

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**COMPARAÇÃO DOS VALORES
ELETORRETINOGRÁFICOS EM PACIENTES CANINOS
COM E SEM ANESTESIA DISSOCIATIVA
(TILETAMINA-ZOLAZEPAM)**

Daniela Moura dos Santos
Médica Veterinária

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**COMPARAÇÃO DOS VALORES
ELETRORETINOGRÁFICOS EM PACIENTES CANINOS
COM E SEM ANESTESIA DISSOCIATIVA
(TILETAMINA-ZOLAZEPAM)**

Daniela Moura dos Santos

Orientadora: Profa. Dra. Paola Castro Moraes

Coorientadores: Dr. Ivan Ricardo Martinez Pádua

Prof. Dr. José Luiz Laus

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Cirurgia Veterinária.

2022

S237c

Santos, Daniela Moura dos

Comparação dos valores eletrorretinográficos em pacientes caninos com e sem anestesia dissociativa (tiletamina-zolazepam) / Daniela Moura dos Santos. -- Jaboticabal, 2022

54 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Paola Castro Moraes

Coorientador: Ivan Ricardo Martinez Pádua

1. Cães. 2. Catarata. 3. Oftalmologia Veterinária. 4. Retina. I.
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: COMPARAÇÃO DOS VALORES ELETORRETINOGRÁFICOS EM PACIENTES CANINOS COM E SEM ANESTESIA DISSOCIATIVA (tiletamina-zolazepam)

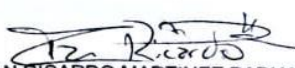
AUTORA: DANIELA MOURA DOS SANTOS

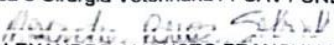
ORIENTADORA: PAOLA CASTRO MORAES

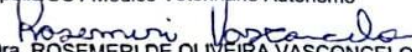
COORDENADOR: JOSÉ LUIZ LAUS

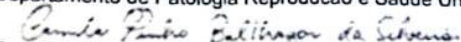
COORDENADOR: IVÂN RICARDO MARTÍNEZ PADUA

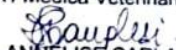
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:


Pós-doutorando IVAN RICARDO MARTINEZ PADUA (Participação Virtual)
Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Dr. ALEXANDRE AUGUSTO FRANCHI DE BARROS SOBRINHO (Participação Virtual)
Florianópolis/SC / Médico Veterinário Autônomo


Profa. Dra. ROSEMERI DE OLIVEIRA VASCONCELOS (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Reprodutiva e Saúde Única / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Dra. CAMILA PINHO BALTHAZAR DA SILVEIRA (Participação Virtual)
Salvador/BA / Médica Veterinária Autônoma


Profa. Dra. ANNELISE CARLA CAMPLESI DOS SANTOS (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 05 de agosto de 2022

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Daniela Moura dos Santos - nascida em 02 de novembro de 1988, na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Graduiu-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em dezembro de 2013. Atuou como residente MEC em Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais na mesma instituição. Em 2016 ingressou como aluna regular do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária, nível de mestrado, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - UNESP - Campus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. José Luiz Laus. Em 2018 ingressou como aluna regular do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária, nível de doutorado pela mesma instituição sob orientação da Prof. Dra. Paola Castro Moraes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que possibilitou que todos os eventos, bons ou ruins, que ocorreram na minha vida, culminassem na realização deste sonho.

Ao professor José Luiz Laus, a quem devo a oportunidade de fazer parte de um grupo de atendimento de excelência e pelo qual tenho enorme admiração e respeito e a professora Paola Castro Moraes por todo apoio, por aceitar o desafio de dar continuidade a um setor com uma história e herança tão importantes, pela dedicação, por ser tão gentil e sensível e me fazer acreditar que mesmo com o mundo em pandemia as coisas dariam certo, por ser um exemplo de ser humano e de profissional para todos seus orientados.

Ao Ivan Ricardo Martinez Pádua por ser a pessoa mais pacienciosa que eu conheço, por todo seu empenho em manter a qualidade do serviço de oftalmologia, sempre prezando pelos pacientes, tal qual o professor Laus, fundamentado em gentileza, serenidade e conhecimento. Meu agradecimento por tudo que me ensinou nesses anos todos com a mesma boa vontade e bom humor de sempre.

Agradeço a Karina Kobashigawa, Tiago Barbalho, Roberta Crivelaro, Roberta Renzo, Camila Balthazar e Alexandre Sobrinho, por terem me recebido tão bem em 2013 e, por conseguinte, me incitarem o sonho de retornar e poder fazer parte dessa equipe tão competente! Os dois últimos, muito mais que colegas foram meus amigos, minha companhia mais agradável, eu amei e sou muito grata por tudo que dividimos esses anos. As colegas que conheci depois, Thais Morato, Gabriela Madruga, Karina Herencia, Ana Pascoli, Flor Claros, Marcella Filezio e Francimery Fachini, obrigada pela amizade e por ensinarem e nutrirem em mim esse sentimento de estar no lugar certo e fazendo a coisa certa para que, um dia, seja uma profissional tão boa quanto vocês. As minhas novas parceiras de atendimento Cinthya Gujansky e Laís Sargi muito obrigada por darem continuidade ao setor e por me permitirem passar um pouco do que aprendi para vocês. Espero de coração que sejam tão felizes quanto eu fui dentro do hospital e dentro da oftalmologia.

A todos os colegas da oftalmologia da UFRGS, em especial a amiga Maíra Pacheco cujo amor pela oftalmologia têm nos acompanhado e fortalecido nossa amizade há mais de 12 anos. Ao professor João Pigatto, que me orientou nos

primeiros passos dessa especialidade. Aos colegas de residência, os quais ainda me ajudam nos casos que atendo e que me alegram com sua amizade e parceria.

As minhas *roommates* Camila Baptista, Daniella Armani e Pauline Lima, com quem aprendi que república é muito mais do que dividir despesas, é dividir memórias, responsabilidades, alegrias e tristezas. A todas as amigas – agregadas que são como moradoras, que tem liberdade de entrar e sair, que sabem tudo que se passa e que não deixaram eu me sentir sozinha mesmo longe dos pais, pois se fizeram família sempre que precisei, que se revezaram e cuidaram de mim nos momentos em que desabei. Minha eterna gratidão pela amizade sincera de vocês todas: Ana Paula, Tryssia Moi, Daniele Vella e Isabela Peixoto. Eu amo vocês.

Agradeço aos meus familiares e amigos de Porto Alegre dos quais em busca de um sonho eu tive que me afastar fisicamente, mas que nunca deixei de amar.

Aos professores, funcionários, residentes, pós-graduandos e estagiários do Hospital Veterinário da FCAV, pela ajuda, aprendizado e companhia no dia-a-dia. Bem como agradeço aos tutores e aos cães que participaram da pesquisa, e a CAPES pela bolsa concedida.

Por fim e sempre mais importante, não só agradeço, mas dedico este trabalho aos meus pais, cujo amor e apoio sempre foram incondicionais. É por eles que busco sempre ser alguém melhor e espero que possa ser motivo de orgulho, que mereça tanta dedicação e carinho investidos e que possa retribuir da mesma forma. Ao meu companheiro de graduação, residência, mestrado e doutorado: Fiapo, meu filho de quatro patas e coração enorme que me deixou lindas lições e lembranças.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Eletrofisiologia Ocular do Serviço de Oftalmologia, Hospital Governador Laudo Natel e Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/Unesp), Câmpus de Jaboticabal, com auxílio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Científico de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq, processo número 467289/2014-0), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp, processo número 2012/17308-5 e 2013/01494-7) e da Pró-Reitoria de Pesquisa da Unesp.



SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iv
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Anatomia ocular	16
2.2 Retina	18
2.2.2 Epitélio pigmentar da retina (EPR).....	20
2.2.3 Neurorretina	21
2.3 Eletroretinografia (ERG).....	23
2.4 Tiletamina – Zolazepam	28
3. MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 Considerações quanto à ética	31
3.2 Seleção dos pacientes	31
3.3 Eletroretinografia.....	32
3.4 Análise estatística	34
4. RESULTADOS	35
4.1 Animais estudados	35
4.2 ERG.....	36
5. DISCUSSÃO.....	38
6. CONCLUSÃO	42
7. REFERÊNCIAS.....	42
8. APÊNDICE A.....	54

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "COMPARAÇÃO DOS VALORES ELETORRETINOGRÁFICOS EM PACIENTES CANINOS COM E SEM ANESTESIA DISSOCIATIVA (TILETAMINA/ZOLAZEPAM)", protocolo nº 1639/21, sob a responsabilidade do Profa. Dra. Paola Castro Moraes, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 19 de agosto de 2021.

Vigência do Projeto	01/08/2021 a 16/03/2022
Espécie / Linhagem	Canina — Canis familiaris
Nº de animais	20
Peso / Idade	5-30kg / 7-13 anos
Sexo	Machos ou fêmeas
Origem	Casuística de atendimento do Setor de Oftalmologia do Hospital Veterinário Laudo Natel

Jaboticabal, 19 de agosto de 2021.


Prof. Dra. Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

COMPARAÇÃO DOS VALORES ELETRORRETINOGRÁFICOS EM PACIENTES CANINOS COM E SEM ANESTESIA DISSOCIATIVA (TILETAMINA-ZOLAZEPAM)

RESUMO - A eletrorretinografia (ERG) é um exame não invasivo amplamente utilizado em humanos e em animais, capaz de avaliar a atividade eletrofisiológica da retina. O exame é rotineiramente empregado na seleção de pacientes para a cirurgia de catarata, na detecção de doenças hereditárias, no diagnóstico de retinopatias degenerativas e em estudos farmacológicos que avaliam as respostas terapêuticas ou possíveis efeitos tóxicos e deletérios na retina. Em cães, assim como em outras espécies animais, a sedação ou anestesia geral é comumente indicada para a realização do exame, objetivando evitar que a movimentação do paciente, da musculatura ocular e/ou o estresse, possa causar interferências e alterar a resposta nas ondas do ERG. Nesse sentido, este trabalho tem como objetivo investigar os efeitos na resposta das ondas eletrorretinográficas de cães sem anestesia em comparação com cães anestesiados. O ERG foi realizado em 48 olhos de 24 pacientes portadores de catarata, machos ou fêmeas, de diferentes raças, com idade entre um e 14 anos. Os cães foram divididos e avaliados em dois grupos: Grupo 1 (G1), pacientes acordados (n=12); Grupo 2 (G2) pacientes anestesiados com tiletamina-zolazepam por via intravenosa, na dose de 6 mg/kg (n=12). Para mensuração das amplitudes (AMP) e tempo implícito das ondas (TI), na fase escotópica (bastonetes e resposta mista), o exame foi realizado após 20 minutos de adaptação ao escuro e dilatação pupilar prévia. Para a fase fotópica (cones) deu-se um intervalo de 10 minutos de adaptação à luz. Teste de Wilcoxon e de Mann-Whitney foram utilizados para análise estatística e valores de P iguais ou inferiores a 0,05 foram considerados significativos. Para ambos os grupos avaliados não houve diferença nas respostas mistas e dos cones, mas foi observado aumento na AMP e menor TI nos bastonetes dos cães do G1. Ocorreu ainda, diminuição da AMP e aumento no TI de onda em cães mais velhos bem como uma correlação positiva entre ondas-a e onda-b e o peso dos pacientes. Os resultados do presente estudo sugeriram que o protocolo utilizado do ERG pode ser realizado com sucesso e precisão em cães alertas sem comprometimento da forma dos traçados eletrorretinográficos. A anestesia geral dissociativa é eficaz, porém, levará a mudanças na AMP e TI das ondas.

PALAVRAS-CHAVE: ERG; oftalmologia veterinária; protocolo; retina.

COMPARISON OF ELECTRORETINOGRAPHIC VALUES IN CANINE PATIENTS WITH AND WITHOUT DISSOCIATIVE ANESTHESIA (TILETAMINE-ZOLAZEPAM)

ABSTRACT – Electroretinography (ERG) is a non-invasive test widely used in humans and animals that assesses the electrophysiological activity of the retina. The test is routinely used in the selection of patients for cataract surgery, in the detection of hereditary diseases, in the diagnosis of degenerative retinopathies, and in pharmacological studies that assess therapeutic responses or possible toxic and deleterious effects on the retina. In dogs, as in other species, sedation or general anesthesia is commonly indicated for the examination, aiming to prevent the patient's movement, eye muscle movements and/or stress from causing interference and altering the wave response of the ERG. Therefore, the aim of the current study was to investigate the effects on electroretinographic wave response of dogs without anesthesia compared to anesthetized dogs. The ERG was performed on 48 eyes of 24 patients with cataracts, male or female, of different races, aged between one and 14 years. Dogs were divided into two groups: Group 1 (G1), awake patients (n=12); Group 2 (G2) patients anesthetized with intravenous tiletamine-zolazepam at a dose of 6 mg/kg (n=12). To measure the amplitudes (AMP) and implicit time (IT) of the waves, in the scotopic phase (rods and mixed response), the exam was performed after 20 minutes of dark adaptation and previous pupillary dilation. For the photopic phase (cones) there was an interval of 10 minutes to adapt to the light. Wilcoxon and de Mann-Whitney test were used for statistical analysis and P values equal to or less than 0.05 was considered significant. For both groups, no significant differences were identified in mixed or cone responses, but an increase in rods AMP and a lower TI of G1 were observed. The a-wave amplitudes and implicit times were significantly shorter in older dogs, as well as a positive correlation between a-wave and wave-and the weight of the patients. The study results suggest that the ERG protocol can be successfully and accurately performed in conscious dogs without compromising the wave forms. General anesthesia is effective, however, will lead to changes in the ERG waves AMP and IT.

KEYWORDS: ERG; protocol; retina; veterinary ophthalmology.

LISTA DE ABREVIATURAS

AMP	Amplitude
ARVO	<i>Association for Research in Vision and Ophthalmology</i>
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cm	Centímetros
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
ECVO	<i>European College of Veterinary Ophthalmologists</i>
EPR	epitélio pigmentar da retina
ERG	eletrorretinografia
FCAV	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
ISCEV	<i>International Society for Clinical Electrophysiology of Vision</i>
IV	Intravenoso
mcd.s/m ²	milicandelas segundos por metros quadrados
min	minutos
mg/kg	miligramas por kilograma
ms	milissegundos
μV	microvolts
PERG	eletrorretinograma padrão
s	segundos
SARDS	degeneração súbita adquirida da retina
TI	Tempo implícito
UNESP	Universidade Estadual Paulista

1. INTRODUÇÃO

A retina é formada por várias camadas de células fotossensíveis, capazes de transformar um estímulo luminoso em energia elétrica, fenômeno conhecido como fototransdução (Bacellar et al., 2008). Por se tratar de um tecido localizado na porção posterior do bulbo ocular, sua avaliação requer habilidade e equipamentos específicos. Em 1851, a observação do fundo ocular foi possível através da invenção do oftalmoscópio monocular direto pelo Hermann von Helmholtz, auxiliando no diagnóstico das retinopatias na sua época (Ávila, 2003). Embora a oftalmoscopia permita uma avaliação morfológica da retina, uma ferramenta diagnóstica que acesse sua funcionalidade se faz necessária. A eletrorretinografia (ERG) representa uma dessas modalidades de exames eletrofisiológicos da visão, permitindo a avaliação individual das células fotorreceptoras e sua conexão com o córtex visual cerebral (Aguirre, 1973; Ekesten, 2013).

O ERG é um exame objetivo, não invasivo, capaz de registrar potenciais elétricos dos fotorreceptores da retina, denominados cones e bastonetes (Tzekov e Arden, 1999). Após um estímulo luminoso, as mudanças iônicas nos espaços intra e extracelulares do tecido retiniano podem ser medidas e representadas por traçados, consistindo em uma série de ondas positivas e negativas (Schaeppi e Liverani, 1977). A primeira deflexão negativa (onda-a) reflete uma resposta cumulativa das células fotorreceptoras da retina (cones e bastonetes) (Gum, 1980). Já a onda-b é o próximo pico positivo e representa a resposta das células bipolares e de Muller, enquanto a onda-c, uma terceira onda de deflexão negativa, expressa a polarização do epitélio pigmentar da retina (EPR) (Kommonen e Raitta 1987; Yanase et al., 1995; Komaromy et al., 1998).

Segundo a *Internacional Society for Clinical Electrophysiology of Vision* (ISCEV), existem três tipos de ERG: o de campo total, o padrão e o multifocal. Todos requerem três componentes essenciais no eletrorretinógrafo: os eletrodos, um sistema de gravação e uma fonte de luz (Johnson et al., 2018). Na veterinária, o ERG de Campo Total é o mais utilizado (Narfström et al., 2002; Ekesten et al., 2013), e as principais indicações para seu uso incluem a avaliação da função retiniana antes da cirurgia de catarata, o diagnóstico precoce de doenças retinianas degenerativas

hereditárias e o diagnóstico diferencial entre neurite óptica, cegueira central, e síndrome da degeneração súbita adquirida da retina (SARDS) (Ofri, 2002; Ekesten et al., 2013; Wilkie e Colitz, 2013). Também conhecido como “Full-Field Flash ERG” o exame é capaz de fornecer cinco respostas: a resposta escotópica obtida pelos bastonetes, resposta escotópica máxima, potencial oscilatório, resposta fotópica obtida pelos cones e a resposta a estímulos repetitivos rápidos (*flicker* a 30Hz) (Marmor et al., 2004).

Diversos fatores podem influenciar as respostas eletrorretinográficas, sejam eles fatores fisiológicos ou relacionados aos instrumentos (Mentzer et al., 2005). A espécie, a raça, a idade, a temperatura corporal, o tamanho pupilar e possíveis comorbidades que afetem o grau de perfusão tecidual do paciente, são alguns exemplos de fatores fisiológicos que alteram os resultados do exame (Parry et al., 1955; Spiess, 1994; Mizota e Adachi-Usami, 2002; Ofri, 2002; Kong e Gouras, 2003; Ekesten et al., 2013). Dentre os fatores extrínsecos ao paciente, podemos incluir o tipo de dispositivo e eletrodos utilizados, bem como distúrbios eletrostáticos e eletromagnéticos. O modelo, a localização e a condutibilidade dos eletrodos exercem um grande impacto no resultado do exame (Mentzer et al., 2005).

Em razão da grande variedade de protocolos utilizados para a execução do exame e dos fatores supracitados que podem alterá-lo, em 2002 o ECVO (*European College of Veterinary Ophthalmologists*) publicou o primeiro *Guideline* com as diretrizes para realização do ERG em cães (Narfström et al., 2002). Apesar de ser semelhante ao implementado pelo ISCEV em humanos em 1989 (Marmor et al., 1989), diverge significativamente ao recomendar que os pacientes caninos sejam anestesiados (Narfström et al., 2002; Ekesten et al., 2013). Sabe-se que para obter registros confiáveis de ERG, é importante imobilizar adequadamente os animais testados. Rotações do bulbo ocular, piscar de olhos, contração muscular ou movimentação da cabeça podem causar os chamados “ruídos” nas ondas (artefatos) (Acland, 1988). Apesar da última atualização sobre o assunto publicada por Ekesten e colaboradores em 2013, que reitera a importância da anestesia geral durante o ERG, muitos oftalmologistas veterinários realizam o exame em pacientes acordados ou apenas sob sedação. A relutância de alguns médicos, se deve

provavelmente ao aumento do custo financeiro para o cliente, ao possível risco para o paciente e maior tempo necessário para o procedimento (Freeman, et al., 2013).

Sabe-se que tanto a sedação quanto a anestesia geral alteram as amplitudes e os tempos implícitos das ondas e que cada anestésico exerce um impacto específico nos registros de ERG (Kommonem, 1988; Yanase e Ogawa, 1997; Kommonen et al., 2007; Norman et al., 2008; Jeong et al., 2009; Lin et al., 2009). Tendo isso em vista, é necessário eleger o agente anestésico e a dosagem que interfere o mínimo possível na fototransdução e na função neuronal do tecido retiniano (Freeman, et al., 2013).

Nos últimos anos, a tiletamina-zolazepam tem sido um fármaco de eleição para realização de exames clínicos em pacientes pouco colaborativos ou em cirurgias de curta duração devido à sua rápida indução e curto tempo de recuperação (Hellyer e Muir, 1989; Lin et al., 2009). No ERG, o seu uso culmina em traçados com menos interferências e com valores de ondas mais confiáveis (Chaudhary et al., 2003; Lin et al., 2009). Embora diversas comparações entre protocolos anestésicos para o exame eletrorretinográfico encontrem-se descritos na literatura, (Kommonem, 1988; Yanase e Ogawa, 1997; Kommonem et al., 2007; Norman et al., 2008; Jeong et al., 2009; Lin et al., 2009), estudos que avaliem a interferência nos traçados das ondas em pacientes acordados são escassos (Freeman, et al., 2013).

Ante o exposto e visando identificar opções e padronizar valores na realização do exame eletrorretinográfico, aliado ao fato de que somente a sedação comumente utilizada não elimina os fatores que ensejam artefatos ou variações nas amplitudes e tempos implícitos das ondas, o presente estudo objetivou comparar os registros do ERG obtidos em cães acordados e sob anestesia geral dissociativa utilizando tiletamina-zolazepam (Zoletil®).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia ocular

Sumariamente, o sistema ocular nos animais é formado pelos anexos e pelo bulbo ocular propriamente dito. Os anexos são compostos pela órbita, pelos músculos e gordura extraorbitais, pelas pálpebras, conjuntiva, glândulas e pelo filme lacrimal. Os anexos têm como função proteger o bulbo, garantido a homeostasia da superfície

ocular e por conseguinte preservando a visão (Gelatt, 2013). O bulbo ocular pode ser dividido em três túnicas ou camadas dispostas concentricamente (Junqueira e Carneiro, 2004). A túnica fibrosa, mais externa, é formada pela córnea e pela esclera sendo a região de transição entre elas denominada limbo. Ambas são compostas de tecido colágeno muito denso que, resistindo à pressão interna, confere forma e firmeza ao olho (Dyce et al., 1997). A camada média (túnica vascular ou uveal) é formada pela íris, pelo corpo ciliar e pela coróide e a túnica nervosa é formada pela retina e parte do nervo óptico (Samuelson, 2013) (Figura 1).

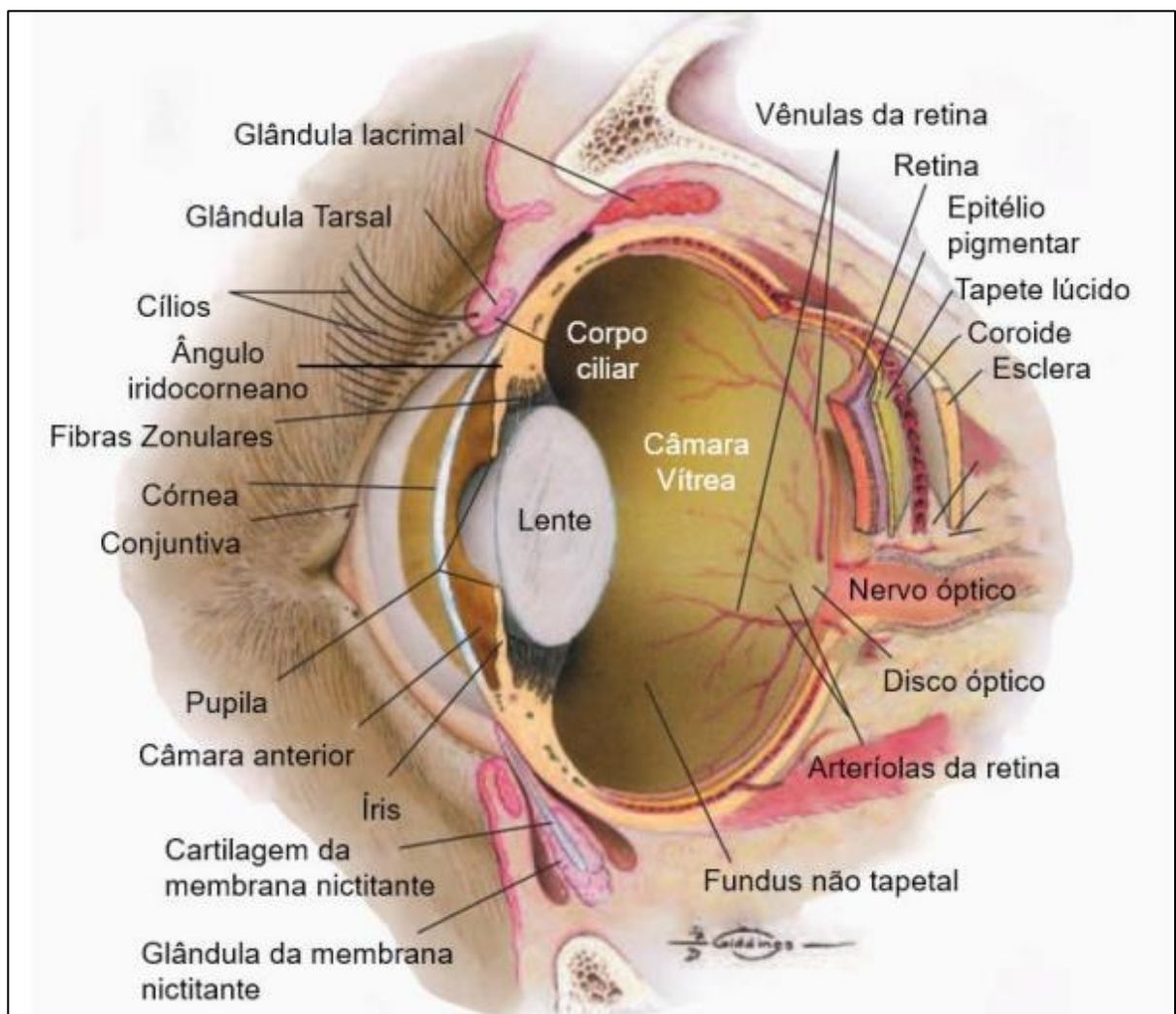


Figura 1. Figura ilustrativa de um corte longitudinal do bulbo ocular de um cão (Adaptação - Miller, 2008).

Além desses envoltórios, o olho apresenta o cristalino ou lente, uma estrutura biconvexa transparente inserida atrás da íris, que é mantida por um ligamento circular, chamado de zônula (Junqueira e Carneiro, 2004). Essa estrutura, juntamente com o humor aquoso e o humor vítreo, compõem os meios transparentes do bulbo ocular sendo essas últimas responsáveis pela pressão interna que mantém o globo distendido, bem como pela transmissão e refração dos raios luminosos sobre a retina (Gelatt, 2013).

O sistema visual capta luz e a foca sobre os fotorreceptores, transdutores que convertem a luz em impulsos elétricos para a passagem pelo córtex visual, no qual a sensação da visão ocorre. Esse processo neural inicial ocorre dentro da retina (Slatter, 2005).

2.2 Retina

Datam da primeira metade do século XIX os primeiros relatos quanto à resposta do olho dos vertebrados à luz. Ondas eletromagnéticas, quando adentram o olho, ensejam alterações nos potenciais elétricos das células da retina, se propagando por meio de suas camadas até atingir o nervo e o trato ópticos, bem como o tálamo (Sims, 2007).

A retina é uma camada delgada fotossensível, que reveste o segmento posterior do olho. Componente do sistema nervoso, tem por função capturar o estímulo luminoso e transformá-lo em elétrico para, após ser conduzido ao córtex cerebral, ser interpretado (Bedford, 1996; Oriá et al., 2004; Samuelson, 2013). Sendo o tecido metabolicamente mais ativo do corpo (por unidade de peso), como indicado pelo consumo de oxigênio, seu suporte sanguíneo advém da circulação coroidal que supre toda a retina periférica e as camadas retinianas nas proximidades do disco óptico, além de haver uma possível participação do humor vítreo (Brooks, 2005).

A retina é constituída por uma camada interna e uma camada externa, sendo a camada externa (*pars ceca*) formada pelo epitélio pigmentar da retina (EPR) e a camada interna sendo a parte neural ou sensorial (*pars optica*) (Curtis e Lightfoot, 1993; Bedford, 1996; Jones et al., 2000). A camada externa da retina estende-se para fora da papila, sobre o corpo ciliar e a superfície posterior da íris até a borda da pupila.

O EPR faz limite com a coróide por meio da membrana de Bruch e é caracterizado por uma monocamada de células hexagonais responsáveis por exercer um importante papel no metabolismo da retina, incluindo o transporte de nutrientes, fagocitose de segmentos externos de fotorreceptores e proteção destes à luz brilhante (Ropstad, 2007).

A camada interna da retina estende-se da junção do corpo ciliar (*ora ciliar* da retina) até a papila óptica e continua como nervo óptico. Elencam-se, como componentes da neurorretina, três grupos principais de células dispostos em nove camadas, que juntamente com o EPR podem ser identificados, de fora para dentro na seguinte ordem (Figura 2):

1. epitélio pigmentar da retina (EPR)
2. camada de células fotorreceptoras (cones e bastonetes)
3. membrana limitante externa
4. camada nuclear externa
5. camada plexiforme externa
6. camada nuclear interna
7. camada plexiforme interna
8. camada de células ganglionares
9. camada de fibra nervosa
10. membrana limitante interna

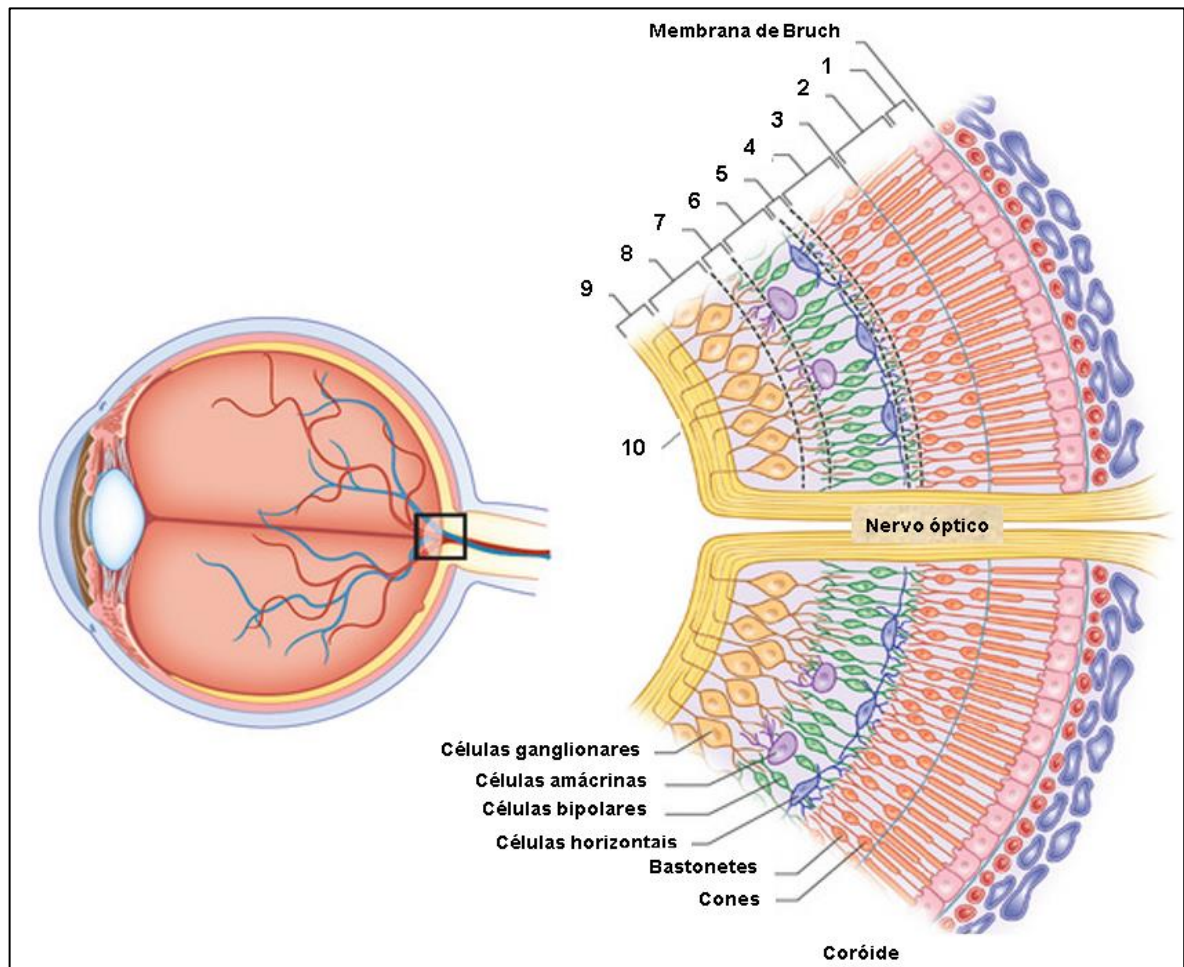


Figura 2. Representação esquemática de corte da retina canina em região de disco óptico evidenciando a ordem das camadas do meio externo (1) para o interno (10) e suas respectivas células (Ávila, 2003).

2.2.1 Epitélio pigmentar da retina (EPR)

O EPR é uma camada de células poligonais planas que formam a camada mais externa da retina. É a continuação do exterior da camada epitelial pigmentada do corpo ciliar e deriva da camada mais externa da papila óptica, sendo mais justaposto a coróide do que ao resto da retina (Herron Jr e Riegel., 1974). Esta camada é importante no transporte de nutrientes do coriocapilar para as camadas externas da retina por ser um aporte sanguíneo abundante e contínuo entre o EPR e os coriocapilares subjacentes. Cada célula envia processos citoplasmáticos para

envolver os fotorreceptores e assim isolá-los da luz para aumentar sua sensibilidade individual. Eles também fagocitam o exterior dos segmentos de fotorreceptores à medida que são continuamente eliminados (Ts'o e Friedman, 1967). As células são geralmente densamente pigmentadas, mas são desprovidas de pigmento quando sobrepostas à coróide dorsal que contém o *tapetum lucidum*. A ausência de melanina permite que a luz possa passar pelo EPR para o *tapetum* e, em seguida, refletir de volta para os receptores sensíveis à luz (Samuelson, 2013).

2.2.2 Neurorretina

A camada fotorreceptora é composta pelos cones e bastonetes, os quais apresentam pigmentos visuais no interior de estruturas semelhantes a discos empilhados achatados (Slatter, 2005; Ropstad, 2007). Os bastonetes funcionam em iluminação fraca ou reduzida e permitem a detecção de formas e movimentos. Já os cones, funcionais em luz forte, fornecem acuidade visual nítida e sensibilidade à cor (Prince, 1960). A população de cones é mais densa na região central da retina da maioria dos animais, sendo que os primatas, diversas aves e algumas espécies reptilianas possuem regiões ricas em cones completamente livre de bastonetes. Essas regiões são chamadas de fóveas e são responsáveis pela percepção de diferentes matizes de cor, alta resolução e fixação binocular (profundidade e percepção). Nenhum dos animais domésticos tem fóvea, mas uma área de alta densidade de cones é identificada na *área centralis*. Esta área fica 3-4mm dorsolateral ao disco óptico no cão e gato (Henkind, 1966; Donovan et al., 1974b).

A camada nuclear externa apresenta os núcleos dos cones e dos bastonetes e também fibras que conectam a célula dos segmentos internos dos fotorreceptores à membrana limitante interna (Bedford, 1996; Jones et al., 2000; Slatter, 2005; Samuelson, 2013). A camada plexiforme externa é dotada das extensões axonais dos fotorreceptores, inclusas nos citoplasmas das células de Müller (Slatter, 2005; Ropstad, 2007). A camada plexiforme interna é constituída por axônios de células bipolares, células horizontais, amácrinas e dendritos de células ganglionares. A camada de células ganglionares apresenta os corpos celulares destas e seus

dendritos e a camada de fibras nervosas é constituída pelos axônios das células ganglionares.

E por fim, a camada interna da retina é a membrana limitante interna, membrana basal à qual as extremidades internas das células de Müller encontram-se fortemente aderidas (Slatter, 2005; Ropstad, 2007) (Figura 3).

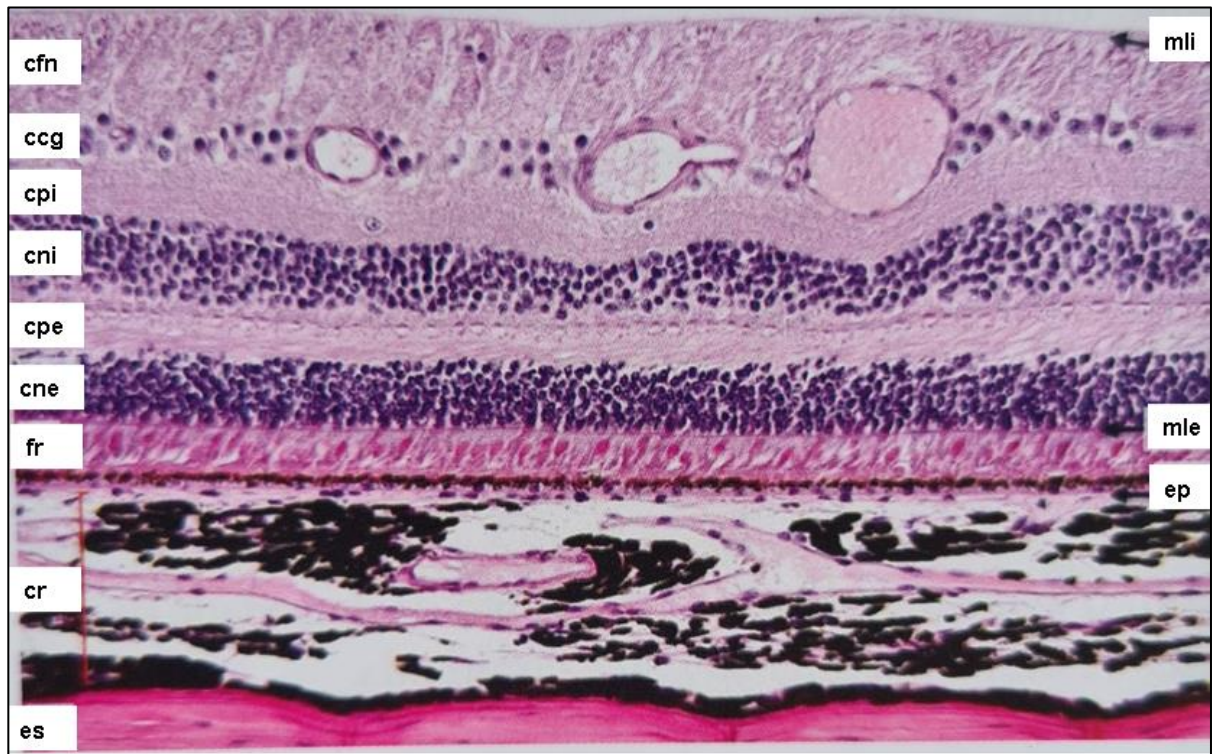


Figura 3. Fotomicrografia de olho canino. Anatomia microscópica da retina e coróide. **mli:** membrana limitante interna; **cfn:** camada de fibras nervosas; **ccg:** camada de células ganglionares; **cpi:** camada plexiforme interna; **cni:** camada nuclear interna; **cpe:** camada plexiforme externa; **cne:** camada nuclear externa; **mle:** membrana limitante externa; **fr:** fotorreceptores; **ep:** epitélio pigmentar; **cr:** coróide; **es:** esclera. H&E. 10x. Cortesia de Comparative Ocular Pathology Laboratory of Wisconsin (COFLOW), Madison, EUA.

2.3 Eletroretinografia (ERG)

O alemão Emil Heinrich Du Bois-Reymond (1818-1896), considerado o fundador da eletrofisiologia moderna, foi o primeiro pesquisador a observar um potencial elétrico vindo do olho quando colocou um eletrodo na superfície da córnea de um peixe em 1849 (Drazek et al., 2014). Já em 1865, o sueco Holmgren descobriu que existia resposta elétrica no olho após um estímulo luminoso, estudando olhos de anfíbios. Quinze anos após, retirando o segmento anterior do olho de sapos e colocando um eletrodo diretamente na superfície da retina, o pesquisador afirmou que esta estrutura de tecido nervoso era a responsável pela resposta elétrica gerada no olho (Holmgren, 1870). Na mesma época, outro pesquisador chamado Dewar relatou descobertas similares às de Holmgren. Ele mostrou que após um estímulo luminoso incidir sobre o eixo pupilar ocorria um pequeno movimento observado num galvanômetro, sugerindo que tal impulso elétrico positivo era produzido pela retina (Rouck, 2006). O galvanômetro é um instrumento que pode medir correntes elétricas de baixa intensidade, ou a diferença de potencial elétrico entre dois pontos (Perlman, 2008).

Em 1877, Dewar registrou o primeiro eletroretinograma no homem, mas não houve publicação do trabalho (Dantas, 1995). Em 1908, Einthoven e Jolly obtiveram excelentes dados detalhados do eletroretinograma de um olho de sapo, utilizando novamente um galvanômetro. Foram, ainda, os primeiros a classificar as diferentes porções do ERG usando letras: onda-a, primeiro segmento de onda negativo; a onda-b, segmento de onda positivo posterior a onda-a; e onda-c, a outra porção positiva e um pouco menor (Einthoven e Jolly, 1908). Ragnar Granit (Nobel em 1933), utilizando gatos em estado de narcose induzida por éter e diferentes graus de oclusão da artéria carótida, conseguiu desdobrar os componentes do ERG (Porto, 2004). O pesquisador observou a presença de três potenciais durante o exame, os quais nomeou: PI, PII e PIII, de acordo com o desaparecimento deles durante a anestesia e hipóxia.

Com o passar dos anos, mais estudos sobre os componentes do ERG ocorreram e pôde ser observada a relação das porções da retina com as ondas do ERG. A onda-a (onda inicial negativa), é formada pelas correntes iônicas extracelulares geradas pelos fotorreceptores (cones e bastonetes). A onda-b (onda

positiva maior e mais lenta) tem sua origem controversa, mas admite-se que resulte da despolarização das células bipolares e de Müller, transmitindo os sinais dos fotorreceptores para as células ganglionares da retina (Heckenlively e Arden, 2006). Estudos mais recentes mostram a sua maior relação com as células bipolares e não com o fluxo de potássio (K^+), que flui de permeio às células de Müller (Sims, 2007). Kofuji et al (2000), comparou ERGs de camundongos transgênicos Kir4.1 sem canais de K^+ nas células de Müller com camundongos saudáveis. A pesquisa mostrou que os valores das amplitudes da onda-b não diferiram entre os dois tipos de camundongos, sugerindo que a onda-b não está associada à atividade dessas células. (Kofuji et al., 2000). As células amácrinas estão envolvidas na criação da onda-b e suas respostas, os chamados potenciais oscilatórios (OPs), são sobrepostos na parte ascendente do traçado da onda b (Heynen et al., 1985; Asi e Perlman 1992) (Figura 4-A).

Reconhece-se ainda, uma terceira onda de deflexão negativa, a onda-c (onda positiva de aparecimento bem mais tardio), que pode ser observada quando é feito um tipo especial de ERG, o ERG de longos flashes (Gum, 1980). Enquanto as onda-a e a onda-b aparecem na escala de milissegundos (ms), a onda-c aparece na escala de segundos (s). Steinberg e colegas (1973) provaram que a origem dessa onda se deve a uma redução na concentração de íons K^+ no espaço sub-retiniano, causando polarização do EPR. A avaliação da onda-c não é rotineira, e geralmente só é pesquisada quando já se sabe que há algo errado com o ERG padrão e, conseqüentemente, com a retina. Em veterinária, é pouco considerada uma vez que só se consegue captá-la em um pequeno percentil de animais adultos (Oriá et al., 2004; Sims, 2007).

A interpretação dos ERGs gerados requer a determinação da amplitude e do tempo implícito das ondas supracitadas (tempo até o pico). A amplitude da onda-a é medida da linha de base até o pico negativo da onda-a e a amplitude da onda-b é medida desse pico até o próximo pico positivo da onda-b.

Os tempos implícitos da onda-a e onda-b são medidas a partir do flash luminoso de início até o pico negativo da onda-a e ao pico positivo da onda b, respectivamente

(Narfström et al., 2002; Ekesten et al., 2013) (Figura 4-B).

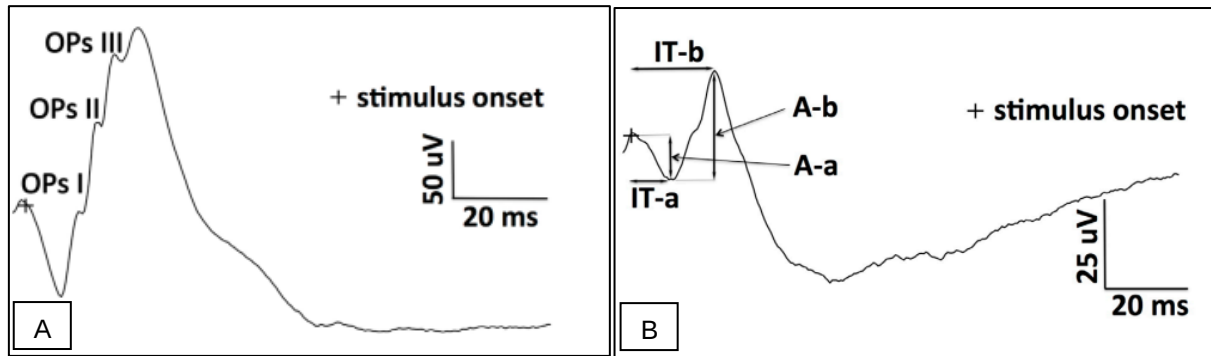


Figura 4. Eletrorretinograma de um canino macho de 5 anos de idade sob estímulo luminoso de 3 cd.s/m² e 30 cd.s/m² respectivamente. (A) Resposta mista demonstrando os potenciais oscilatórios sobrepostos na porção ascendente da onda-b (POs I-III). (B) Resposta de cones demonstrando IT-a = tempo implícito da onda-a; IT-b = tempo implícito da onda-b; A-a = amplitude da onda-a; A-b = amplitude da onda-b. As barras de calibração estão indicadas no lado direito. O marcador (+) indica o início do estímulo luminoso (Drazek et al., 2014).

Por meio de estudos e do melhor entendimento sobre os componentes do ERG, este exame foi sendo aperfeiçoado e introduzido na rotina da oftalmologia clínica (Komaromy et al., 1998). Desde então, a eletrorretinografia tem sido estudada e empregada em seres humanos e em espécies animais, por ser um bom indicador para avaliação objetiva das condições funcionais da retina (Yanase et al., 1995). Aviva-se que ela não é considerada ferramenta diagnóstica para se aferir a qualidade, mas sim a percepção visual (Sims, 2007). Na medicina, o ERG é utilizado tanto para diagnosticar como para avaliar a progressão de degenerações da retina, intoxicações e, no caso de pacientes com diabetes, para diagnosticar e acompanhar a retinopatia diabética proliferativa e não proliferativa (Ofri et al., 1993). Notadamente em animais, técnicas diagnósticas auxiliares como essas são valiosas, conquanto estas muitas vezes não expressam sintomas objetivos de afecções retinianas (Komaromy et al., 2002; Maehara et al., 2005).

Na veterinária, utiliza-se o ERG na avaliação da integridade funcional da retina, do nervo óptico e das vias visuais (Komaromy et al., 2002; Maehara et al., 2007), e ainda, no pré-operatório de facectomias (Yanase et al., 1995; Ofri, 2002). Ademais, os animais servem como importante modelo biológico para o estudo das degenerações retinianas que acometem o homem (Petersen-Jones et al., 2006). Em certos distúrbios hereditários funcionais da retina, o ERG pode ser a única ferramenta diagnóstica (Yanase et al., 1995). São exemplos, a displasia de cones e de bastonetes dos tipos 1 e 2 em setters e em collies, a displasia de cones e a degeneração precoce da retina em elkhounds, a atrofia de cones e de bastonetes em cocker spaniels e em labradores, a displasia de fotorreceptores em schnauzers, a degeneração hereditária de cones no malamute do alaska, a cegueira noturna congênita estacionária em briards e a atrofia progressiva da retina no terrier tibetano e no daschshund pêlo longo (Zhang et al., 1999; Oriá et al., 2004). Tais formas de retinite pigmentosa possuem similaridades fenotípicas e genéticas com as dos seres humanos, fazendo dos cães modelo experimental factível ao entendimento de mecanismos patogênicos dessas doenças (Beltran, 2009).

Segundo Miyake e colaboradores (2008), o eletrorretinógrafo é formado pelos eletrodos, pela fonte de estímulo luminoso e o aparelho que capta e registra o estímulo. São três eletrodos principais: o eletrodo que capta a resposta (*recording electrode*), o eletrodo referência (*reference electrode*) e o eletrodo “terra” (*ground electrode*). O primeiro fica localizado em contato com a córnea ou próximo à conjuntiva bulbar, sendo que o modelo mais utilizado é a lente de contato que possui um círculo de ouro para a condução do estímulo (ERG-jet lens). O eletrodo referência pode estar incorporado a lente de contato (no caso dos eletrodos bipolares) ou não (no caso dos eletrodos monopolares). Quando sozinho, deve estar localizado próximo a órbita, na região temporal, cerca de 3 a 5 cm do canto temporal do olho que está sendo examinado (Mentzer et al., 2005). O eletrodo “terra” pode estar localizado em qualquer parte do corpo, sendo que normalmente é posicionado na região occipital. Com o avanço da tecnologia, particularmente dos microprocessadores e diminuição do tamanho dos amplificadores de sinal elétrico os modelos foram se tornando cada vez

mais compactos e portáteis, qualidade importante na prática oftalmológica veterinária (Bacellar et al., 2008) (Figura 5).



Figura 5. Exames eletrorretinográficos em várias espécies de animais. **(A)** Exame sendo realizado em um exemplar de orangotango (*Pongo pigmeus*) empregando o aparelho de ERG HMsERG (RetVet Corp., Columbia, MO) **(B)** Detalhe da localização do eletrodo monopolar do tipo “ERG-jet lens” durante o exame em um exemplar de Pingüim-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*); **(C)** Detalhe de um estimulador de campo inteiro durante o exame em um cão (*Canis familiaris*) da raça Cardigan Welsh Corgi; **(D)** Detalhe da localização do eletrodo bipolar do tipo Burian-Allen no mesmo cão. **(E)** Ovelha (*Ovis aries*) da raça Suffolk durante exame empregando um HMsERG (Bacellar et al., 2008).

Existem duas modalidades básicas para o eletrorretinograma: o *flash* ERG e o eletrorretinograma padrão (PERG). O *Flash* ERG permite avaliar as camadas externas da retina, por estímulos luminosos gerados em estimulador com intensidade,

frequência e cor controladas (Komaromy et al., 2002). O PERG apresenta o estímulo luminoso em forma e aparência de um tabuleiro de xadrez, que expressa a condição funcional de células ganglionares, possibilitando o diagnóstico de desordens nas diferentes camadas da retina (Ofri, 1996; Komaromy et al., 1998; Oriá et al., 2004; Sims, 2007).

Dentre as condições que alteram as respostas do ERG, elencam-se a distância e posição dos eletrodos, as suas propriedades condutoras, as configurações de filtro e do amplificador e os parâmetros de luminosidade (Dumitru et al., 1991; Gitter et al., 1995; Komaromy et al., 2002). Relativamente às condições intrínsecas ao paciente podemos citar a espécie, raça, idade, temperatura corporal e doenças pré-existentes (Parry et al., 1955; Spiess, 1994; Mizota e Adachi-Usami, 2002; Ofri, 2002). Além disso, têm influência sobre o exame: o tempo de adaptação ao escuro, a densidade da carga próxima à membrana celular, o número de células que cursam com alteração do potencial de membrana, condições de condutibilidade dos tecidos e por fim, o estado de consciência do animal (Dumitru et al., 1991; Gitter et al., 1995; Komaromy et al., 2002).

O ERG é comumente realizado em pacientes sob sedação ou anestesia (Narfström et al., 2002; Narfström; Peteren-Jones, 2007). Muitos fármacos anestésicos já foram testados para a eletrorretinografia, tais como cetamina, acepromazina, xilazina, tiopental, halotano, óxido nitroso, sevoflurano, medetomidina associada à cetamina, e, mais recentemente, o propofol. A maioria deles induz à diminuição das amplitudes das ondas do ERG, especialmente os anestésicos inalatórios (Yanase e Ogawa, 1997; Kommonen et al., 2007; Norman et al., 2008). Por conseguinte, é de suma importância eleger fármacos que interfiram o mínimo possível nos potenciais elétricos do exame.

2.4 Tiletamina – Zolazepam

Por se tratar de um exame que se baseia na resposta elétrica da retina, a eletrorretinografia é muito sensível a movimentações indesejadas do paciente (Drazek et al., 2014). Com o objetivo de abolir movimentos de cabeça, piscar de olhos e a

rotação do globo ocular, recomenda-se o uso de sedação ou, preferencialmente, anestesia geral em cães submetidos a este procedimento (Ekestén et al., 2013).

A escolha dos fármacos e monitoração do paciente deve ser criteriosa, visto que fatores fisiológicos influenciados pela anestesia como temperatura corporal (Mizota e Adachi-Usami, 2002; Kong e Gouras, 2003), grau de perfusão tecidual e os níveis séricos de glicose e oxigênio (Macaluso et al., 1992; Reynaud et al., 1995; Lopez et al., 2010) interferem nos resultados do ERG. Outrossim, o fármaco escolhido pode influenciar diretamente no traçado das ondas. Yanase e Ogawa (1997) notaram que a amplitude da onda-b diminuiu em cães anestesiados com halotano. Em contrapartida, demonstrou-se que o propofol promove aumento considerável da amplitude dessas ondas (Kommonen et al., 2007). Logo, é necessário que se padronize um protocolo anestésico em cães saudáveis, para que as influências desses fármacos no ERG sejam compreendidas.

A maioria dos anestésicos inalatórios induz depressão cardiorrespiratória dose-dependente, hipoxemia e hipercapnia (Robertson, 2020), efeitos que reduzem a amplitude dos componentes do ERG (Niemeyer e Steinberg, 1984). Além disso, essa modalidade requer equipamento específico, como vaporizador, fonte de gás medicinal e manutenção de vias aéreas patentes (Robertson, 2020). Nesse contexto, a anestesia injetável apresenta certas vantagens frente à anestesia inalatória. Nos últimos anos, a xilazina, medetomidina e agentes dissociativos têm sido utilizados como agentes anestésicos para a realização do ERG (Chaudieu e Molon-Noblot, 2004; Rosolen, 2004; Lin et al., 2009). A xilazina e a medetomidina são fármacos sedativos que pertencem a classe dos agonistas α_2 . Em geral, produzem seus efeitos por meio da estimulação dos adrenorreceptores α_2 centrais e periféricos, resultando em diminuição do tônus simpático, analgesia, sedação e relaxamento muscular, sem alteração dos parâmetros gasométricos (Gómez-Villamandos et al., 2006; Granholm et al., 2007). Os efeitos cardiovasculares mais comumente observados, especialmente com a medetomidina, são bradicardia e redução do débito cardíaco (Kuo e Keegan, 2004). A depressão respiratória se torna mais evidente e significativa quando estes fármacos são utilizados em altas doses e em associação com opioides e agentes dissociativos (Ko et al., 2001). Apesar de promover sedação suficiente para realização do ERG, foi demonstrado que cães sedados com medetomidina

apresentaram rotação ventromedial do globo ocular, fazendo-se necessária a realização de suturas conjuntivais para fixar o olho na posição central, o que aumentou o tempo para realização do exame (Lin et al., 2009).

A associação de tiletamina com zolazepam tem sido empregada na veterinária para realização de exames clínicos e cirurgias de curta duração devido ao não requerimento de equipamento específico, rápido poder de indução e curto período de recuperação (Lin et al., 2009). A tiletamina é um derivado da fenciclidina, sendo classificada como um anestésico dissociativo antagonista não competitivo do receptor NMDA, com duração e potência analgésica superiores à cetamina (Kucharski e Kielbowicz, 2021). O zolazepam é um benzodiazepínico com propriedades anticonvulsivantes e relaxantes musculares. Fármacos dessa classe atuam como moduladores alostéricos do receptor GABA-A, podendo induzir ansiólise, sedação e hipnose (Maddison et al. 2008). De acordo com a ficha técnica do fabricante, o Zoletil® é um anestésico injetável não opioide e não barbitúrico. Sua formulação possui concentrações iguais de tiletamina e zolazepam (50:50 ou 25:25).

Essa associação pode ser usada com segurança como sedativo, indutor ou como anestésico geral para procedimentos de curta duração (20 a 60 minutos, após injeção intravenosa ou intramuscular). Ademais, o Zoletil® é uma excelente opção para procedimentos oftálmicos em cães, pois não promove aumento da pressão intraocular, diferentemente da associação cetamina-diazepam (Hofmeister et al., 2009, Kovalcuka et al., 2013, Jang et al., 2015). Não obstante, como todo fármaco, a associação tem seus efeitos adversos e contraindicações. A maioria dos efeitos adversos no sistema cardiovascular, respiratório e nervoso são estritamente dose-dependentes e seu uso é contraindicado em pacientes com afecções de sistema nervoso central (epilepsia e convulsões), traumatismo craniano, trauma ocular penetrante, anormalidades cardiovasculares (cardiomiopatia hipertrófica, arritmias ou condições em que o aumento da frequência cardíaca é desaconselhável), hipertireoidismo, insuficiência pancreática e renal (Kucharski e Kielbowicz, 2021).

A despeito das pesquisas existentes comparando os efeitos que diferentes fármacos causam nas respostas eletrorretinográficas, não há na literatura um estudo que compare os valores de ERG em cães com ou sem anestesia dissociativa. Conquanto, objetivou-se comparar os registros dos ERGs obtidos em pacientes sem

anestesia ou sob anestesia dissociativa utilizando tiletamina-zolazepam (Zoletil®), validando sua reprodutibilidade para protocolos do exame em cães.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Considerações quanto à ética

A pesquisa foi realizada atendendo-se às normas da ARVO - *Association for Research in Vision and Ophthalmology* e aos princípios éticos estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Outrossim, sob a expressa autorização da CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais (número de protocolo 1639/21) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP). Por oportuno ressaltar que os tutores dos cães assinaram termo de consentimento livre e esclarecido autorizando a participação destes na pesquisa (Apêndice1).

3.2 Seleção dos pacientes

Foram incluídos no estudo 48 olhos de 24 cães, com idade variando entre um e 14 anos, sendo 13 fêmeas e 11 machos (Tabela 1), atendidos no Serviço de Oftalmologia do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”, da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Os pacientes passaram por exame oftalmológico por meio de biomicroscopia com lâmpada em fenda (SL-17 – Kowa American Corporation, Torrance, Califórnia), teste lacrimal de Schirmer 1 (Teste de Schirmer – Ophthalmos, São Paulo, Brasil), tonometria de rebote (iCare Tonovet Plus – Revenio Group Corporation, Helsinki, Finlândia), e, por fim, teste de tingimento pela fluoresceína sódica (Fluoresceína strips - Ophthalmos, São Paulo, Brasil). Além disso, os pacientes foram submetidos a ultrassonografia ocular (UltraScan Imaging System – Alcon do Brasil S.A., São Paulo, Brasil) nos modos A e B, sendo pré-selecionados apenas indivíduos apresentando catarata como alteração, tendo em vista a indicação do ERG. Considerando a anestesia, selecionaram-se somente cães saudáveis, comprovados por exames físico, avaliação cardiorrespiratória, perfil

hematológico (hemograma) e bioquímico (creatinina, alanina aminotransferase e frutossamina). Cães com alteração consequente de senilidade ou endocrinopatia (diabetes mellitus), que puderam ser tratados e estabilizados foram incluídos na pesquisa.

Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Grupo 1 (G1), pacientes sem anestesia (n=12); Grupo 2 (G2) pacientes anestesiados com tiletamina-zolazepam por via intravenosa, na dose de 6 mg/kg (n=12).

Tabela 1. Características demográficas dos cães incluídos nos grupos (G1 e G2) deste estudo.

Grupo 1 (sem anestesia)	Características				Grupo 2 (anestesiados)	Características			
	Raça	Idade	Sexo	Peso		Raça	Idade	Sexo	Peso
1	Labrador	7	F	25,2	1	Border Colie Fox	6	M	14,8
2	Labrador	7	F	18	2	Paulistinha	9	F	9,3
3	Maltês	8	F	4,8	3	Maltês	7	M	4,8
4	Maltês	7	M	5	4	Poodle	7	F	6
5	Poodle	12	F	5,5	5	Poodle	9	F	3,8
6	Poodle	10	M	8,6	6	Shih-tzu	11	M	6,3
7	Poodle	14	M	7,4	7	Shih-tzu	2	M	5,5
8	Shih-tzu	5	M	5,8	8	Shih-tzu	2	M	7
9	Shih-tzu	3	F	6,2	9	SRD	6	F	6,8
10	Shih-tzu	2	M	7	10	SRD	1	M	4,5
11	SRD	8	F	6,8	11	SRD	11	F	8,2
12	SRD	1	F	18,8	12	SRD	10	F	15,3

SRD, sem raça definida; M, macho; F, fêmea; A idade está representada em anos e os pesos em quilogramas (Kg).

3.3 Eletroretinografia

A eletroretinografia foi realizada utilizando-se dispositivo portátil (Handheld Multi-species ERG – Retvetcorp, Columbia, USA) (Figura 6-A) empregando-se o protocolo Dog Diagnostic Protocol (Ekesten et al., 2013). Para a obtenção da dilatação pupilar prévia uma gota de tropicamida a 1% (Mydriacyl – Alcon Laboratórios do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil) foi instilada em ambos os olhos. Os animais do grupo que recebeu anestesia para realização do exame tiveram a veia cefálica canulada e somente no momento do exame receberam a infusão intravenosa lenta da associação de tiletamina-zolazepam (Zoletil®50 – Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, Brasil) na dose de 6 mg/kg. Os

pacientes foram mantidos em decúbito esternal sob contenção manual e em uma sala isolada, construída especificamente para evitar interferências durante o exame.

O eletrodo terra foi posicionado sobre a crista do osso occipital entre as duas orelhas do cão e o eletrodo de referência sobre o arco zigomático, a aproximadamente 5 cm do canto lateral do olho a ser avaliado (Figura 6-B). O eletrodo negativo (eletrodo da córnea) foi posicionado após dessensibilização obtida pela instilação de colírio a base de proximetacaína 0,5% (Anestalcon – Alcon Laboratórios do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil). Ademais, utilizou-se um lubrificante de metilcelulose a 2% (Metilcelulose 2% - Ophthalmos, São Paulo, Brasil) na interface eletrodo-córnea. Todos os eletrodos se conectavam em um pré-amplificador e os sinais recebidos foram processados em um filtro (Figura 6-C).



Figura 6. (A) Aparelho de ERG HM sERG da marca RetVet utilizado nos exames; **(B)** Detalhe da localização do eletrodo monopolar do tipo “ERG-jet lens” sobre a córnea (seta) e dos eletrodos referência próximo ao olho esquerdo (asterisco) e terra (acima da crista occipital) em um canino; **(C)** Posicionamento do aparelho HM sERG em frente ao olho avaliado, o pré amplificador e o decúbito adotado pelos pacientes durante os exames. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2022.

A eletrorretinografia foi realizada em duas fases. Para mensuração das amplitudes (AMP) e tempo implícito das ondas (TI), na fase escotópica (bastonetes e resposta mista), os cães foram previamente submetidos a um período de adaptação ao escuro de 20 minutos em um canil e sob supervisão constante (Labelle et al., 2010). Ao final da fase escura os cães foram submetidos a um período de 10 minutos de adaptação à luz com iluminação contínua de 30cd.s/m² emitida pelo próprio aparelho. Em consequente, deu-se seguimento à fase fotópica (cones) da avaliação. Decorridos os exames em ambos os olhos, as ondas tiveram suas amplitudes e tempos implícitos mensurados. Ato contínuo, procedeu-se à análise estatística após interpretação dos dados obtidos através do software específico (ERG View 2.2 - RetVet Corp, Columbia, EUA) (Figura 7).

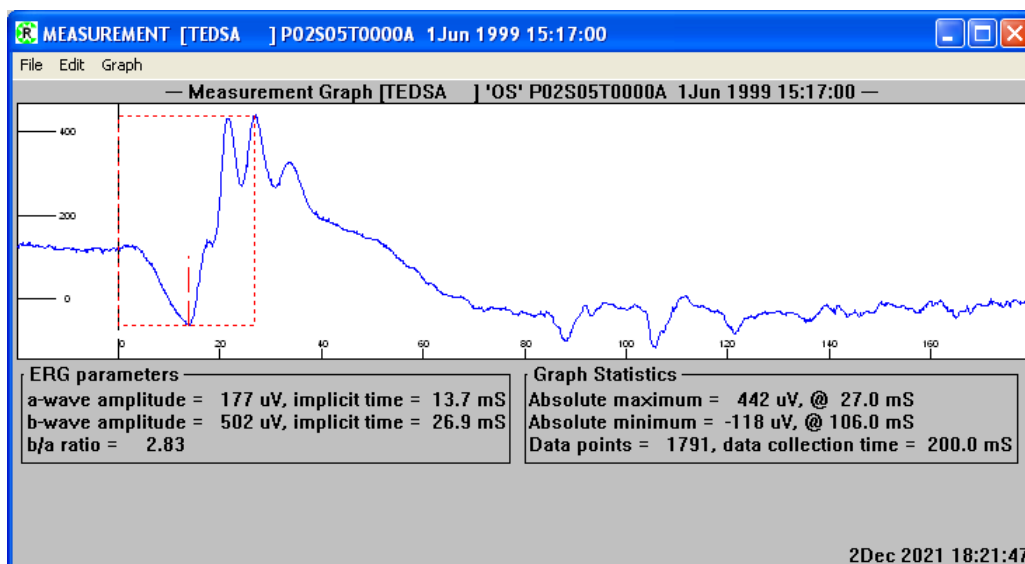


Figura 7. Imagem mostrando a representação gráfica do traçado eletrorretinográfico obtida por meio de software ErgView 2.1. Onda em fase escura de alta intensidade (avaliação mista de cones e bastonetes) colhida de paciente da espécie canina. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2022.

3.4 Análise estatística

Para se averiguar possíveis diferenças entre os olhos direito e esquerdo dos animais o Teste de Wilcoxon foi utilizado. O teste de Mann-Whitney foi realizado para avaliar simultaneamente o efeito do estado de consciência (acordado ou anestesiado) e todas as interações possíveis das variáveis dependentes (AMP e TI das ondas “a”

e “b”). Correlações entre essas variáveis e a idade ou tamanho dos animais de ambos os grupos foi avaliada utilizando a correlação de Spearman. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

4. RESULTADOS

4.1 Animais estudados

Avaliaram-se, ao todo, 24 cães de diferentes raças, castrados ou não castrados, sendo as mais prevalentes as raças Shih-Tzu (6) e Poodle (5). Os grupos G1 e G2 foram homogêneos para sexo, idade e peso. A média de idade e desvio padrão foi de $6,8 \pm 3,6$ anos e a média e desvio padrão do peso dos animais foi de $9,2 \pm 7,6$ kg.

Não houve, durante toda realização do exame, nenhuma intercorrência que inviabilizasse a avaliação nos pacientes acordados. Todos os animais permitiram a manipulação e colocação dos eletrodos e permaneceram no decúbito desejado apenas com contenção manual. A permanência da lente sobre a córnea foi obtida sem complicações apenas com abertura manual das pálpebras. Os pacientes ficaram confortáveis após o uso do colírio anestésico e o gel auxiliou na aderência e lubrificação da córnea durante o exame. Como complicações de efeito mínimo podemos citar a necessidade de contenção utilizando focinheira em indivíduos possivelmente agressivos, apenas no momento da colocação dos eletrodos, sendo retirada em seguida. Em pacientes mais agitados, foi necessário reajustar os eletrodos no espaço intradérmico quando estes se soltavam ou recolocar a lente na superfície corneana. Nesses momentos, o operador simplesmente realiza uma pausa nas gravações, recurso disponível no aparelho utilizado, sem que isso ofereça qualquer prejuízo ao exame.

Nenhum animal do G2 apresentou qualquer complicação anestésica durante a realização do ERG. A indução anestésica foi obtida em menos de 10 segundos após a injeção intravenosa de tiletamina-zolazepam e durou cerca de 40 minutos. Contudo, alguns efeitos indesejáveis foram observados como sialorréia intensa e nistagmo, em maior ou menor grau, durante o período de recuperação do procedimento.

4.2 ERG

Relativamente à fase escotópica foram observados aumento significativo na amplitude e diminuição do tempo implícito na resposta da onda-a, no G1, quando comparado ao G2 ($P=0,009$ e $P=0,002$, respectivamente). Relativamente à onda-b, aumento na amplitude foi observado no G1, quando comparado ao G2, porém, sem significância ($P= 0,212$). Não foi observada diferença no TI da onda-b entre os grupos.

Relativamente à avaliação da resposta mista de cones e bastonetes (fase escotópica de alta amplitude) não foi observada diferença entre os estados de consciência (G1 e G2) para AMP e TI das onda-a e onda-b.

Na fase fotópica (avaliação dos cones) o G2 apresentou menor AMP ($p= 0,0046$) mas não apresentou variação no TI (Tabela 2 e Figura 8).

Tabela 2. Média e desvio-padrão dos valores do ERG mensurados bilateralmente em caninos acordados (G1) e anestesiados (G2). Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2022. $P<0,05$

Resposta de bastonetes				
		G1 (n = 12)	G2 (n = 12)	Valor de p
Onda-a	Amplitude (μV)	$25,9 \pm 21,8$	$9,5 \pm 7,2 *$	0,009
	Tempo implícito (mS)	$15,9 \pm 6,4$	$27,9 \pm 15,6 *$	0,002
Onda-b	Amplitude (μV)	$143,1 \pm 59,6$	$108,3 \pm 40,1$	0,212
	Tempo implícito (mS)	$61,9 \pm 18,1$	$61,9 \pm 8,6$	0,309
Resposta mista				
		G1 (n = 12)	G2 (n = 12)	Valor de p
Onda-a	Amplitude (μV)	$126,9 \pm 64,8$	$110,9 \pm 34,8$	0,876
	Tempo implícito (mS)	$14,2 \pm 2,1$	$15,4 \pm 2,6$	0,193
Onda-b	Amplitude (μV)	$282,8 \pm 122,8$	$256,3 \pm 86,2$	0,843
	Tempo implícito (mS)	$27,5 \pm 3,7$	$27,1 \pm 2,2$	0,989
Resposta de cones				
		G1 (n = 12)	G2 (n = 12)	Valor de p
Onda-a	Amplitude (μV)	$19,8 \pm 16,4$	$16,1 \pm 10,3$	0,854
	Tempo implícito (mS)	$14,3 \pm 9,8$	$11,5 \pm 8,5$	0,580
Onda-b	Amplitude (μV)	$89,5 \pm 73,0$	$47,5 \pm 21,1 *$	0,046
	Tempo implícito (mS)	$58,5 \pm 54,1$	$60,3 \pm 37,6$	0,550

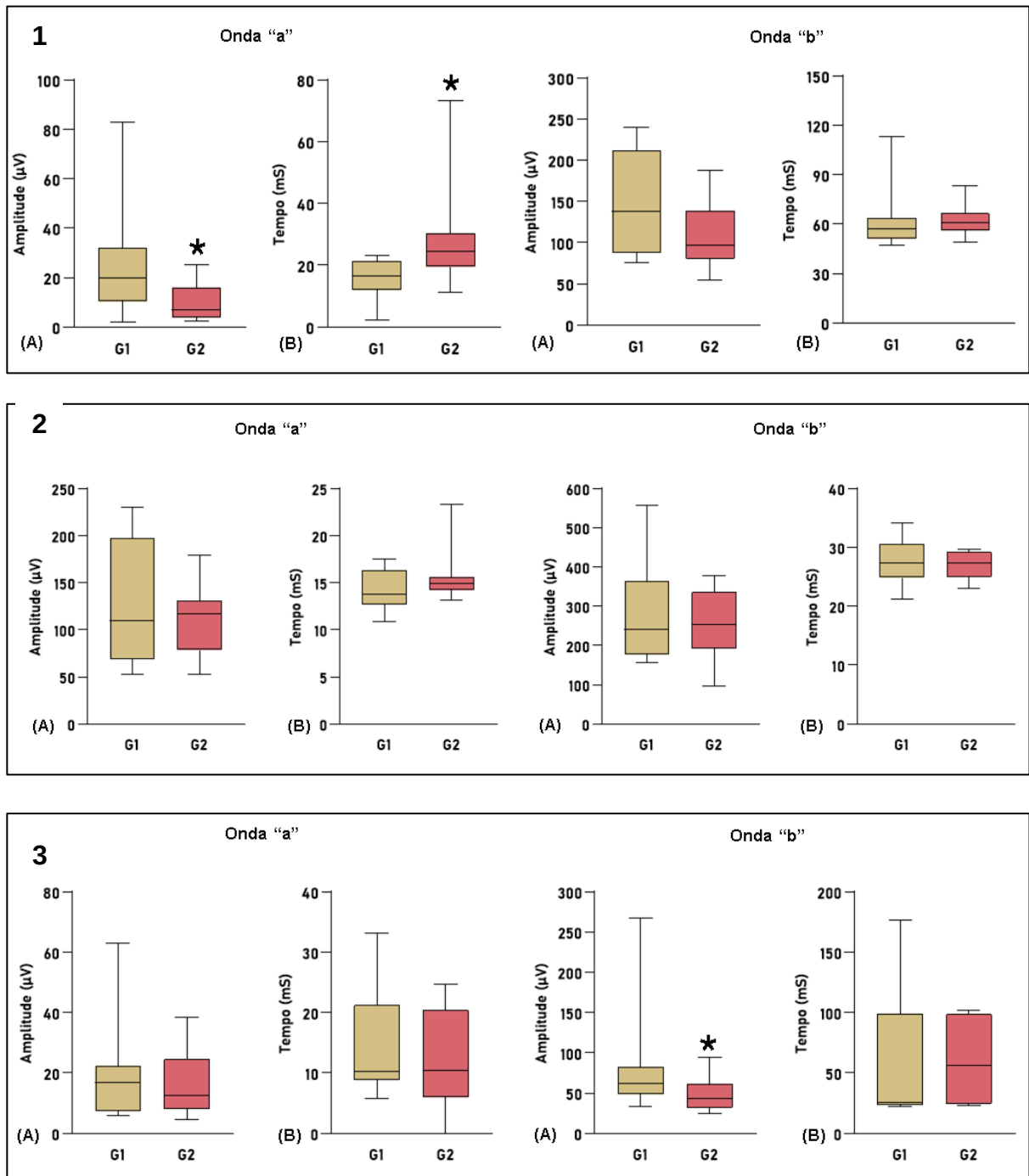


Figura 8. Gráficos box-plots dos valores relativos às médias e desvio padrão das amplitudes (A) e dos tempos implícitos (B) da onda-a e onda-b observados nos testes escotópicos - resposta de bastonetes (1) e resposta mista (2) e fotópico - resposta de cones (3) dos ERGs do G1 e G2.

* Valores com diferença estatística significativa. ($p < 0,05$).

Com relação a idade dos pacientes, houve correlação na resposta mista de cones e bastonetes para AMP e TI. Foi observada diminuição na AMP da onda-b ($P=0,0094$) em cães mais velhos e também aumento no TI da onda-a ($P=0,0182$).

Com relação a resposta mista de cones e bastonetes, houve correlação positiva entre o tamanho dos pacientes (peso) e as amplitudes das onda-a e onda-b. Foi observado um aumento na AMP da onda-a ($P=0,0433$) e onda-b ($P=0,0089$) nos animais mais pesados (maior tamanho de crânio).

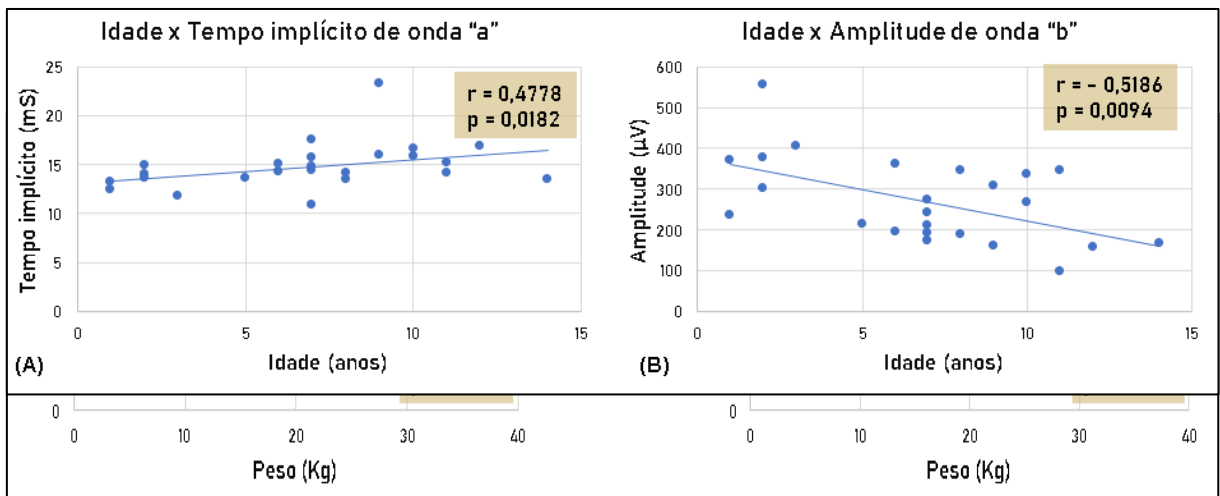


Figura 9. Representação gráfica do coeficiente da correlação de spearman (r) e significância (p) da idade e tempo implícito de onda-a (4A) e idade e amplitude de onda-b (4B) e do peso e amplitudes das onda-a e onda-b (A) dos pacientes caninos submetidos ao ERG (resposta mista), ($p<0,05$) dos pacientes caninos submetidos ao ERG (resposta mista), ($p<0,05$).

5. DISCUSSÃO

A avaliação eletrofisiológica da retina é importante não só por ser capaz de diferenciar distúrbios do nervo óptico de lesões diretas no tecido retiniano, mas também por permitir testar sua funcionalidade quando o sistema óptico perde sua transparência devido, por exemplo, a hifema, edema ou pigmentação corneal, hemorragia vítrea (Gelatt e Wilkie, 2011; Ekestén, 2013) ou catarata (Wilkie e Colitz, 2013). Cães são usualmente submetidos ao ERG anestesiados ou sob sedação, com intuito de evitar estresse e prevenir possíveis artefatos advindos da movimentação do

paciente (Lin et al., 2009). Embora sejam gerados traçados eletrorretinográficos de qualidade com a contenção química, ocorrem variações em amplitude e tempo implícito das ondas de acordo com o protocolo anestésico utilizado (Lin et al., 2009).

Os resultados do presente estudo indicam não haver diferença significativa no resultado do ERG nos diferentes estados de consciência dos animais nas respostas mistas de cones e bastonetes. Ademais, o protocolo "*Dog Diagnostic Protocol*" foi realizado sem intercorrências em cães não anestesiados. Os achados desse estudo vão de encontro as recomendações propostas por Ekesten e colaboradores (2013), os quais sugerem que o paciente alerta impede a realização do exame ou resulta em valores não fidedignos dos traçados eletrorretinográficos.

O tempo de adaptação ao escuro de 20 minutos foi seguido conforme sugerido por autores que, assim como no presente estudo, realizaram ERGs em cães conscientes sem uso de nenhuma medicação sistêmica, e compararam diferentes tempos de adaptação (1, 10, 20, 30, 40 e 60) e concluíram que o tempo ideal de adaptação ao escuro deve ser de pelo menos 20 minutos (Yu et al., 2007).

O protocolo utilizado seguiu as diretrizes propostas por Ekesten e colaboradores (2013) na última atualização sobre o assunto. Conforme citado pelos autores, é importante lembrar que os fotorreceptores serão afetados se forem expostos prolongadamente a luz antes do exame. Logo, todos os pacientes incluídos nesse estudo passaram por avaliação oftálmica prévia com no mínimo 48 horas de antecedência. Além disso, outras variáveis inerentes ao indivíduo ou ao ambiente foram controladas entres os grupos, que apresentavam distribuição aleatória, porém homogênea, entre sexo, idade e peso dos animais, facilitando as comparações tendo em vista que são alguns dos fatores fisiológicos que alteram o exame (Parry et al., 1953; Spiess 1994). Outras variáveis que afetam as gravações do ERG como a temperatura corporal (Mizota e Adachi-Usami, 2002; Kong e Gouras, 2003), interferências sonoras, eletrostáticas ou eletromagnéticas foram excluídas através da escolha de um ambiente controlado e isolado, construído para a prática específica do eletrorretinograma.

Todos os pacientes apresentaram midríase consistente e centralização do bulbo ocular, possibilitando a iluminação adequada das células da retina durante a estimulação dos flashes de luz (Kooijman, 1986; Ekesten et al., 2013). A posição dos

olhos é um fator relevante, tendo em vista que em pacientes sob anestesia ou sedação, dependendo da profundidade do plano, os olhos podem rotacionar ventromedialmente, dificultando seriamente o teste. A necessidade nesses casos de realizar suturas ou ainda bloqueadores neuromusculares são fatores importantes a serem levados em consideração. As desvantagens de necessitar de tais manobras para realização de um exame não invasivo incluem a necessidade de um anestesiologista hábil e de equipamentos onerosos como um ventilador mecânico caso o paciente precise de ventilação controlada. Ademais, a utilização de qualquer equipamento de monitoração anestésica durante o exame pode causar artefatos nos traçados do ERG (Robertson, 2020).

Embora muitos protocolos anestésicos já tenham sido testados, apenas um estudo foi encontrado comparando resultados de ERG sob diferentes estados de consciência, incluindo cães acordados. Freeman e colaboradores utilizaram seis beagles jovens e avaliaram quantitativamente e qualitativamente os resultados do exame. Foram comparados cães acordados, anestesiados (propofol e midazolam seguido de manutenção no isoflurano) e sob sedação (dexmedetomidina e butorfanol) utilizando o protocolo “Flash-ERG”. Apesar de terem utilizado beagles não adestrados o exame foi passível de ser realizado nos cães acordados sem intercorrências, como no presente estudo. Cabe ressaltar que a seleção de pacientes mais tranquilos e não agressivos deve ser feita, e que para esses casos deve-se indicar a anestesia ou sedação para evitar injúrias ao paciente ou ao profissional que esteja realizando o exame ou a contenção. Quando se interpretaram as ondas dos pacientes acordados, assim como no nosso estudo, foram observadas maiores amplitudes e menores tempos implícitos de onda. Ademais, os pacientes sob anestesia geral apresentaram menores amplitudes do que aqueles apenas sob sedação, embora a diferença não tenha sido significativa (Freeman et al., 2013). Embora o resultado não tenha sido inovador, a análise qualitativa realizada por profissionais que avaliaram os traçados das ondas dos cães sob os diferentes estados de consciência foi inesperada. Tanto as análises dos “ruídos” quanto a comparação dos traçados dos exames por residentes experientes não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os grupos. Cabe salientar que, nesse estudo, as avaliações foram subsequentes, o que poderia interferir de maneira negativa nos

resultados, tendo em vista a estimulação luminosa exacerbada das células da retina em curto período de tempo. Logo, é correto inferir que a realização do exame com os pacientes acordados é possível e os resultados fidedignos (Freeman et al., 2013). Por outro lado, fora importante elaborar esse estudo respeitando o intervalo adequado entre as avaliações dos cães (acordados ou anestesiados), e utilizando um protocolo anestésico que sabidamente interferiria o mínimo possível no exame (Lin et al., 2009)

No âmbito da escolha do fármaco anestésico, optou-se pela combinação de tiletamina-zolazepam 1:1 (Zoletil®) com base em vasta literatura comparando diferentes protocolos, a maioria causando mudanças tanto na amplitude quanto no tempo implícito das ondas, sendo os anestésicos voláteis responsáveis pelas maiores interferências (Acland et al., 1981; Kommonen, 1988; Kommonen; Karhunen; Raitta, 1988; Yanase e Ogawa, 1997; Kommonen; Hyvatti; Dawson, 2007; Norman, et al., 2008; Jeong et al., 2009; Lin et al., 2009; Freeman et al., 2013). A tiletamina é um derivado da fenciclidina, sendo classificada como um anestésico dissociativo antagonista não competitivo do receptor NMDA, com duração e potência analgésica superiores à cetamina (Kucharski e Kiełbowicz, 2021). O zolazepam é um benzodiazepínico com propriedades anticonvulsivantes e relaxantes musculares (Wood e Rao, 1991). Fármacos dessa classe atuam como moduladores alostéricos do receptor GABA-A, podendo induzir ansiólise, sedação e hipnose (Maddison et al., 2008). A nível molecular, as ações da tiletamina-zolazepam na retina são mediadas por receptores químicos específicos (aminoácidos neurotransmissores) (Lam, 1997). A tiletamina bloqueia os canais iônicos dos receptores NMDA, responsáveis por suprimir as respostas das células bipolares e ganglionares da retina, já o zolazepam facilita a ação do GABA-A, um neurotransmissor inibitório para células amácrinas e horizontais da retina (Lam, 1997).

A tiletamina-zolazepam mostrou menores interferências nos resultados do ERG quando comparada com a medetomidina e o isoflurano em cães (Norman et al., 2008; Lin et al., 2009). O anestésico dissociativo também apresentou vantagens sobre o barbitúrico Nembutal (maiores amplitudes de onda-a e onda-b) em ratos (Chaudhary et al., 2003). Sendo assim, os efeitos do fármaco que observamos deve ser devido à combinação de ações em vários locais da retina, embora a literatura seja escassa sobre a ação direta da droga no tecido retiniano. A dose utilizada (6mg/kg) por via

intravenosa foi proposta por Hellyer e colaboradores (1989) em cães mostrando-se segura para procedimentos de 15 a 40 minutos, causando poucos efeitos cardiorrespiratórios e hemodinâmicos, rápida indução e boa recuperação.

6. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo dentro das condições em que fora concebido, sugerem que o protocolo do eletrorretinograma de campo total pode ser reproduzido com sucesso em cães sem anestesia sem comprometimento dos traçados das ondas do ERG. Embora a tiletamina-zolazepam seja um anestésico de escolha para realização do exame em cães, sua utilização pode restringir-se a pacientes agressivos ou pouco colaborativos. Evitando a anestesia geral ou a sedação, eliminam-se os riscos potenciais para o paciente, diminui-se os custos para o cliente e o tempo necessário que o profissional irá despendar para realização do exame.

7. REFERÊNCIAS

- Acland, GM (1988) Diagnosis and differentiation of retinal diseases in small animals by electroretinography. **Seminars in Veterinary Medicine Surgery Small Animal** 3:15-27.
- Acland, GM, Forte, S, Aguirre, GD (1981) Halothane effects on the canine electroretinogram. **Trans. Am. Coll. Vet. Ophthalmol** 12:66–83.
- Aguirre, GD (1973) Electroretinography in veterinary ophthalmology. **Journal of the American Animal Hospital Association** 234–237.
- Aguirre, GD (1995) Electroretinography—are we misusing an excellent diagnostic tool? **Veterinary & Comparative Ophthalmology** 5:2–3.

Asi H, Perlman I (1992) Relationships between the electroretinogram a-wave, b-wave and oscillatory potentials and their application to clinical diagnosis. **Documenta Ophthalmologica** 79:125–139.

Ávila, M (2003) Retina no Século XXI. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia** 66: 719-730.

Bacellar, M, Montiani-Ferreira, F, Somma, AT, Barros Filho, IR (2008) The History of Electroretinography. **Archives of Veterinary Science**, v.13: 285-291.

Bedford, P (1996) The anatomy of the canine fundus. In: CONGRESS OF THE SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION. **Small Animal Veterinary Association Proceedings** Jerusalem, 24p.

Beltran, WA (2009) The use of canine models to inherited retinal degeneration to test novel therapeutic approaches. **Veterinary Ophthalmology** 12:192-194.

Brooks, DE (2005) Hypertensive iridocyclitis and Glaucoma in The Horse. **Clinical Techniques in Equine Practice**, 4:72-80.

Chaudhary, V. et al (2003) Effects of telazol and nembutal on retinal responses. **Documenta ophthalmologica** 107:45-51.

Chaudieu, G, Molon-Noblot, S (2004) Early retinopathy in the Bernese Mountain Dog in France: preliminary observations. **Veterinary ophthalmology** 7:175-184.

Curtis, R, Lightfoot, RM (1993) The canine fundus. In: Petersen-Jones, SM., Crispin, SM. **Manual of Small Animal Ophthalmology**. London: British Small Animal Veterinary Association, p.237-258.

Dantas, AM (1955) Eletrorretinografia. In: Dantas, AM, Costa, JGC, Neto, LP, Yamane, R, Elias, CA. **Eletrofisiologia Ocular**.1. ed. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica, p.141-225

Donovan, RH, Carpenter, RL, Schepens, CL, Tolentino, FI (1974) Histology of the normal collie eye. III. Lens, retina and optic nerve. **Annals of Ophthalmology** 6:1299–1307.

Drazek, M, Lew, M, Lew, S, Pomianowski, A (2014) Electroretinography in dogs: a review. **Veterinarni Medicina** 59.

Dumitru, D, Delisa, JA. (1991) Mini Monograph #10: Volume conduction. **Muscle and Nerve** 14:605-624.

Dyce, KM, Sack, WO, Wensing, CJG (1997) **Tratado de Anatomia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 663.

Einthoven, W, Jolly, W (1908) A. Form And Magnitude Of The Electrical Response Of The Eye To Stimulation By Light At Various Intensities. **Quarterly Journal of Experimental Physiology** 1:373-416.

Ekesten, B (2013) Electrodiagnostic Evaluation of Vision, 10, Part 4. In: Gelatt, KN, Gilger, BC, Kern TJ (eds.): **Veterinary Ophthalmology**. 5th ed. Wiley-Blackwell, New Jersey, USA. 684–702.

Ekesten, B, Komaromy, AM, Ofri, R, Petersen-Jones, SM, Narfström, K (2013) Guidelines for clinical electroretinography in the dog: 2012 update. **Documenta Ophthalmologica** 127:79-87.

Freeman, K, Good, KL, Kaas, PH, Park, SA, Nestorowicz, N, Ofri, R (2013) Effects of chemical restraint on electroretinograms recorded sequentially in awake, sedated, and anesthetized dogs. **American Journal of Veterinary Research** 74.

Gelatt, KN (2013) **Essentials of Veterinary Ophthalmology** 5.ed. Ames: John Wiley and Sons inc, 648p.

Gitter, AJ, Stolov, WC (1995) Mini Monograph: Instrumentation and measurement in electrodiagnostic medicine. Part 1. **Muscle and Nerve** 18:799-811.

Gómez-Villamandos, RJ, Redondo, J I, Martin, EM (2006) Cardiorespiratory effects of desflurane in dogs given romifidine or medetomidine before induction of anesthesia with propofol. **Canadian journal of veterinary research** 70:308.

Granholm, M, Mckusick, BC, Westerholm, FC, Aspegrén, JC (2007) Evaluation of the clinical efficacy and safety of intramuscular and intravenous doses of dexmedetomidine and medetomidine in dogs and their reversal with atipamezole. **Veterinary Record** 160:891-897.

GUM, GG (1980) Electrophysiology in veterinary ophthalmology. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** 10:437-454.

Heckenlively, JR, Arden, GB (2006) **Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision**. 2.ed. Massachusetts: MIT.

Heynen H, Wachtmeister L, van Norren D (1985): Origin of the oscillatory potentials in the primate retina. **Vision Research** 25:1365–1373.

Hellyer, P, Muir, WW, Hubbel, JA, Sally, J (1989) Cardiorespiratory effects of the intravenous administration of tiletamine-zolazepam to dogs. **Veterinary Surgery** 18:160–165.

Henkind, P (1966) The retinal vascular system of the domestic cat. **Experimental Eye Research** 5:10–20.

Herron JR, WL, Riegel, BW (1974) Vitamin A deficiency induced “rod thinning” to permanently decrease the production of rod outer segment material. **Investigative Ophthalmology & Visual Science** 13:54–59.

Hofmeister, EH. et al (2009) Effects of graded doses of propofol for anesthesia induction on cardiovascular parameters and intraocular pressures in normal dogs. **Veterinary anaesthesia and analgesia** 36:442-448.

Holmgren, F (1870) The retina currents (in Swedish). **Upsala Läkareförenings Förhandlingar (Proceedings of the Upsala Medical Society)** 6:419–455.

Jang, M. et al. (2015) Effect of tiletamine–zolazepam on the intraocular pressure of the dog. **Veterinary ophthalmology** 18:481-484.

Jeong, MB, Narfström, K, Park, SA, Chae, JM, Seo, KM (2009) Comparison of the effects of three different combinations of general anesthetics on the electroretinogram of dogs. **Documenta Ophthalmologica** 119:79–88.

Johnson, MA.; Jeffrey, BG.; Messias, AMV.; Robson, AG (2019) ISCEV extended protocol for the stimulus–response series for the dark-adapted full-field ERG b-wave. **Documenta Ophthalmologica** 138:217-227.

Jones, TC, Hunt, RD, King, N. W (2000) Retina. In: **Patologia Veterinária**. 6.ed. São Paulo: Manole, p.1334-1341.

Junqueira, LC, Carneiro, J (2004) **Histologia Básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 488 p.

Ko, JC, Fox, SM, Mandsager, RE (2001) Anesthetic effects of ketamine or isoflurane induction prior to isoflurane anesthesia in medetomidine-premedicated dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association** 37:411-419.

Kofuji P, Ceelen P, Zahs KR, Surbeck LW, Lester HA, Newman EA (2000): Genetic inactivation of an inwardly rectifying potassium channel (Kir4.1 subunit) in mice: phenotypic impact in retina. **Journal of Neuroscience** 20:5733–5740.

Komaromy, AM, Brooks, DE, Dawson, WW, Källberg ME, Ollivier, FJ, Ofri, R (2002) Technical issues in electrodiagnostic recording. **Veterinary Ophthalmology** 5:85-91.

Komaromy, AM, Smith, PJ, Brooks, DE (1998) Electroretinography in dogs and cats. Part I. **Retinal morphology and physiology. Compendium of Continuing Education Practice Veterinary** 20:343-350.

Kommonen, B (1988) The DC-recorded dog electroretinogram in ketamine-medetomidine anaesthesia. **Acta Veterinaria Scandinavica** 29:35–41.

Kommonen, B, Hyvätti, E, Dawson, WW (2007) Propofol modulates inner retina function in Beagles. **Veterinary ophthalmology** 10:76-80.

Kommonen B, Raitta C (1987) Electroretinography in Labrador Retrievers given ketamine-xylazine anesthesia. **American Journal of Veterinary Research** 48:1325-1331.

Kommonen, B, Karhunen, U, Raitta, C (1988) Effects of thiopentone halotane-nitrous oxide anaesthesia compared to ketamine-xylazine anaesthesia on the DC recorded dog electroretinogram. **Acta Veterinaria Scandinavica** 29:23–33.

Kong, J, Gouras, P (2003) The effect of body temperature on the murine electroretinogram. **Documenta ophthalmologica**, v. 106, n. 3, p. 239-242.

Kooijman, AC (1986) The homogeneity of the retinal illumination is restricted by some ERG lenses. **Investigative Ophthalmology and Visual Science** 27:372–377.

Kovalcuka, I, Birgele, E, Bandere, D, Williams, DI (2013) The effects of ketamine hydrochloride and diazepam on the intraocular pressure and pupil diameter of the dog's eye. **Veterinary ophthalmology** 16:29-34.

Kucharski, P, Kielbowicz, Z (2021) Dissociative anaesthesia in dogs and cats with use of tiletamine and zolazepam combination. What we already know about it. **Polish Journal of Veterinary Sciences** 451-459.

Kuo, WC, Keegan, RD (2004) Comparative cardiovascular, analgesic, and sedative effects of medetomidine, medetomidine-hydromorphone, and medetomidine-butorphanol in dogs. **American journal of veterinary research** 65:931-937.

Labelle, AL, Hamor, RE, Narfström, K, Breaux, CB (2010) Electroretinography in the western gray kangaroo (*Macropus fuliginosus*). **Veterinary Ophthalmology** 13:41-46.

Lam, DM (1997) Neurotransmitters in the vertebrate retina. **Investigate Ophthalmology & Visual Science** 38:553–6.

Lin, SL, Shiu, WC, Liu, PC, Cheng, FP, Lin, YC, Wang, WS (2009) The effects of different anesthetic agents on short electroretinography protocol in dogs. **Journal of Veterinary Medical Science** 71:763-768.

Lopez, OV, Vazquez, JCA, Cantalapiedra, AG, Rosolen, SG (2010) Effects of hypercapnia on the electroretinogram in sevoflurane and isoflurane anaesthetized dogs. **Documenta ophthalmologica** 121:9-20.

Macaluso, C, Onoe, S, Niemeyer, G (1992) Changes in glucose level affect rod function more than cone function in the isolated, perfused cat eye. **Investigative ophthalmology & visual science** 33:2798-2808.

Maddison, JE, Page, SW, Church, DB. (Ed.) (2008) **Small animal clinical pharmacology**. Elsevier Health Sciences.

Maehara, S, Itoh N, Itoh, Y, Wakaiki, S, Tsuzuki, K, Seno, T, Kushiro, T, Yamashita, K, Izumisawa, Y, Kotani, T (2005) Electroretinography using contact lens electrode with built-in light source in dogs. **The Journal of Veterinary Medical Science** 67:509-514.

Maehara, S, Itoh, N, Wakaiki, S, Yamasaki, A, Tsuzuki, K, Izumisawa, Y (2007) The effects of cataract stage, lens-induced uveitis and cataract removal on ERG in dogs with cataract. **Veterinary Ophthalmology** 10:308-312.

Marmor MF, Arden GB, Nilsson SEG, Zrenner E (1989) Standard for clinical electroretinography. **Archives of Ophthalmology** 107:816-819.

Marmor, MF, Holder, GE, Seeliger, MW, Yamamoto, S (2004) Standard for clinical electroretinography (2004 update). **Documenta Ophthalmologica** 108:107-114.

Mentzer, A, Eifler, D, Montiani-Ferreira, F, Tuntivanich, N, Forcier, J, Petersen-Jones, S (2005) Influence Of Recording Electrode Type And Reference Electrode Position On The Canine Electroretinogram (erg). **Documenta Ophthalmologica** 111:95-106.

Miller, P.E (2008) Structure and function of the eye. In: Meggs D.J., Miller P.E. Ofri R. **Slatter's Fundamentals of veterinary ophthalmology**. 4 ed, China: Saunders Elsevier, 496 p.

Miyake, Y, Brigell, M, Fulton, A, Holder, GE, Marmor, M (2008) Standard for clinical electroretinography. In: **The ISCEV XLVI Annual Symposium**. Morgantown, USA.

Mizota, A, Adachi-Usami, E (2002) Effect of body temperature on electroretinogram of mice. **Investigative ophthalmology & visual Science** 43:3754-3757.

Narfström, K, Ekesten, B, Rosolen, SG, Spiess, BM, Percicot, CL, Ofri, R (2002) Guidelines for clinical electroretinography in the dog. **Documenta Ophthalmologica** 105:83-92.

Narfström, K, Petersen-Jones, S (2007) Diseases of canine ocular fundus. In: GELLAT, K.N. **Veterinary Ophthalmology** 2:944-1025.

Niemeyer, G, Steinberg, RH (1984) Differential effects of pCO₂ and pH on the ERG and light peak of the perfused cat eye. **Vision research** 24:275-280.

Norman, JC, Narfström, K, Barret, PM (2008) In: The effects of medetomidine hydrochloride on the electroretinogram of normal dogs. **Veterinary Ophthalmology** 11:299-305.

Ofri, R. The electroretinogram - a powerful, yet often ignored, tool in the diagnosis of retinal diseases (1996) In: Congress of the Small Animal Veterinary Association, 21. Jerusalem. Proceedings, Jerusalem: **Small Animal Veterinary Association**, p.28.

Ofri, R (2002) Clinical electrophysiology in veterinary ophthalmology-the past, present and future. **Documenta Ophthalmologica** 104:16.

Ofri, R, Dawson, WW, Foli, K, Gelatt, KN (1993) Chronic ocular hypertension alters local retinal responsiveness. **British Journal of Ophthalmology** 77:502-508.

Oriá, AP, Lázaro Júnior, LP, Honsho, CS, Neto, FSD, Laus, JL (2004) Considerations about electroretinography in dogs. **Ciência Rural** 34:323- 328.

Parry, HB, Tansley, K, Thomson, LC (1953) The electroretinogram of the dog. **Journal of Physiology** 120:28–40.

Pereira, AL, Montiani-Ferreira, F, Santos, VR, Salomão, SR, Souza, C, Berezovsky, A (2013) Electroretinography in dogs using a fiber electrode prototype. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** 46:257-262.

Perlman, I (2008) The Electroretinogram: ERG. Webvision. Disponível em: <http://webvision.med.utah.edu/ERG.html>. Acesso em: 04/09/2021.

Petersen-Jones, S, Tuntivanich, N, Montiani-Ferreira, F, Khan, N (2006) Electroretinograms of dog and chicken. In: Heckenlively, JR, Arden, GB. **Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision**. 2.ed. Massachusetts: MIT. p.911-921.

Porto, FBO (2004) **Eletrorretinografia Multifocal na Retinose Pigmentaria**. 174 f. Dissertação (Doutorado em Medicina), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Prince, JH (1960) **Anatomy and Histology of the Eye and Orbit in Domestic Animals**. Springfield, IL: Charles C. Thomas. 689 p.

Reynaud, X, Hansen, RM, Fulton, AB (1995) Effect of prior oxygen exposure on the electroretinographic responses of infant rats. **Investigative ophthalmology & visual science** 36:2071-2079.

Robertson, S (2020) Anesthetic protocols for dogs and cats. In: White, S. **High-Quality, High-Volume Spay and Neuter and Other Shelter Surgeries** 153-192.

Ropstad, EO, Bjerkas, E, Narfström, K (2007) Clinical findings in early onset cone-rod dystrophy in the standard wire-haired Dachshund. **Veterinary Ophthalmology**, 10:69-75.

Rosolen, SG, Rigaudière, F, Legargasson, JF, Chalier, C, Rufiange, M, Racine, J, Joly, S, Lachapelle, P (2004) Comparing the photopic ERG i-wave in different species. **Veterinary ophthalmology** 7:189-192.

Rouck, A.F (2006) History of Electroretinogram. In: Heckenlively, JR, Arden, GB. **Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision**. 2.ed. Massachusetts: MIT, .3-10.

Safatle, AMV, Hvenegaard, AP, Gomes, D, Leandro, DC, Otsuki, D, Lisak, R (2010a) Importância do eletrorretinograma de campo total (Full Field ERG) em cães da raça Cocker Spaniel Inglês portadores de catarata. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30:149-154.

Safatle, AMV, Lisak, R, Otsuki, DA, Gomes, D(2010b) Determinação dos valores normais do eletrorretinograma de campo total de cães da raça Poodle portadores de catarata de acordo com a faixa etária. **Ciência Rural** 40:587-593.

Samuelson, DA (2013) Ophthalmic anatomy. In: Gelatt, KN. **Veterinary Ophthalmology**. 5.ed. Philadelphia :Lippincott Williams & Wilkins, p.31-150.

Schaepi, U, Liverani, F (1977) Procedures for routine clinical electroretinography (ERG) in dogs. **Agents and Actions** 7:347–351.

.

Sims, MH (2007) Electrodiagnostic evaluation of vision. In:Gelatt, KN. **Veterinary Ophthalmology**. 4.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 483 p.

Slatter, D (2005) **Fundamentos de Oftalmologia Veterinária**. 3 ed. Roca: São Paulo, SP 3. ed. 686p.

Spiess, BM (1994) Electroretinography (in German). In: Spiess, BM (ed.): **Elektrophysiologische Untersuchungen des Auges bei Hund und Katze: Elektoretinographie (ERG), visuell evozierte Potentiale (VEP), Elektro-Okulographie (EOG)**, 1. ed. Enke: Stuttgart, Germany, p. 59–75.

Steinberg, RH, Reid, M, Lacy, PL (1973) The distribution of rods and cones in the retina of the cat (*Felis domesticus*). **Journal of Comparative Neurology** 148:229–248.

Tso, MO, Friedman, E (1999) The retinal pigment epithelium. I. Comparative histology. **Archives of Ophthalmology** 78:641–649.

Tzekov, R, Arden, GB (1999) The electroretinogram in diabetic retino-pathy. **Survey of Ophthalmology** 44:53-60.

Wilkie, DA., Colitz, CMH (2013) Surgery of the lens. In: Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ (eds.): **Veterinary Ophthalmology**. 5th ed. Wiley-Blackwell, New Jersey, USA. 1234–1286.

Wood, PL.; Rao, TS (1991) A review of in vivo modulation of cerebellar cGMP by excitatory amino acid receptors:role of NMDA, quisqualate and kainate subtypes. **Prog Neuro Psychopharmacol Biol Psychiatry** 15:229–35.

Yanase, J, Ogawa, H (1997) Effects of halothane and sevoflurane on the electroretinogram of dogs. **American journal of veterinary research** 58:904-909.

Yanase, J, Ogawa, H, Ohtsuka, H (1995) Rod and cone components in the dog electroretinogram during and after dark adaptation. **The Journal of Veterinary Medical Science** 57:877-881.

Yu, HÁ, Jeong, MB, Park, AS, Kim, WT, Kim, SE, Chae, JM, Yi, NY., Seo, M (2007) The determination of dark adaptation time using electroretinography in conscious Miniature Schnauzer dogs. **Journal of Veterinary Science** 8:409-414.

Zhang, Q, Baldwin, VJ, Acland, GM., Zhang, CJ, Haskel, J, Aguirre, GD, Ray, KJ (1999) Photoreceptor dysplasia (pd) in miniature schnauzer dogs: evaluation of candidate genes by molecular genetic analysis. **Journal of Heredity** 90:57-61.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Esclarecimentos ao proprietário sobre a participação do animal neste projeto

Sua autorização para a inclusão do(s) seu(s) animal(is) nesse estudo é voluntária. Seu(s) animal(is) poderá(ão) ser retirado(s) do estudo a qualquer momento, sem que isso cause qualquer prejuízo a ele(s). A confidencialidade dos seus dados pessoais será preservada. Os membros da CEUA ou de outras autoridades regulatórias poderão solicitar suas informações, e nesse caso, elas serão dirigidas especificamente para fins de inspeções regulares. O Médico Veterinário responsável pelo(s) seu(s) animal(is) será o(a). Dr(a) _____, inscrito(a) no CRMV sob o nº _____. Além dele, a equipe do Pesquisador Principal, Daniela Moura dos Santos, também se responsabilizará pelo bem-estar do(s) seu(s) animal(is) durante todo o estudo e ao final dele. Quando for necessário, durante ou após o período do estudo, você poderá entrar em contato com a Pesquisadora Principal ou com a sua equipe pelos contatos:

Tel. de emergência: (51) 991840156

Equipe: Serviço de Oftalmologia Veterinária

Endereço: Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n - Hospital Veterinário

Tel e f o n e: 32077199 ramal (7791)

Declaração de consentimento

Fui devidamente esclarecido(a) sobre todos os procedimentos deste estudo, seus riscos e benefícios ao(s) animal(is) pelo(s) qual(is) sou responsável. Fui também informado que posso retirar meu(s) animal(is) do estudo a qualquer momento. Ao assinar este Termo de Consentimento, declaro que autorizo a participação do(s) meu(s) animal(is) identificado(s), a seguir, neste projeto. Este documento será assinado em duas vias, sendo que uma via ficará comigo e outra com o pesquisador.

Nome do responsável:

Documento de Identidade:

Identificação do(s) animal(is)

Nome:

Número de identificação (RGHV):

Espécie: Raça:

Assinatura do Responsável: _____

Assinatura do Pesquisador Responsável: _____

Jaboticabal - SP, ____ de _____ de 202_.