



USO DE CÉLULAS-TRONCO DO TECIDO ADIPOSEO NO TRATAMENTO DE CERATOCONJUNTIVITE SECA EM CÃES

Daniela Afonso Marquetotti^{1*}, Eliara Faria Passos Martins¹, Izadora Andressa Bezerra de Souza¹, Jovita Luiza dos Reis Lima¹,
Milene Karoline Jeronimo¹, Michelle Gouvêa Gomes².

¹Discentes no Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário Newton Paiva – Belo Horizonte/MG – Brasil – *Contato: daniela.amarquetotti@gmail.com

²Médica Veterinária Oftalmologista Mestre em Ciências Farmacêuticas pela UFMG.

INTRODUÇÃO

A ceratoconjuntivite seca (CCS ou KCS), também conhecida como doença do olho seco, é uma afecção multifatorial que acomete o sistema lacrimal dos animais, onde há diminuição ou não produção da lágrima, resultando em ressecamento e inflamação da conjuntiva e da córnea do paciente^{4,9}. Os sinais clínicos mais comuns são: dor ocular, blefaroespasmos, hiperemia conjuntival, secreção mucosa ou purulenta, hiperpigmentação e/ou neovascularização da córnea, podendo ter ou não a presença de úlceras de córnea⁶. Várias raças são acometidas por CCS adquirida, sendo elas o Shih Tzu, Buldogue, Pug, Yorkshire, Poodle, Cockers, Schnauzer, entre outras. O diagnóstico do olho seco quantitativo é feito através do histórico, achados clínicos e pelo teste lacrimal de Schirmer^{4,7}. Quando diagnosticada, a doença não possui cura definitiva, mas requer tratamento contínuo ao longo da vida. São utilizados colírios imunomoduladores, colírios lubrificantes, antibióticos e anti-inflamatório, sendo necessário um controle assíduo para manter o distúrbio controlado^{2,9}. Diante disso, terapias alternativas estão sendo estudadas cada vez mais, como a cirurgia de transporte do ducto parotídeo, esta não muito recomendada e incomum, e a terapia com a utilização de células-tronco, onde há substituição de células originais lesionadas por células íntegras, implicando em uma melhora clínica definitiva ou por longos períodos comparada aos tratamentos convencionais^{3,8}.

O presente estudo tem como objetivo elaborar um resumo de tema abordando o uso de células-tronco como terapia alternativa para a doença ceratoconjuntivite seca em cães.

METODOLOGIA

Resumo de tema realizado a partir de artigos científicos publicados no período de 2010 à 2023, localizados através de mecanismos virtuais de pesquisa como o Google Acadêmico e Pubvet.

Palavras-chave: Olho seco, Teste de Schirmer, células-tronco, cães.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O filme lacrimal é uma camada fluida composta por três porções. A glândula lacrimal e a glândula da terceira pálpebra são responsáveis pela produção da parte aquosa do filme lacrimal, a porção mucosa é produzida pelas células calciformes presentes na conjuntiva e a porção lipídica é produzida pelas glândulas tarsais¹. O filme lacrimal é importante para fornecer nutrição à córnea, lubrificação e clareza corneana. A CCS quantitativa se refere à deficiência da porção aquosa, enquanto que a CCS qualitativa diz respeito à deficiência da porção mucosa ou lipídica, sendo esta a menos comum^{1,4}.

As principais causas da ceratoconjuntivite seca são autoimunes, próprias do organismo do animal, onde há um ataque às glândulas produtoras de lágrima⁶. A CCS pode ser mediada por doenças autoimunes como leishmaniose, cinomose e herpesvírus. Porém, também pode ser causada por defeitos congênitos, como agenesia ou hipoplasia da glândula lacrimal. A doença também pode ocorrer por meio de intervenções iatrogênicas, como excisão da glândula da terceira pálpebra, por traumas que lesam o nervo facial ou pela utilização de fármacos como as sulfas ou uso prolongado de atropina colírio por exemplo⁶.

O diagnóstico é feito por meio da anamnese, histórico do paciente e exame clínico. Neste, pode ser observado presença de soluto e pigmentação sobre a córnea, ressecamento e/ou inflamação. A doença é confirmada principalmente com a utilização de teste complementares, como, por exemplo, Teste lacrimal de Schirmer. É inserida uma fita no canto temporal do animal durante 1 minuto⁴. Resultados entre 15 - 25 mm/min são considerados normais, diante de um paciente sem mais alterações⁶. Valores encontrados inferiores a 15 mm/min são considerados pacientes suspeitos e eleitos a terem CCS. Deve-se levar em

consideração alguns fatores que podem alterar esta lógica, como inflamação do olho, entre outros⁶.

O tratamento é realizado de forma contínua, através da retirada da causa de base, onde são utilizados os colírios imunomoduladores ou imunossuppressores, que freiam a agressão sofrida nas glândulas lacrimais, são exemplos deles: Ciclosporina, Tacrolimus, Pimecrolimus e Lifitegraste^{2,4}. Para retirar o animal da crise, são utilizados colírios antibióticos como Tobramicina ou Ciprofloxacino, podem ser usados colírios anti-inflamatórios como Diclofenaco, Ceterolaco, e em casos onde o paciente não apresente úlceras de córnea podem ser usados colírios corticóides, como Prednisolona ou Dexametasona².

Para muitos tutores, o uso contínuo e prolongado dos colírios no tratamento da ceratoconjuntivite seca se torna difícil e até mesmo impraticável, por isso outros métodos de tratamentos estão sendo estudados e testados nos animais. Dentre eles se destaca o uso de células-tronco, estas capazes de se diferenciarem em vários tipos celulares^{1,8}. Possuem propriedades imunomoduladoras e efeitos parácrinos diante de lesões ou injúrias, substituindo células danificadas por células íntegras. Elas podem ser classificadas como embrionárias, que são pluripotentes e originadas a partir do embrião no estágio de blastocisto, e as células-tronco adultas ou mesenquimais, obtidas por meio do cordão umbilical, da medula óssea, tecido adiposo, sangue periférico ou de outros órgãos. As células tronco mesenquimais não possuem capacidade de originar um organismo completo, diferente das embrionárias^{1,7}.

As células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo são multipotentes e estão presentes na região perivasculare, células adiposas, estromais e progenitoras^{1,5}. Sua utilização se tornou presente devido a sua abundância e facilidade de obtenção por meio de cirurgias menos invasivas. Possuem uma taxa de sucesso no isolamento de 100% e taxa de rendimento maior que 40% comparado à medula óssea, além de que sua quantidade parece não diminuir com o avanço da idade^{1,8}.

Um experimento foi realizado na Universidade Federal Rural da Amazônia, onde foram utilizados 4 cães adultos, com idade entre 6-10 anos, todos com ceratoconjuntivite grave, apresentando Schirmer de 1-2 mm/min¹. Para coleta do tecido adiposo, os animais foram submetidos a anestesia geral, tricotomia e retirada do tecido adiposo pelo flanco. As amostras foram lavadas com solução salina equilibrada de hank e digeridas com colagenase tipo IV, mantidas a 37 graus em estufa de cultivo celular. Para diferenciação adipogênica, as células foram incubadas em placa de 24 poços, contendo DMEM/F12, em uma densidade de 1x10⁴ células/cm² no quarto repique. Após 24 horas, este meio de expansão foi substituído pelo kit de diferenciação adipogênica. Foram cultivadas durante 21 dias, com a troca do meio a cada 2 dias. Para confirmar a diferenciação em adipócitos, as células foram lavadas duas vezes com PBS, fixadas em Paraformaldeído 4% por 1 hora à temperatura ambiente, sendo lavadas novamente em PBS e coradas com 1,25% Oil Red O por 5 minutos para a visualização do acúmulo intracelular de vacúolos enriquecidos de lipídeos. Os animais em questão receberam 1x10⁶ células em média no repique 2, diluídas em 0,1 mL de solução salina 0,9%, por via tópica, com auxílio de uma seringa de insulina. Foram realizadas 3 aplicações a cada 30 dias. Durante todo o experimento, os animais foram monitorados e não foram encontradas úlceras de córnea, houve diminuição da secreção purulenta, da opacidade da córnea e vascularização da córnea¹.

Não é comprovado remissão da doença, principalmente em casos crônicos onde há presença de tecido fibrótico⁶. Em animais que possuem doenças associadas, causadoras ou não da ceratoconjuntivite seca, com altos níveis de células inflamatórias no organismo, não obtiveram respostas duradouras frente ao tratamento¹. O estudo mostrou que o transplante de células-tronco derivadas de tecido adiposo é um procedimento seguro e bem tolerado pelos cães, induzindo aumento no



XII Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente

teste de Schirmer e não revelando a ocorrência de nenhum tipo de enfermidade associada com formação anormal de tecido, nem com incidência de tumor ou rejeição tecidual, não necessitando do uso de drogas imunossupressoras¹.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mesmo tendo um custo elevado em relação ao tratamento convencional, o uso de células-tronco tem mostrado boa eficiência no tratamento da CCS, reduzindo todos aqueles sinais clássicos e evidentes do paciente acometido pela doença. Para alcançar melhores resultados, novas pesquisas e testes precisam ser feitos, principalmente naqueles pacientes com um grau moderado a baixo da patologia, visto que estes poderiam responder melhor a técnica proposta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- CARNEIRO, Raquel. **Uso tópico de células-tronco mesenquimais e cães com ceratoconjuntivite seca (CCS)**. Tese (mestrado em Saúde e Produção Animal) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2018.
- 2- CURY, Lara, CARVALHO, Clarissa, GALERA, Paula. **Canine keratoconjunctivitis sicca therapeutics: literature review**. Revista bras. Ci. Vet, v.30, n.1, p. 9-18, 2023.
- 3- GANDOLFI, Micaela. **Uso alogênico de células tronco e plasma rico e plaquetas no tratamento de ceratoconjuntivite seca em cão**. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2019.
- 4- LEANDRO, Giovana; et al. Ceratoconjuntivite seca em cães. **Revista Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 15, n.28, p.297, Goiânia.
- 5- MOTTIN, Yasmin. **Comparação clínica da produção lacrimal, em cães com ceratoconjuntivite seca, utilizado tratamento com células-tronco pela via tópica e periglandular**. Anais Expoulbra, Canoas, RS, 2015.
- 6- ORIÁ, Arianna; et al. Ceratoconjuntivite seca em cães. **Revista PUBVET**, v.4, n.30, Ed. 135, Art. 914, 2010.
- 7- RAMOS S.D, CRUZ, R.M.A, MIGLINO M.A. Células-tronco de membrana amniótica de cão como terapia alternativa para o tratamento de ceratoconjuntivite seca em cães. **Revista conselho regional de medicina veterinária de São Paulo**, v.2, p. 87-88, 2006.
- 8- SGRIGNOLI, Marcos. **Uso tópico de células-tronco mesenquimais heterólogas de tecido adiposo canino no tratamento de ceratoconjuntivite seca em cães**. Tese (Doutorado em Saúde Animal) - UNOESTE, Presidente Prudente, SP, 2018.
- 9- SILVA, Aline. **Oftalmologia Veterinária**. Editora e Distribuidora Educacional, p.200. 2017.