos nas tabelas 6, 7 e 8.

Tabela 6. Valores médios e desvios-padrão do teste lacrimal de Schirmer, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo controle (GC), antes do tratamento (TLSa) e decorridos 10 minutos (TLSb). Jaboticabal-SP, 2010.

Animais (GC)	TLSa (mm/min)	TLSb (mm/min)
1	18	23
2	17	20
3	16	18
4	21	18
5	16	25
6	18	23
7	16	18
8	19	22
9	20	20
10	19	23
11	17	23
12	18	21
13	23	16
14	20	23
15	20	23
$\bar{x}$	18,53	21,06
S	2,03	2,06

$\bar{x}$ = Média; S = Desvio padrão

Tabela 7. Valores médios e desvios-padrão do teste lacrimal de Schirmer, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo proximetacaína (GP), antes do tratamento (TLSa) e decorridos 10 minutos (TLSb). Jaboticabal-SP, 2010.

Animais (GP)	TLSa (mm/min)	TLSb (mm/min)
1	15	11
2	15	11
3	12	8
4	20	14
5	20	10
6	13	18
7	15	15
8	16	8
9	22	10
10	16	18
11	17	14
12	23	14
13	19	12
14	23	20
15	18	17
$\bar{x}$	17,6	13,33
S	3,48	3,75

$\bar{x}$ = Média; S = Desvio padrão

Tabela 8. Valores médios e desvios-padrão do teste lacrimal de Schirmer, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo *Ottonia* (GO), antes do tratamento (TLSa) e decorridos 10 minutos (TLSb). Jaboticabal-SP, 2010.

Animais (GO)	TLSa (mm/min)	TLSb (mm/min)
1	16	18
2	17	19
3	17	23
4	18	20
5	18	20
6	18	19
7	23	21
8	19	24
9	26	30
10	21	19
11	23	20
12	25	22
13	22	22
14	20	20
15	22	23
$\bar{x}$	20,3	21,3
S	3,48	3,75

$\bar{x}$ = Média; S = Desvio padrão

Em relação aos valores do TLS, aferidos antes dos tratamentos (TLSa) e após os tratamentos (TLSb) do grupo GP, observou-se diminuição significativa ($p \leq 0,01$) do TLSa (Figura 7). Da mesma forma, houve diferença quando comparados os valores do TLSb entre os grupos GC e GP e entre os grupos GO e GP (Figura 8).

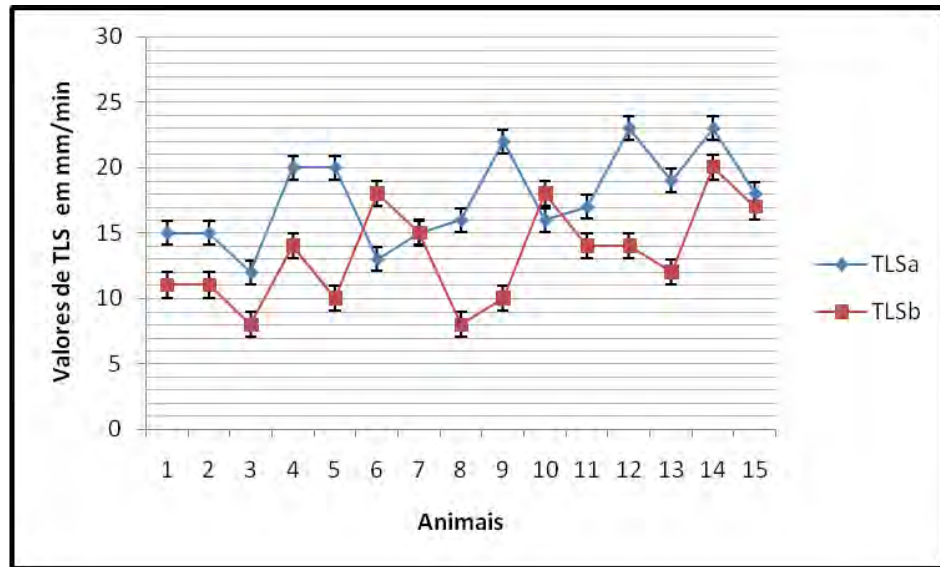


Figura 7. Representação gráfica, quanto aos valores do teste lacrimal de Schirmer, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo proximetacaína (GP), antes do tratamento (TLSa) e decorridos 10 minutos (TLSb). Jaboticabal-SP, 2010.

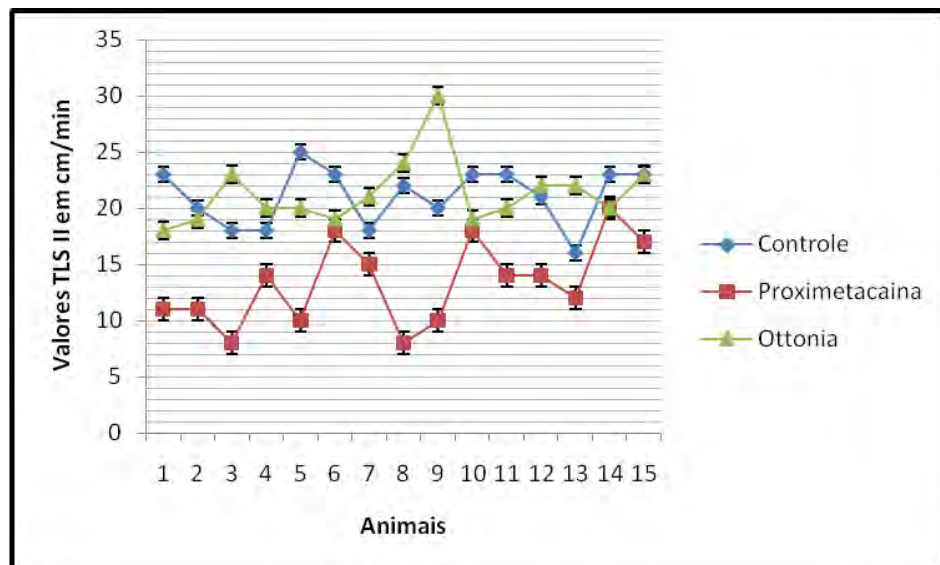


Figura 8. Representação gráfica, quanto aos valores do teste lacrimal de Schirmer, em olho esquerdo de 45 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, dos grupos controle (GC), proximetacaína (GP) e *Ottonia* (GO), decorridos 10 minutos do tratamento (TLSb). Jaboticabal-SP, 2010.

4.3 PRESSÃO OCULAR

Relativamente à pressão ocular (PO), aferida antes das instilações (POa) e aos 10 minutos do primeiro tratamento (POb), no GC, no GP e no GO, os resultados encontram-se expressos nas tabelas 9, 10 e 11, respectivamente. Não houve diferença quando comparados os valores de POa dos grupos GO, GP e GO em relação a POB (Figura 9).

Tabela 9. Valores médios e desvios-padrão relativos à PO, dados em mmHg, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo controle (GC), antes do tratamento (POa) e decorridos 10 minutos (POb). Jaboticabal-SP, 2010.

Animais (GC)	POa (mmHg)	POb (mmHg)
1	13	14
2	15	14
3	15	14
4	11	15
5	11	11
6	15	15
7	16	14
8	16	13
9	14	14
10	12	13
11	15	12
12	20	19
13	15	13
14	14	14
15	14	15
$\bar{x}$	14,4	14
S	2,22	1,77

$\bar{x}$ = Média; S = Desvio padrão

Tabela 10. Valores médios e desvios-padrão relativos à PO, dados em mmHg, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo proximetaína (GP), antes do tratamento (POa) e decorridos 10 minutos (POb). Jaboticabal-SP, 2010.

Animais (GP)	POa (mm/Hg)	POb (mm/Hg)
1	10	12
2	12	11
3	11	12
4	14	15
5	16	15
6	16	15
7	17	17
8	14	18
9	15	14
10	13	17
11	14	11
12	15	14
13	13	10
14	14	11
15	12	12
$\bar{x}$	13,73	13,6
S	1,94	2,52

$\bar{x}$ = Média; S = Desvio padrão

Tabela 11. Valores médios e desvios-padrão relativos à PO, dados em mmHg, em olho esquerdo de 15 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, do grupo *Ottonia* (GO), antes do tratamento (POa) e decorridos 10 minutos (POb). Jaboticabal-SP, 2010.

Animais (GO)	POa (mm/Hg)	POb (mm/Hg)
1	16	16
2	12	12
3	16	15
4	17	18
5	16	16
6	17	16
7	13	14
8	16	17
9	18	15
10	14	14
11	15	15
12	13	13
13	12	13
14	13	13
15	12	12
$\bar{x}$	14,6	14,6
S	1,94	2,52

$\bar{x}$ = Média; S = Desvio padrão

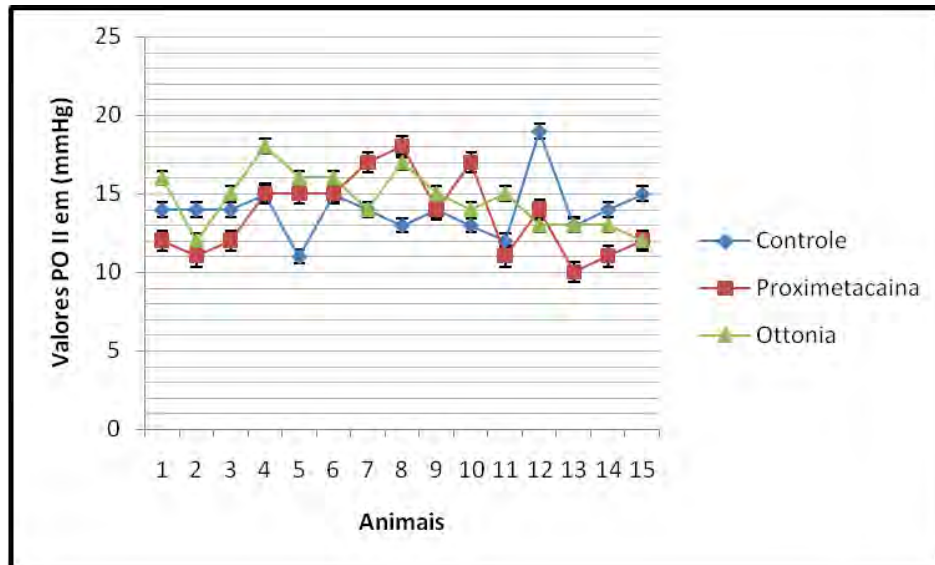


Figura 9. Representação gráfica quanto aos valores da tonometria em olho esquerdo de 45 cães, adultos, machos ou fêmeas, da raça Beagle, dos grupos controle (GC), proximetacaína (GP) e *Ottonia* (GO), decorridos 10 minutos do tratamento (POb). Jaboticabal-SP, 2010.

4.4 BIOMICROSCOPIA E TESTE DO TINGIMENTO PELA FLUORESCÉINA

Não se encontraram, nos animais do grupo controle (GC) e do grupo *Ottonia* (GO), quaisquer alterações à biomicroscopia, em ambos os momentos, após os tratamentos (BioB e BioC). Em 11 animais do grupo proximetacaína (GP) foi observada hiperemia conjuntival, de forma discreta (+), em ambos os momentos (BioB e BioC). O teste do tingimento pela fluoresceína foi negativo em todos os animais.

5 DISCUSSÃO

Estudos científicos quanto às plantas medicinais são escassos, relativamente à biodiversidade de espécies brasileiras. A comunicação oral sobre tais propriedades é a que prepondera na divulgação desse conhecimento e utilização dessas espécies pela população, incluindo as comunidades médica e veterinária. Segundo ALMEIDA et al. (2006), em estudo a respeito da utilização da fitoterapia na veterinária, a maioria dos veterinários entrevistados acreditam que mais estudos científicos na área possibilitariam maior credibilidade, favorecendo a sua difusão.

Admitiram-se cães como modelo de experimentação dada à elevada frequência com que afecções oftálmicas acometem esta espécie, além da facilidade de manipulação e docilidade da espécie (STARTUP et al., 1984).

Protocolou-se empregar o teste lacrimal de Schirmer, a estesiometria corneal central com o estesiômetro de Cochet-Bonnet, bem como a avaliação da pressão ocular para avaliar a ocorrência de possíveis alterações da superfície ocular decorrente da instilação dos tratamentos e o teste do tingimento pela fluoresceína para verificar a integridade corneal após a realização dos testes.

Relativamente ao preparo do extrato aquoso de *O. martiana*, seguiu-se modelo baseado no estudo de SONAGLIO et al. (1999) para a produção de fitoterápicos. Adicionalmente ao que foi descrito pelo autor, o extrato bruto etanólico (EBtOH) de *O. martiana* obtido com o processo, foi resuspenso em solução fisiológica a 0,9%, visando a se obter a diluição desejada da substância, uma vez que o EBtOH não pode ser aplicado diretamente, tanto por sua consistência pastosa como por sua concentração alta de princípios ativos que pode se tornar irritante ao epitélio corneal se aplicado diretamente.

Compuseram-se três grupos de quinze animais. A utilização de cloridrato do proximetacaína a 0,5%, como comparativo, foi motivada por sua frequente utilização na oftalmologia (MEDEIROS et al., 2000) e pela vasta literatura versando sobre tal (ROSSENWASSER et al., 1990; MEDEIROS et al., 2000; HAMOR et al., 2000; HERRING et al., 2005; BINDER e HERRING, 2006). Embora HERRING et al. (2005), tenha descrito que a proximetacaína é o anestésico de escolha na oftalmologia

veterinária, por apresentar efeitos colaterais mínimos após sua aplicação, a bula do medicamento faz um alerta sobre possíveis alterações clínicas oculares que podem decorrer de sua utilização como ardência, irritação, hiperemia conjuntival, queimação e lacrimejamento, além de amolecimento e erosão do epitélio corneal, o que motiva o estudo de uma nova substância anestésica para utilização oftálmica.

Para a avaliação da produção lacrimal antes e após a instilação das substâncias, empregou-se o teste lacrimal de Schirmer. Observou-se diminuição significativa, quando comparados o TLSa e TLSb, no grupo que recebeu a proximetacaína a 0,5%. Sabe-se que tal diminuição decorre da dessensibilização corneal com consequente bloqueio da via reflexa aferente e inibição da secreção lacrimal reflexa pelas glândulas lacrimal e nictitante (SLATTER, 2005), como também fora observado por HAMOR et al. (2000), em estudo sobre alterações dos valores de TLSa e TLSb em diferentes raças, sexo e idades de cães.

Relativamente aos grupos controle e *Ottonia*, houve aumento não significativo dos valores médios quando comparados o TLSa e o TLSb, em ambos os grupos. Acredita-se que o evento tenha sido decorrente dos diferentes estímulos aplicados (instilação do colírio, tonometria e estesiometria) à superfície ocular (ROBERTS e ERICKSON, 1962; HARKER, 1970). Relativamente ao grupo *Ottonia*, não houve redução dos valores do TLS após o tratamento. A diminuição não ocorreu possivelmente porque não se obteve a dessensibilização completa da córnea na concentração empregada ou por particularidades quanto ao mecanismo de ação da substância sobre a superfície ocular.

Optou-se por se avaliar a região central da córnea, uma vez que estudos realizados por BARRET et al. (1991) em cães demonstraram tratar-se da área mais sensível dada à maior concentração de terminações nervosas. Tal informação corrobora com os achados de BLOCKER & VAN DER WOERDT (2001), em estudo realizado com gatos e de BROOKS et al. (2000), com equinos.

A avaliação foi iniciada empregando-se o comprimento de 4 cm, ao qual, progressivamente decrescia-se 0,5 cm até que o teste fosse positivo, como fora realizado por BARRET et al. (1991), em estudo sobre a sensibilidade corneal de cães. O valor da estesiometria foi considerado zero, frente à inexistência do reflexo corneal

para o comprimento de 0,5 cm no estesiômetro, seguindo-se o protocolo adotado por HERRING et al. (2005). Os mesmos autores observaram em cães dolicocefálicos, valores de estesiometria corneal média de 1,75 cm, à similitude dos valores obtidos no presente estudo, em que o médio foi de 1,7 cm. Adjunto, KLAUMANN (2007) obteve valores de estesiometria que variaram de 1,5 a 2,5 cm.

Valores de estesiometria basais (Ea) menores foram encontrados no grupo *Ottonia* em relação aos grupos GC e GP, o que pode decorrer de alterações de temperatura e umidade do meio, conforme descrito por BINDER & HERRING (2006), embora nosso estudo tenha sido realizado no mesmo período do dia para todos os grupos. A presença de estesiometria de 0,5 cm em dois animais do grupo levou a esta diferença, que pode ser também resultante de diferenças individuais encontradas em um grupo grande de animais. Ressalta-se que todos eram oftalmicamente sadios ao exame clínico inicial. Apesar dessa observação, os valores de Eb e Ec do grupo *Ottonia* mostram diminuição significativa em relação aos valores de Ea, validando nossos achados.

A instilação de solução salina a 0,9% não alterou os resultados da estesiometria, em qualquer dos momentos. Após a instilação de proximetacaína a 0,5%, houve diminuição dos valores médios da estesiometria de 1,93 cm, em Ea, para 0 (zero) em Eb e Ec, como fora encontrado por HERRING et al. (2005) em estudo sobre a duração do efeito da proximetacaína na superfície ocular de cães sadios.

Relativamente aos valores da estesiometria, após a instilação do extrato aquoso de *O. martiana*, observou-se a sua diminuição de 1,26 cm em Ea para 0,46 cm em Eb, o qual se manteve em Ec. Acredita-se que essa redução significativa deva-se à possível propriedade anestésica ou analgésica do extrato, embora seu verdadeiro modo de ação não esteja elucidado. Uma das substâncias ativas da planta estudada, à qual foi atribuída a propriedade anestésica, é a amida piperovatina (MAKAPUGAY et al., 1983; McFERREN & RODRIGUEZ, 1998), também isolada de várias outras espécies do gênero *Piper* e *Ottonia*. A ela é atribuída, ainda, uma atividade piscicida e sialagoga. Com o intuito de se investigarem essas propriedades, McFERREN et al. (2002) estudaram “*in vitro*” o modo de ação desta amida, e concluíram que a piperovatina é agonista dos canais de sódio, o que justifica sua ação piscicida. Peixes são sensíveis a

um grande número de substâncias que agem desta forma, como o DDT e os piretróides. Pelo mecanismo de ação descrito, diferente do dos anestésicos locais, que bloqueiam os canais de sódio, os autores referem que a melhor descrição da sensação da substância na mucosa oral é a de “formigamento” e não de anestesia.

O fato de não se ter desenvolvido ou empregado algum modelo de inflamação no presente trabalho, impede que se determine se o extrato aquoso de *O. martiana* atua como anestésico local ou como analgésico. Anestésicos locais agem aumentando o limiar de sensibilidade de neurônios corneais. Em estudo sobre a anestesia peribulbar com ropivacaína em cães, KLAUMMAN (2007) considerou os valores de estesiometria entre 0 e 0,5 cm, como determinantes de insensibilidade corneal, o que, aplicado ao presente estudo, faria com que os resultados dos grupos GO e GP fossem similares.

Para que o reflexo corneal ocorra, em resposta a um estímulo corneal, este provoca o estímulo das fibras A delta e C presentes na córnea, que, por sua vez, estimulam o núcleo do nervo trigêmio espinhal, levando à despolarização dos motoneurônios do músculo orbicular, o qual, através da ativação do circuito reticular, induz ao reflexo (HENRIQUEZ E EVINGER, 2007). Nesse estudo, provavelmente a concentração utilizada do extrato aquoso de *Ottonia martiana* tenha atuado na ativação mais tardia para a ocorrência do reflexo corneal, o que explicaria a redução significativa da sensibilidade da córnea. Acreditamos que uma concentração maior do extrato causaria total dessensibilização da córnea, como observado no grupo proximetacaína. SHAHINIAN et al. (1997) demonstraram que o uso tópico de proximetacaína diluída, a 0,05%, induziu analgesia mas não anestesia corneal, em pacientes humanos.

A diminuição da sensibilidade corneal difere das observações de CUNICO (2007), que não discorreu sobre esta após a instilação do extrato bruto etanólico de órgãos totais da mesma planta, em coelhos. Tais diferenças podem ser explicadas, pela não utilização do estesiômetro pelo autor, que se baseou em modelo experimental descrito por VOGEL (2002), que utilizou um náilon, sem graduação, com pressão inicial exercida na córnea maior que a máxima exercida pelo estesiômetro de Cochet-Bonnet. Outra condição é a diferença entre os protocolos de produção do extrato aquoso. No presente estudo, foram utilizadas, unicamente, as folhas da planta, e no de CUNICO (2007), os órgãos totais (raiz, caule, folhas e frutos), induzindo, eventualmente, a uma

maior concentração de amidas, entre outras substâncias, irritantes ou tóxicas ao tecido corneal. Embora não se encontrassem resultados em relação à produção de anestesia, é importante citar que o mesmo autor os obteve quando aplicou o extrato de *O. martiana*, por via subcutânea em cobaias, que resultou na diminuição da sensibilidade local, ação que foi similar à da lidocaína utilizada em grupo comparativo (CUNICO, 2007).

No que concerne aos valores da pressão ocular, estes se mantiveram constantes em todos os grupos, nos momentos avaliados. Outrossim, o período de tempo em que foi avaliada a PO pode não ter sido satisfatório.

Os resultados da avaliação clínica mostraram leve hiperemia conjuntival no grupo proximetacaína, em 11 dos 15 animais do grupo, conforme alerta do fabricante do fármaco (Anestalcon[®]) (www.medicinanet.com.br). Nos outros grupos nenhuma alteração clínica foi observada, diferentemente do que fora relatado por CUNICO (2007), que ao instilar extrato bruto etanólico de órgãos totais de *O. martiana* na córnea de coelhos, observou intensa irritação ocular. Sugere-se que a ausência de irritação ocular, no presente trabalho, possa ter decorrido de diversos fatores, entre eles, diferenças significativas entre o tipo de extrato utilizado, no método de preparação do extrato e das partes da planta a serem extraídos os princípios ativos. A utilização de folhas frescas, do solvente álcool hidratado de cereais 70° GL, bem como a resuspensão do extrato em solução fisiológica a 0,9%, na preparação do extrato usado neste experimento, difere do utilizado por CUNICO (2007), no qual não há referência de emprego do extrato preparado somente com folhas. Sabe-se que há diferenças de concentração de princípios ativos nos diferentes órgãos das plantas (GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

Neste estudo, as avaliações foram realizadas no período de, aproximadamente, 20 minutos, tempo hábil para a realização de um completo exame oftálmico. A repetição das avaliações em outros momentos, relativamente à biomicroscopia, à estesiometria corneal, à pressão ocular e ao teste lacrimal de Schirmer permitiria identificar a duração dos efeitos do extrato aquoso de *O. martiana*, bem como possíveis alterações clínicas que decorressem. Adjunto, a utilização de diferentes concentrações do extrato aquoso de *O. martiana* permitiria identificar qual os efeitos mais representativos de cada

concentração, como fora realizado por MAHÉ (2004) em estudo sobre a eficácia e a segurança de diferentes concentrações de bupivacaína, associadas ou não ao ácido hialurônico, para anestesia corneal de seres humanos.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, na forma como a pesquisa fora concebida, é provável admitir:

- O extrato aquoso de *O. martiana* pode ser utilizado como anestésico local, para a realização do exame oftálmico em cães;
- O uso local do extrato aquoso de *O. martiana* diminui a sensibilidade corneal;
- O uso local do extrato aquoso de *O. martiana* não altera a produção lacrimal;
- O extrato aquoso de *O. martiana* não causa alterações clínicas na superfície ocular.

7 REFERÊNCIAS^{***}

ALBUQUERQUE, U. P. **Introdução à etnobotânica**. 1. ed. Recife: Edições Bagaço, 2002. 87 p.

ALMEIDA, K. S.; FREITAS, F. L. C.; PEREIRA, T. F. C. Etnoveterinária: A Fitoterapia na visão do futuro profissional veterinário. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 1, n. 1, p. 67-74, 2006.

ANTUNES, P. A. et al. Spectroscopic characterization of N-isobutyl-6-(p-methoxyphenyl) 2E-4E-hexadieneamide extracted from *Ottonia propinqua*. **Vibrational Spectroscopy**, Budapeste, v. 27, n. 2, p. 175-181, 2001.

BARDELLI, K. C.; KIRIZAWA, M.; SOUSA, A. V. G. O gênero *Piper* L. (Piperaceae) da Mata Atlântica da Microbacia do Sítio Cabuçu-Proguaru. **Hoehnea**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 553-561, 2008.

^{***} ABNT-NR 6023

BARRETT, P. M. et al. Absolute corneal sensitivity and corneal trigeminal nerve anatomy in normal dogs. **Progress in Veterinary & Comparative Ophthalmology**, Santa Barbara, v. 1, n. 4, p. 245-254, 1991.

BARROSO, G. M. et al. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. v. 1, 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 309 p.

BELMONTE, C.; ACOSTA, M. C.; GALLAR, J. Neural basis of sensation in intact and injured corneas. **Experimental Eye Research**, London, v. 78, n. 3, p. 513-525, 2004.

BERTRAND, R. H. C. et al. Anestesia tópica associada à sedação para facoemulsificação. Experiência com 312 pacientes. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Campinas, v. 58, n. 1, 2008.

BINDER, D. R.; HERRING, I. P. Duration of corneal anesthesia following topical administration of 0,5% proparacaine hydrochloride solution in clinically normal cats. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 67, n. 10, p. 1780-1782, 2006.

BLOCKER, T.; VAN DER WOERDT, A. A comparison of corneal sensitivity between brachycephalic and Domestic Short-haired cats. **Veterinary Ophthalmology**, Gainesville, v. 4, n. 2, p. 127-130, 2001.

BROOKS, D. E.; CLARK, C. K.; LESTER, G. D. Cochet-Bonnet aesthesiometer-determined corneal sensitivity in neonatal foals and adult horses. **Veterinary Ophthalmology**, Gainesville, v. 3, n. 2-3, p. 133-137, 2000.

CAMPELO, P. M. S. Carta ao editor - plantas medicinais e seus extratos: a necessidade de estudos continuados. **Estudos de Biologia**, Curitiba, v. 28, n. 62, p. 1-2, 2006.

COCHET, P.; BONNET, R. L'esthésie cornéenne. Sa mesure Clinique. **La Clinique Ophthalmologique**, Paris, v. 4, p. 2-27, 1960.

CORDEIRO, C. H. G.; CHUNG, M. C.; SACRAMENTO, L. V. S. Interações medicamentosas de fitoterápicos e fármacos: *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 15, n. 3, p. 272-278, 2005.

COSTA, S. S.; MORS, W. B. Amides of *Ottonia corcovadensis*. **Phytochemistry**, New York, v. 20, n. 6, p. 1305-1307, 1981.

CUNICO, M. M. et al. Extração de esteróides em frutos de *Ottonia martiana* Miq., Piperaceae, com gás liquefeito. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 6, p. 803-806, 2003a.

CUNICO, M. M. et al. Estudo da atividade antifúngica de *Ottonia martiana* Miq., Piperaceae: Um teste *in vivo*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 77-82, 2003b.

CUNICO, M. M. et al. Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico de raízes e partes aéreas de *Ottonia martiana* Miq. (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 14, n. 2, p. 97-103, 2004.

CUNICO, M. M. et al. Gênero *Ottonia*: uma revisão das principais características botânicas, fitoquímicas e biológicas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 7, n. 2, p. 17-21, 2005.

CUNICO, M. M. ***Ottonia martiana* Miq., Piperaceae**: Um estudo fitoquímico com enfoque multidisciplinar. 2008. 200 p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

CURSINO, J. A.; CORRÊA, M. A. **Avaliação da atividade antifúngica do extrato aquoso de *Ottonia martiana* Miq. (João brandinho), Piperaceae**. 2008. 21 p.

Monografia (Trabalho de Conclusão do Curso de Biologia), Universidade Braz Cubas-Mogi das Cruzes, 2008.

DUKE, T. Local and regional anesthetic and analgesic techniques in the dog and cat: Part I, pharmacology of local anesthetics and topical anesthesia. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 4, p. 883-884, 2000.

DUNSTAN, W. R.; GARNETT, H. J. The constituents of *Piper ovatum*. **Journal of the American Chemical Society**, Washington DC, v. 67, p. 94-100, 1895.

FACUNDO, V. A.; MORAIS, S. M.; FILHO, R. B. Constituintes químicos de *Ottonia corcovadensis* Miq. da floresta Amazônica – atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 79-83, 2004.

FACUNDO, V. A.; SILVEIRA, A. S. P.; MORAIS, S. M. Constituents of *Piper alatabacum* Trel & Yuncker (Piperaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 33, n. 7, p. 753-756, 2005.

FERRO, D. **Fitoterapia - Conceitos clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2006. 532 p.

GALLAR, J. et al. Response of sensory units with unmyelinated fibres to mechanical, thermal and chemical stimulation of the cat's cornea. **Journal of Physiology**, Oxford, v. 468, p. 609-622, 1993.

GELATT, K. N.; MACKAY, E. O. Effect of different dose schedules of latanoprost on intraocular pressure and pupil size in the glaucomatous Beagle. **Veterinary Ophthalmology**, Gainesville, v. 4, n. 4, p. 283-288, 2001.

GIESBRECHT, A. M. et al. (2E,4E)-N-Isobutyl-9-piperonyl-nona-2,4-dienoic Amide from *Ottonia anisum*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 43, n. 12, p. 375-377, 1981.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOLDIM, J. R. **Pesquisa em saúde e direito dos animais**. Porto Alegre: HCPA, 1995. 28 p.

GROSS, M. E.; GIULIANO, E. A. Ocular patients. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. **Lumb & Jones' veterinary anesthesia and analgesia**. 4.ed. Blackwell Publishing: Iowa, 2007. p. 943-954.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: Aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2004. p. 15.

GUIMARÃES, E. F.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G. 1 Ottonia, 2 Sarcorhachis, 3 Potomorphe. In: REITZ, R.; KLEIN, R. M. **Flora Ilustrada Catarinense**. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, 1978, p. 1-26.

HAMOR, R. E. et al. Evaluation of results for Schirmer tear tests conducted with and without application of topical anesthetic in clinically normal dogs of 5 breeds. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 61, n. 11, 2000.

HARKER, D. A modified Schirmer tear test technique. **Veterinary Record**, London, v. 86, n. 7, p. 196-199, 1970.

HENRIQUEZ, V. M.; EVINGER, C. The three-neuron corneal reflex circuit and modulation of second-order corneal responsive neurons. **Experimental Brain Research**, Berlin, v. 179, n. 4, p. 691-702, 2007.

HERRING, I. P. et al. Duration of effect and effect of multiple doses of topical ophthalmic 0,5% proparacaine hydrochloride in clinically normal dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 66, n. 1, p. 77-80, 2005.

KAFARNIK, C.; FRITSCHKE, J.; REESE, S. Corneal innervation in mesocephalic and brachycephalic dogs and cats: assessment using in vivo confocal microscopy. **Veterinary Ophthalmology**, Gainesville, v. 11, n. 6, p. 363-367, 2008.

KLAUMANN, P. R. **Bloqueio peribulbar com ropivacaína 1% em cães**. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

KUZE RATES, S. M.; CHAVES, C. G.; VON POSER, G. L. Investigation of local anesthetic effect and toxicity of *Ottonia propinqua* (Piperaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 16, n. 2, 1997.

LOPES, M. **Contribuição para o estudo fitoquímico de *Ottonia martiana* Miq. – Piperaceae**. 102 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1989.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2002. 576 p.

LUCCI, L. M. D. et al. Efeito do uso de lente escleral cosmética na sensibilidade tátil corneal em *phthisis bulbi*. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, São Paulo, v. 67, n. 5, p. 733-736, 2004.

MAHÉ, I. et al. Efficacy and safety of three ophthalmic inserts for topical anaesthesia of the cornea. An exploratory comparative dose-ranging, double-blind, randomized trial in healthy volunteers. **British Journal of Clinical Pharmacology**, Oxford, v. 59, n. 2, p. 220-226, 2004.

MAKAPUGAY, H. et al. Piperovatine, the tongue numbing principle of *Ottonia frutencens*. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 7, n. 2, p. 235 -238, 1983.

MARFURT, C. F.; MURPHY, C. J.; FLORCZAK, J. L. Morphology and neurochemistry of canine corneal innervation. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, Brookline, v. 42, n. 10, p. 2242-2251, 2001.

MARINHO, M. L. et al. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 64-69, 2007.

MARQUES, A. M. et al. Caracterização de derivado arilbutanoídico em folhas e raízes de *Ottonia anisum* Sprengel. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 18, suppl. 0, p. 709-712, 2008.

MCFERREN, M. A.; RODRIGUEZ, E. Piscicidal properties of piperovatine from *Piper piscatorium*. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 60, n. 2, p.183-187, 1998.

MCFERREN, M. A. et al. In vitro neuropharmacological evaluation of piperovatine, an isobutylamide from *Piper piscatorium* (Piperaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 83, n. 3, p. 201-207, 2002.

MEDEIROS, F. W. et al. Influência do uso tópico de proparacaína na reparação de defeito epitelial corneano. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, São Paulo, v. 63, n. 2, p. 119-122, 2000.

MING. L. C. **Levantamento de plantas medicinais na reserva extrativista Chico Mendes**. 1995. 192 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Julio de Mesquita Filho, Botucatu, 1995.

MÜLLER, L. J. et al. Corneal nerves: structure, contents and function. **Experimental Eye Research**, London, v. 76, n. 5, p. 521-542, 2003.

PESSINI, G. L. et al. Análise farmacognóstica de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck.: Aspectos botânicos e enfoque físico-químico preliminar. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 22, n. 3, p. 209-216, 2003.

PIPPI, N. L.; GONÇALVES, G. F. Anatomofisiologia ocular. In: LAUS, J.L. **Oftalmologia clínica e cirúrgica em cães e em gatos**. 1. ed. Roca: São Paulo, 2009. p. 1-10.

PRING, B. G. Isolation and identification of amides from *P. callosum* synthesis of pipercallosine and pipercallosidine. **Journal of the Chemical Society** (Perkin Transactions 1), Londres, v. 1, p. 1493-1498, 1982.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 57-69, 2001.

RÊGO, M. G. B. et al. Sensibilidade corneana e secreção lacrimal após LASIK. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, São Paulo, v. 66, n. 2, p. 183-188, 2003.

REZENDE, M. S. V. M. et al. Facoemulsificação sob anestesia tópica realizada por residentes do terceiro ano de Oftalmologia. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, Rio de Janeiro, v. 67, n. 2, p. 82-85, 2008.

ROBERTS, S.; ERICKSON, O. Dog tear secretion and tear proteins. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 3, n. 1, p. 1-5, 1962.

ROSSENWASSER, G. O. D. et al. Topical anesthetic abuse. **Ophthalmology**, Rochester, v. 97, p. 967-972, 1990.

SHAHINIAN Jr. L. et al. Dilute topical proparacaine for pain relief after photorefractive keratectomy. **Ophthalmology**, Rochester, v. 104, n. 7, p. 1327-1332, 1997.

SLATTER, D. Técnicas básicas de diagnóstico. In: SLATTER, D. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. 3. ed. São Paulo, 2005. c. 5. p. 97-134.

SONAGLIO, Q. et al. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1999. p. 221-258.

STARTUP, F. C. Corneal ulceration in the dog. **Journal of Small Animal Practice**, London, v. 25, n. 12, p. 737-752, 1984.

STADTBÄUMER, K.; FROMMLET, F.; NELL, B. Effects of mydriatics on intraocular pressure and pupil size in the normal feline eye. **Veterinary Ophthalmology**, Oxford, v. 9, n. 4, p. 233-237, 2006.

VEIGA Jr., V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, 2005.

VOGEL, H. G. Surface anesthesia on the cornea of rabbits In: VOGEL, H. G. **Drug discovery and evaluation: Pharmacological Assays**. 2. ed. Springer: New York, 2002. p. 958.

YUNCKER, T. G. The Piperaceae of Brazil II. *Piper* group V; *Ottonia*; *Pothomorphe*; *Sarcorhachis*. **Hoehnea**, São Paulo, v. 3, p. 29-284, 1973.