

SIMONE REZENDE GALVÃO

**GLÂNDULAS SALIVARES LABIAIS DE CÃES:  
ESTUDO IN SITU E APÓS TRANSPLANTAÇÃO EM OLHOS HÍGIDOS  
OU PORTADORES DE CERATOCONJUNTIVITE SECA EXPERIMENTAL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

G182g  
2014 Galvão, Simone Rezende, 1969-  
Glândulas salivares labiais de cães : estudo *in situ* e  
após transplantação em olhos hígidos ou portadores de  
ceratoconjuntivite seca experimental / Simone Rezende  
Galvão. - Viçosa, MG, 2014.  
xii, 70f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Ricardo Junqueira Del Carlo.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Cão - Doenças. 2. Glândulas salivares. 3. Cão. 4.  
Olhos. 5. Ceratoconjuntivite. I. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de  
Pós-Graduação em Medicina Veterinária. II. Título.


CDD 22. ed. 636.7089

SIMONE REZENDE GALVÃO

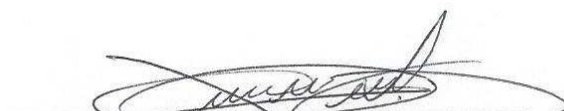
**GLÂNDULAS SALIVARES LABIAIS DE CÃES:  
ESTUDO IN SITU E APÓS TRANSPLANTAÇÃO EM OLHOS HÍGIDOS  
OU PORTADORES DE CERATOCONJUNTIVITE SECA EXPERIMENTAL**

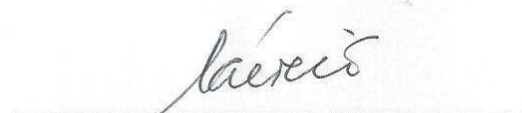
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de Doctor Scientiae.


APROVADA: 30 de janeiro de 2014.

  
Daise Nunes Queiroz da Cunha

  
Richard da Rocha Filgueiras

  
Kelly Cristine Sousa Pontes

  
Laércio dos Anjos Benjamin  
(Coorientador)

  
Ricardo Junqueira Del Carlo  
(Orientador)

A DEUS.

A um grande amigo, MEU PAI (in memoriam),  
motivo de mais esta conquista.

À minha mãe.

Ao Marcelo, meu marido;  
e às minhas filhas Isabella e Júlia.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, professor Ricardo Junqueira Del Carlo, pelos seus ensinamentos e aconselhamentos durante toda a minha vida acadêmica e pela grande competência, dedicação e empenho em todas as fases deste trabalho. Todo meu respeito e gratidão.

Ao meu co-orientador, professor Laércio dos Anjos Benjamin, pelo acolhimento, ensinamentos e sugestões durante a execução e redação deste trabalho. Minha eterna gratidão.

À professora Andréa Pacheco Batista Borges, por tudo que sempre fez, pelo carinho, apoio e ajuda imprescindível na realização deste trabalho. Todo meu respeito e admiração.

Ao professor Fernando Antônio Bretas Viana, pela valiosa contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor João Carlos Pereira da Silva, pelos conhecimentos e valiosa contribuição neste trabalho.

Ao professor Cláudio César Fonseca, por toda a ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Clóvis Andrade Neves, pela colaboração e Eduardo Paulino da Costa, pela orientação na realização das análises estatísticas.

À Ophthalmos Indústria Farmacêutica Ltda. e Agener União-Saúde Animal, pelo fornecimento de material necessário para a condução deste trabalho.

Aos funcionários Carmen, Maria José, Adão, Cláudio, Claudiomiro, pessoas fundamentais durante a condução deste trabalho e amigos importantes em minha vida.

Ao doutorando Carlos Eduardo Real Pereira, do Departamento de Veterinária, pela ajuda e importante colaboração neste trabalho.

Ao doutorando Rafael, do Departamento de Zootecnia, por ter disponibilizado o microscópio de luz utilizado neste trabalho.

Ao amigo Lucas Marcon, pela ajuda na realização das análises estatísticas.

Aos técnicos do Departamento de Biologia Geral, Matheus e Alex, pela disponibilidade e atenção.

Às colegas e amigas de pós-graduação Tatiana, Liana e Kelly, pelo apoio e colaboração. Em especial a Emily, grande amiga e parceira, cuja ajuda foi fundamental para a conclusão deste trabalho.

Aos amigos Ana Paula, Natália, Rodrigo, Gustavo, Fabrício, Paulo, Vanessa e Deise, pela ajuda, que tornou possível a realização deste trabalho.

À secretária da pós-graduação Rosi, pela amizade, carinho e disposição em ajudar sempre.

Aos professores e funcionários do Departamento de Veterinária, pelo agradável convívio durante todo o meu aprendizado.

Aos animais, minha eterna gratidão.

Ao meu sogro Paulo César, pela importante ajuda e dedicação com as netas, nos momentos em que estive ausente.

Aos meus irmãos e cunhado, pelo incentivo.

Ao meu marido Marcelo e às minhas filhas Júlia e Isabella, pelo apoio e reconhecimento da importância deste trabalho.

À minha mãe, a quem muito admiro, pelo apoio e presença sempre constante em minha vida.

Ao meu pai, pelo apoio e ajuda durante quase toda a execução deste trabalho. Apesar de sua partida inesperada, tenho certeza de sua oração e de seu orgulho pela conclusão deste trabalho. Saudades!

## **BIOGRAFIA**

SIMONE REZENDE GALVÃO, filha de José Domingos Galvão e Marilene Rezende Pinheiro Galvão, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 15 de outubro de 1969.

Em janeiro de 1994, graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Em novembro de 1994, obteve o título de Especialista em Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

De 1995 a 2000, atuou como Técnica de Nível Superior do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Em julho de 1998, obteve o título de Magister Scientiae pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Em 2008, atuou como professora substituta de Técnica Operatória no Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Em agosto de 2009, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, obtendo o título de Doctor Scientiae em janeiro de 2014.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 1 - ASPECTOS MORFOLÓGICOS, MORFOMÉTRICOS E HISTOQUÍMICOS DAS GLÂNDULAS SALIVARES LABIAIS DE CÃES.....	7
RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUÇÃO.....	9
MATERIAL E MÉTODOS.....	10
Animais.....	10
Coleta e preparo do material.....	10
Avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica.....	11
Análise estatística.....	12
RESULTADOS.....	12
Avaliação morfológica.....	12
Avaliação morfométrica.....	13
Avaliação histoquímica.....	13
DISCUSSÃO.....	13
CONCLUSÕES.....	16
COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA.....	16
AGRADECIMENTOS.....	17
REFERÊNCIAS.....	17
CAPÍTULO 2 - TRANSPLANTE DE GLÂNDULAS SALIVARES LABIAIS AUTÓGENAS EM CÃES: ABORDAGENS CLÍNICA OFTALMOLÓGICA E HISTOLÓGICA EM OLHOS HÍGIDOS OU PORTADORES DE CERATOCONJUNTIVITE SECA QUANTITATIVA EXPERIMENTAL.....	23
1. INTRODUÇÃO.....	24
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	24
2.1. Anatomofisiologia da produção lacrimal.....	24
2.2. Patogênese da ceratoconjuntivite seca quantitativa.....	26
2.3. Abordagens clínica e cirúrgica da ceratoconjuntivite seca quantitativa.....	27
3. OBJETIVOS.....	31
3.1. Objetivo geral.....	31
3.2. Objetivos específicos.....	31

4. MATERIAL E MÉTODOS .....	32
4.1. Aquisição e seleção dos animais .....	32
4.2. Grupos experimentais.....	33
4.3. Etapa 1.....	34
4.3.1. Preparo pré-operatório.....	34
4.3.2. Procedimento cirúrgico .....	35
4.3.2.1. Sítio receptor.....	35
4.3.2.2. Obtenção do transplante .....	36
4.3.2.3. Sutura do transplante e sítio doador .....	36
4.3.3. Procedimentos pós-operatórios .....	37
4.3.4. Avaliação clínica do sítio receptor .....	37
4.3.5. Avaliação clínica do sítio doador .....	37
4.3.6. Avaliação clínica oftalmológica.....	37
4.3.7. Avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica .....	38
4.4. Etapa 2.....	39
4.4.1. Indução da ceratoconjuntivite seca .....	39
4.4.1.1. Procedimento cirúrgico.....	40
4.4.1.2. Procedimentos pós-operatórios.....	40
4.4.2. Avaliação clínica oftalmológica da ceratoconjuntivite seca .....	41
4.4.3. Tratamento da ceratoconjuntivite seca.....	41
4.4.4. Avaliação clínica do sítio receptor .....	41
4.4.5. Avaliação clínica do sítio doador .....	42
4.4.6. Avaliação clínica oftalmológica.....	42
4.4.7. Avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica .....	42
4.5. Análise estatística.....	42
5. RESULTADOS .....	43
5.1. Etapa 1.....	43
5.1.1. Avaliação clínica do sítio receptor .....	43
5.1.2. Avaliação clínica do sítio doador .....	43
5.1.3. Avaliação clínica oftalmológica.....	43
5.1.4. Avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica .....	45
5.2. Etapa 2.....	48
5.2.1. Avaliação clínica oftalmológica da ceratoconjuntivite seca .....	48
5.2.2. Avaliação clínica do sítio receptor .....	48
5.2.3. Avaliação clínica do sítio doador .....	48

5.2.5. Avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica .....	52
6. DISCUSSÃO .....	54
7. CONCLUSÕES .....	63
8. REFERÊNCIAS.....	64
CONCLUSÕES GERAIS.....	70

## RESUMO

GALVÃO, Simone Rezende, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2014. **Glândulas salivares labiais de cães: estudo in situ e após transplantação em olhos hígidos ou portadores de ceratoconjuntivite seca experimental.** Orientador: Ricardo Junqueira Del Carlo. Coorientador: Laércio dos Anjos Benjamin.

Foram avaliadas glândulas salivares labiais de cães in situ e após transplantadas na conjuntiva da pálpebra superior de olhos hígidos ou olhos portadores de ceratoconjuntivite seca (CCS) experimental. No estudo in situ, glândulas salivares labiais, juntamente com a mucosa oral, foram removidas de 10 cadáveres de cães adultos, como peça única, no lábio inferior esquerdo na região anatômica do segundo dente pré-molar até a borda distal do segundo molar. Amostras das regiões rostral, média e caudal da peça foram processadas para avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica. Para o estudo in vivo, constituído de duas etapas, foram utilizados 10 cães adultos, hígidos, distribuídos em dois grupos de cinco animais. Na etapa 1, a conjuntiva da pálpebra superior do olho esquerdo de cinco animais recebeu transplante de glândulas salivares labiais (TGSL) autógenas, formando o grupo hígido/TGSL e o olho contralateral foi utilizado como controle. Foram avaliados o sítio receptor e o doador, por meio de estudo clínico, a influência do transplante no olho hígido, por meio de exame clínico oftalmológico, e na 17ª semana após a realização do transplante, os aspectos morfológico, morfométrico e histoquímico do tecido glandular. Na etapa 2, em cinco animais, foi desenvolvido o quadro de CCS experimental no olho esquerdo. Após estabelecimento do quadro clínico oftalmológico de CCS, a conjuntiva da pálpebra superior do olho esquerdo dos animais recebeu o TGSL autógenas, formando o grupo CCS/TGSL. Foram avaliados o sítio receptor, o sítio doador, a influência do transplante de glândulas salivares labiais autógenas na CCS, por meio de estudo clínico oftalmológico, e os aspectos morfológico, morfométrico e histoquímico do tecido glandular 17 semanas após o transplante. O TGSL autógenas, com 1,2 cm de extensão, foi obtido do lábio inferior esquerdo na região anatômica do último pré-molar e primeiro molar inferiores, e foi acondicionado na conjuntiva da pálpebra superior. No estudo in situ, as glândulas salivares labiais foram facilmente palpadas na região de coleta, tornando-se mais agrupadas no sentido caudal, e classificadas como glândulas exócrinas, compostas, túbuloacinosas, mistas, predominantemente mucosas, com

presença de semiluas serosas envolvendo algumas unidades secretoras mucosas, sendo seu sistema de ductos formado por ductos intralobulares intercalares e estriados, ductos interlobulares e ducto excretor principal. Na região rostral havia menor quantidade de parênquima em relação às demais regiões, e o diâmetro dos ácinos se manteve equivalente nas três regiões. Houve reação positiva ao PAS e ao Alcian blue nas três regiões, demonstrando presença de mucinas neutras, ácidas carboxiladas e ácidas sulfatadas. As semiluas serosas apresentaram reação positiva ao Xylidine Ponceau, indicando presença de proteínas. No estudo in vivo, o TGSL autógenas com 1,2 cm de extensão foi coletado e acondicionado na conjuntiva da pálpebra superior sem apresentar complicações no sítio doador e receptor, respectivamente. Em olhos hígidos, após o transplante de glândulas labiais, não houve aumento ( $p>0,05$ ) da produção de lágrima, nem interferência desfavorável tanto na estabilidade do filme lacrimal quanto na superfície da córnea. Os olhos com CCS experimental associados ao transplante apresentaram resultados clínicos favoráveis, quando comparados aos obtidos após indução do quadro, com presença de secreção salivar, confirmada pelo teste de Schirmer I e pela análise histoquímica. A secreção salivar lubrificou a superfície ocular tornando favorável o resultado da avaliação das células desvitalizadas. As glândulas salivares labiais transplantadas em olhos hígidos apresentaram maior preservação da arquitetura histológica do que em olhos com CCS experimental, sendo que em ambos, os transplantes demonstraram manutenção do padrão histoquímico.

## ABSTRACT

GALVÃO, Simone Rezende, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, January, 2014.  
**Dogs' labial salivary glands: in situ study and after transplantation in healthy eyes or in eyes presenting experimentally induced keratoconjunctivitis sicca.** Adviser: Ricardo Junqueira Del Carlo. Co-adviser: Laércio dos Anjos Benjamin.

Labial salivary glands were evaluated in situ and after being transplanted into the upper eyelid conjunctiva of healthy eyes or eyes presenting experimentally induced keratoconjunctivitis sicca (KCS). For in situ study, labial salivary glands together with oral mucosa were removed from 10 cadavers of adult dogs as one piece from the anatomic region of the second pre-molar to the distal border of the second molar of the lower left lip. Samples from the rostral, medial and caudal piece were processed for morphologic, morphometric and histochemical evaluations. For the in vivo study constituted of 2 steps, 10 healthy adult dogs were used, distributed in two groups of five animals each. In the first step, the upper conjunctive eyelid of the left eye of five animals received autogenous labial salivary gland transplant (LSGT), forming the healthy/LSGT group and the contralateral eye was used as control. The host and donor sites were clinically evaluated, the influence of the transplant on the healthy eye with ophthalmic clinical examination and on the 17<sup>th</sup> week after the transplant, morphologic, morphometric and histochemical aspects of the glandular tissue were analyzed. For step 2, in 5 animals KCS was experimentally induced on the left eye. After the ophthalmic clinical establishment of KCS the upper conjunctive eyelid of the left eye of the animals received autogenous LSGT, forming the KCS/LSGT group. The host and donor sites were evaluated as well as the influence of the autogenous labial salivary glands on KCS by ophthalmic clinical examination, and morphologic, morphometric and histochemical aspects of the glandular tissue 17 weeks after transplant. The 1.2 cm long autogenous LSGT was obtained from the anatomic region of the last lower pre-molar to the first molar of the lower left lip and placed in the upper conjunctive eyelid. In the in situ study, labial salivary glands were easily palpated in the harvest point, becoming better grouped caudally and classified as exocrine, compound, tubuloacinar, mixed, predominantly mucous with semilunar serous parts involving some secretory mucous units, with a duct system formed by striated and intercalated intralobular ducts, interlobular ducts and main excretory duct. In the rostral region, a lower amount of

parenchyma existed in relation to the remaining regions and acini diameters remained the same in the three regions. PAS and Alcian blue positive reactions in the three regions were observed, demonstrating the presence of neutral, carboxylated acid and sulphated acid mucins. Serous semilunar parts presented positive reaction to Xylidine Ponceau, indicating the presence of proteins. In the in vivo study, the 1.2 cm autogenous LSGT was collected and placed in the upper conjunctive eyelid without any complications for the donor and host sites, respectively. In healthy eyes after labial gland transplant there was no increase in tear production ( $p>0.05$ ) nor an unfavorable interference both on the lachrymal film stability and cornea surface. Eyes with experimentally induced KCS associated to transplants presented favorable clinical signs when compared to their clinical presentation after KCS induction, with salivary secretion confirmed by Schirmer I and by histochemical analysis. Salivary secretion lubricated ocular surface making the evaluation of devitalized cells favorable. Labial salivary glands transplanted in healthy eyes maintained better their histological architecture than KCS eyes, while in both the transplants maintained their histochemical patten.

## INTRODUÇÃO GERAL

A ceratoconjuntivite seca (CCS) ou olho seco é uma condição clínica comum em cães (ROCHA, 2012), considerada sinônimo com deficiência lacrimal quantitativa, associada à produção inadequada do componente aquoso do filme lacrimal, com resultante inflamação da córnea e da conjuntiva (GIULIANO; MOORE, 2007). Também tem sido definida por deficiência quantitativa no componente aquoso do filme lacrimal ou deficiência qualitativa nas suas outras camadas (ALMEIDA et al., 2009).

O filme lacrimal, responsável pela manutenção da integridade da superfície ocular juntamente com os anexos oculares (GIULIANO; MOORE, 2007), é constituído pelas camadas lipídica, aquosa e mucosa, com interação fechada entre elas (AGUILAR, 2008; RIBEIRO et al., 2008). Anormalidades em qualquer um de seus componentes podem alterar a dinâmica do fluido lacrimal e comprometer sua função (GIULIANO; MOORE, 2007).

Na deficiência da camada aquosa ocorre aumento da osmolaridade do filme lacrimal com consequente inflamação da superfície ocular (GIULIANO; MOORE, 2007). Desta forma, os sinais clínicos variam em função da gravidade e duração da doença (OFRI et al., 2009; ROSA et al., 2012).

Diversas etiologias são descritas para a CCS, incluindo agenesia da glândula lacrimal, deficiência lacrimal iatrogênica, adenite lacrimal infecciosa, induzida por drogas, protusão da glândula da terceira pálpebra, trauma na região orbital e supraorbital, imunomediada, atrofia senil e neurogênica (ALMEIDA et al., 2004; GIULIANO; MOORE, 2007; HERRERA et al., 2007; MILLER, 2008; ALMEIDA et al., 2009). Entretanto, como em muitos casos a etiologia não pode ser determinada, uma etiologia imunomediada é assumida (GRAHN; STOREY, 2004; GIULIANO; MOORE, 2007; MILLER, 2008).

O diagnóstico é baseado no histórico, sinais clínicos, tempo de ruptura do filme lacrimal, teste lacrimal de Schirmer I (TLS) com valores inferiores a 10 mm/min, e corantes da superfície ocular (GIULIANO; MOORE, 2007; MILLER, 2008; WESTERMEYER et al., 2009). O TLS é considerado o teste padrão para avaliar a produção de lágrimas em cães (WILLIAMS, 2005), sendo que o TLS I mensura a produção lacrimal basal e a reflexa, enquanto o TLS II, somente a produção lacrimal basal (HARTLEY et al., 2006).

A terapia médica é a primeira consideração no tratamento da CCS, sendo esta influenciada pela etiologia, gravidade da doença e comprometimento do proprietário com a realização do esquema proposto (GRAHN; STOREY, 2004; GIULIANO; MOORE, 2007). A terapia é baseada no emprego de substituto lacrimal, estimulante lacrimal, agentes antimicrobianos e anti-inflamatórios, de forma isolada ou associada (GIULIANO; MOORE, 2007).

Técnicas cirúrgicas têm sido descritas na literatura humana envolvendo o emprego de glândulas salivares, devido a existência de semelhanças constitutivas entre saliva e fluido lacrimal, incluindo osmolaridade e pH (GIULIANO; MOORE, 2007). Dentre estas técnicas, o transplante de glândulas salivares labiais autógenas tem remetido à redução ou suspensão do uso de lágrimas artificiais, em função de produção salivar local suficiente e estável (RAUS, 2003; GÜERRISSI; BELMONTE, 2004; SOARES; FRANÇA, 2005; GEERLING et al., 2008; GUPTA, 2012; SANT'ANNA et al., 2012).

Em Medicina Veterinária, alguns tratamentos cirúrgicos têm sido empregados, como a oclusão do ponto lacrimal (WILLIAMS, 2002; ROSA et al., 2012) e a transposição do ducto da glândula parótida (HERRERA et al., 2007). Entretanto, limitações têm sido associadas à técnica de oclusão do ponto lacrimal em cães sem nenhuma produção de lágrima (WILLIAMS, 2002) e complicações relatadas ao emprego da transposição, como secreção salivar excessiva e dermatite facial (HERRERA et al., 2007). Estudos recentes (ANGÉLICO et al., 2011; ROCHA, 2012) envolvendo transplante de glândulas salivares labiais autógenas, em cães com quadro clínico de CCS, relatam resultados preliminares satisfatórios.

No cão, as glândulas salivares são classificadas em maiores e menores, sendo as primeiras constituídas pelas glândulas parótida, mandibular, sublingual, zigomática, localizadas a certa distância da cavidade oral (BANKS, 1991; DYCE et al., 2004). Segundo Banks (1991) seu sistema de ductos é constituído pelos ductos intralobular intercalar e estriado, lobular, intralobar, lobar e excretor.

As glândulas salivares menores são compostas pelas glândulas labiais, linguais, bucais e palatinas e encontram-se localizadas no interior da lâmina própria-submucosa, em estreita proximidade com o epitélio de revestimento (BANKS, 1991; DYCE et al., 2004; FRAPPIER, 2006). Constituem-se em formas miniaturizadas das glândulas maiores, variando entre mucosas, serosas ou mistas (BANKS, 1991; FRAPPIER, 2006),

sendo as glândulas salivares labiais classificadas como glândulas mucosas por Banks (1991) e como glândulas mistas predominantemente mucosas por Rocha (2012).

A organização das glândulas salivares é semelhante (BANKS, 1991), cujas unidades secretoras podem ocorrer na forma acinar, tubular ou túbuloacinosas (FRAPPIER, 2006). Entretanto, nas glândulas salivares menores o sistema de ductos apresenta-se menos desenvolvido (HAND et al., 1999), não sendo os ductos estriados característicos das mesmas (FRAPPIER, 2006).

Os ductos estriados são estruturas grandes dentro dos lóbulos, caracterizados por estriações na porção basal da célula, resultante da orientação perpendicular de mitocôndrias dentro de compartimentos formados pela membrana basal (BANKS, 1991; FRAPPIER, 2006), sendo importantes no processo secretório (FRAPPIER, 2006). Entretanto, estes ductos não estão presentes em glândulas salivares exclusivamente mucosas (BANKS, 1991).

A despeito de seu nome, as glândulas menores desempenham importante papel na fisiologia da cavidade oral, sendo que sua secreção providencia um fluxo contínuo de fluido e substâncias orgânicas para umedecer e proteger os tecidos (HAND et al., 1999).

Em função do interesse crescente na utilização das glândulas salivares labiais na terapia da ceratoconjuntivite seca em cães, e da existência de controvérsias referentes ao seu tipo de secreção, torna-se importante o conhecimento do tipo de secreção e de características que possam ser utilizadas em sua avaliação após transplantadas.

Este trabalho teve como objetivos descrever aspectos morfofuncionais referentes às glândulas salivares labiais de cães in situ e depois de transplantadas para olhos hígidos ou portadores de ceratoconjuntivite seca quantitativa experimental em cães.

## REFERÊNCIAS

- AGUILAR, A.J. Tears osmolarity in dry eye. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 71, n. 6, p. 69-71, 2008.
- ALMEIDA, D.E.; MAMEDE, F.V.; ORTIZ, J.P.D.; LAUS, J.L. Iatrogenic keratoconjunctivitis sicca in a dog. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 921-924, 2004.
- ALMEIDA, D.E.; ROVERATTI, C.; BRITO, F.L.C.; GODOY, G.S.; DUQUE, J.C.M.; BECHARA, G.H.; LAUS, J.L. Conjunctival effects of canine distemper vírus-induced keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v. 12, n. 4, p. 211-215, 2009.
- ANGÉLICO, G.T.; RANZANI, J.J.T.; BRANDÃO, C.V.S.; SCHELLINI, S.A.; PADOVANI, C.R. Transplante de glândulas salivares menores no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 5, p. 1087-1092, 2011.
- BANKS, W.J. Sistema digestivo II - Órgãos extramurais. In:\_\_\_\_. **Histologia veterinária aplicada**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1991. cap. 22, p. 465-480.
- DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. Aparelho digestório. In:\_\_\_\_. **Tratado de anatomia veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. cap. 3, p. 99-145.
- FRAPPIER, B.L. Digestive system. In: EURELL, J.A.; FRAPPIER, B.L. **Dellmann's textbook of veterinary histology**. 6.ed. Iowa: Blackwell, 2006. cap. 10, p. 170-211.
- GEERLING, G.; RAUS, P.; MURUBE, J. Minor salivary gland transplantation. **Developments in Ophthalmology**, v. 41, p. 243-254, 2008.
- GIULIANO, E.A.; MOORE, C.P. Diseases and surgery of the lacrimal secretory system. In: GELATT, K.N. **Veterinary ophthalmology**. 4.ed. Victoria: Blackwell, 2007. cap. 13, p. 633-661.
- GRAHN, B.H.; STOREY, E.S. Lacrimostimulants and lacrimomimetics. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 739-753, 2004.
- GÜERRISSI, J.O.; BELMONTE, J. Surgical treatment of dry eye syndrome: Conjunctival graft of the minor salivary gland. **Journal of Craniofacial Surgery**, v. 15, n. 1, p. 6-10, 2004.
- GUPTA, V.P. Labial salivary glands transplantation for severe dry eye due to Stevens-Johnson Syndrome. In: ALL INDIA OPHTHALMOLOGICAL CONFERENCE (AIOC), 70., 2012, Cochin. **Proceedings...** Cochin: Free\_Papers, 2012. Disponível em: <[http://www.aioseducation.org/2012/Free\\_Papers/BOB1.pdf](http://www.aioseducation.org/2012/Free_Papers/BOB1.pdf)>. Acesso em: 8 jul. 2013.

HAND, A.R.; PATHMANATHAN, D.; FIELD, R.B. Morphological features of the minor salivary glands. **Archives of Oral Biology**, v. 44, S3-S10, 1999.

HARTLEY, C.; WILLIAMS, D.L.; ADAMS, V.J. Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 1, p. 53-57, 2006.

HERRERA, H.D.; WEICHSLER, N.; GÓMEZ, J.R.; JALÓN, J.A.G. Severe, unilateral, unresponsive keratoconjunctivitis sicca in 16 juvenile Yorkshire terriers. **Veterinary Ophthalmology**, v. 10, n. 5, p. 285-288, 2007.

MILLER, P.E. Lacrimal system. In: SLATTER, D. **Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology**. 4.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. cap. 9, p. 157-174.

OFRI, R.; LAMBROU, G.N.; ALLGOEWER, I.; GRAENITZ, U.; PENA, T.M.; SPIESS, B.M.; LATOUR, E. Clinical evaluation of pimecrolimus eye drops for treatment of canine keratoconjunctivitis sicca: a comparison with cyclosporine A. **Veterinary Journal**, v. 179, p. 70-77, 2009.

RAUS, P. Radiosurgery aids in salivary gland transplants for severe dry eye. **Ocular Surgery News**, v. 12, p. 16-18, 2003.

RIBEIRO, A.P.; BRITO, F.L.C.; MARTINS, B.C.; MAMEDE, F.; LAUS, J.L. Qualitative and quantitative tear film abnormalities in dogs. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 568-575, 2008.

ROCHA, G.L.S. **Transplante autólogo das glândulas salivares labiais, oclusão cirúrgica dos pontos lacrimais ou associação das duas técnicas no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães**. 2012. 65 f. Tese (Doutorado em Cirurgia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2012.

ROSA, A.S.; PEREIRA, J.T.; BOTTEON, R.C.C.M. Obstrução do duto nasolacrimal com etil-cianocrilato como adjuvante no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 4, p. 353-360, 2012.

SANT'ANNA, A.E.B.P.P.; HAZARBASSANOV, R.M.; FREITAS, D.; GOMES, J.A.P. Minor salivary glands and labial mucous membrane graft in the treatment of severe symblepharon and dry eye in patients with Stevens-Johnson syndrome. **British Journal of Ophthalmology**, v. 96, p. 234-239, 2012.

SOARES, E.J.C.; FRANÇA, V.P. Transplante de glândulas salivares labiais no tratamento do olho seco grave. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 68, n. 4, p. 481-489, 2005.

WESTERMEYER, H.D.; WARD, D.A.; ABRAMS, K. Breed predisposition to congenital alacrima in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2009.

WILLIAMS, D.L. Use of punctal occlusion in the treatment of canine keratoconjunctivitis sicca. **Journal of Small Animal Practice**, v. 43, n. 11, p. 478- 481, 2002.

WILLIAMS, D.L. Analysis of tear uptake by the Schirmer tear test strip in the canine eye. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, n. 5, p. 325-330, 2005.

## **CAPÍTULO 1**

### **Aspectos morfológicos, morfométricos e histoquímicos das glândulas salivares labiais de cães\***

### **Morphological, morphometric and histochemical aspects of dogs labial salivary glands**

**Simone Rezende Galvão<sup>I\*</sup> Ricardo Junqueira Del Carlo<sup>I</sup> Andréa Pacheco Batista Borges<sup>I</sup> Laércio dos Anjos Benjamin<sup>I</sup>**

**Cláudio César Fonseca<sup>I</sup> Lucas Marcon<sup>I</sup> Carlos Eduardo Real Pereira<sup>I</sup>**

#### **RESUMO**

As glândulas salivares labiais, juntamente com a mucosa oral, foram removidas de 10 cadáveres de cães adultos, como peça única, do lábio inferior esquerdo na região anatômica do segundo dente pré-molar até a borda distal do segundo molar. Amostras das regiões rostral, média e caudal da peça foram processadas para avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica. As glândulas salivares labiais foram facilmente palpadas na região de coleta, tornando-se mais agrupadas no sentido caudal. O estudo revelou glândulas exócrinas, compostas, túbuloacinosas, mistas, predominantemente mucosas, com presença de semiluas serosas associadas a algumas unidades secretoras mucosas, sendo seu sistema de ductos formado por ductos intralobulares intercalares e estriados, ductos interlobulares e ducto excretor principal. Na região rostral havia menor quantidade de parênquima em relação às demais regiões,

---

\* Manuscrito submetido à Revista Ciência Rural.

<sup>I</sup> Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa (UFV), 36570-900, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: simone.galvao@ufv.br. \*Autora para correspondência.

e o diâmetro dos ácinos se manteve equivalente nas três regiões. Houve reação positiva ao PAS e ao Alcian blue nas três regiões, demonstrando presença de mucinas neutras, ácidas carboxiladas e ácidas sulfatadas. As semiluas serosas apresentaram reação positiva ao Xylidine Ponceau, indicando presença de proteínas.

**Palavras-chave:** caracterização glandular; glândula salivar menor; glândula salivar labial.

## **ABSTRACT**

Labial salivary glands together with oral mucosa were removed from 10 cadavers of adult dogs as one piece from the anatomic region of the second pre-molar to the distal border of the second molar of the lower left lip. Samples from the rostral, medial and caudal piece were processed for morphologic, morphometric and histochemical evaluations. Labial salivary glands were easily palpated in the harvest point, becoming better grouped caudally. The study revealed exocrine, compound, tubuloacinar, mixed glands, predominantly mucous with semilunar serous parts associated with some secretory mucous units, with a duct system formed by striated and intercalated intralobular ducts, interlobular ducts and main excretory duct. In the rostral region, a lower amount of parenchyma existed in relation to the remaining regions and acini diameters remained the same in the three regions. PAS and alcian blue positive reactions in the three regions were observed, demonstrating the presence of neutral, carboxylated acid and sulphated acid mucins. Serous semilunar parts presented positive reaction to Xylidine Ponceau, indicating the presence of proteins.

**Key words:** glandular characterization; minor salivary glands; labial salivary glands.

## INTRODUÇÃO

As glândulas salivares do cão são classificadas em maiores e menores, sendo as primeiras constituídas pelas glândulas parótida, mandibular, sublingual e zigomática (BANKS, 1991a; DYCE et al., 2004). Segundo BANKS (1991a), sua via secretora é constituída pelos ductos intralobular intercalar, intralobular estriado, lobular, intralobar, lobar e excretor.

As glândulas salivares menores constituem formas miniaturizadas das glândulas maiores, variando entre mucosas, serosas ou mistas (BANKS, 1991a; FRAPPIER, 2006). Estão localizadas no interior da lâmina própria-submucosa, em estreita proximidade com o epitélio de revestimento, sendo compostas pelas labiais, linguais, bucais e palatinas (BANKS, 1991a; DYCE et al., 2004; FRAPPIER, 2006). A organização das glândulas salivares é semelhante, embora não seja tão elaborada nas menores (BANKS, 1991a), cujas unidades secretoras podem ocorrer na forma acinar, tubular ou túbuloacinosas (FRAPPIER, 2006). Já o sistema de ductos, nas glândulas salivares menores, apresenta-se menos desenvolvido (HAND et al., 1999) e desprovido de ductos estriados (FRAPPIER, 2006).

As glândulas salivares labiais têm sido descritas como fonte alternativa para lubrificação da superfície ocular em humanos (MURUBE, 1997) e, mais recentemente, na Medicina Veterinária (ANGÉLICO et al., 2011; ROCHA, 2012). Embora o tipo de secreção das glândulas labiais já esteja estabelecido em humanos (RAUS, 2003; SOARES & FRANÇA, 2005) no cão, ainda existem contradições a este respeito, sendo classificadas como glândulas mucosas por BANKS (1991a) e como glândulas mistas predominantemente mucosas por ROCHA (2012).

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo descrever os aspectos morfológicos, morfométricos e histoquímicos das glândulas salivares labiais de cães,

que permitirão caracterizá-las para que possam ser utilizadas e avaliadas depois de transplantadas para a conjuntiva palpebral.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Animais**

Foram utilizados 10 cães adultos, machos, sem raça definida, com peso variando entre 14 e 21 kg, que vieram a óbito por patologias que não influenciaram a produção de saliva, doados após assinatura de termo de livre consentimento.

### **Coleta e preparo do material**

As glândulas salivares labiais localizadas topograficamente no lábio inferior do antímero esquerdo na região anatômica do segundo dente pré-molar até a borda distal do segundo molar, juntamente com a mucosa oral, foram dissecadas e removidas, imediatamente após o óbito, como peça única que, em seguida, foi seccionada perpendicular ao seu eixo maior, permitindo coletar uma amostra em cada região (rostral, média e caudal).

As amostras foram fixadas em formaldeído a 4% por 24 horas, em temperatura ambiente, e processadas segundo técnicas histológicas convencionais para inclusão em parafina. Em seguida, foram obtidos cortes de 5 µm de espessura, em micrótomo de rotação manual (Spencer), que foram montados em lâminas e corados com hematoxilina-eosina para descrição das características morfológicas e avaliação morfométrica. Para caracterizar o padrão histoquímico foram utilizados os métodos de Periodic Acid-Schiff (detecção de glicoconjugados neutros), Alcian blue pH 2,5 (detecção de glicoconjugados ácidos carboxilados e sulfatados), Alcian blue pH 0,5

(detecção de glicoconjugados ácidos sulfatados) e Xylidine Ponceau (detecção de proteínas).

As lâminas foram analisadas em microscópio de luz (Olympus BX50) e as imagens obtidas com câmera acoplada (CMOS), com auxílio de software (TSView).

### **Avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica**

Na avaliação morfológica, as características das glândulas foram determinadas principalmente em relação à forma e ao tipo de unidade secretora, além do sistema de ductos.

Na avaliação morfométrica foram analisados 10 diferentes campos escolhidos ao acaso, por animal, em cada uma das regiões rostral, média e caudal, para quantificar o parênquima e o estroma das glândulas. As mensurações foram realizadas em imagens obtidas com objetiva de 10X, por meio de quantificação dos pontos de intersecção sobre os componentes das glândulas, utilizando gradícula de  $90.000 \mu\text{m}^2$  de área, com 441 pontos de intersecção.

Para o diâmetro dos ácinos, as mensurações foram realizadas em imagens obtidas com objetiva de 10X, onde foram avaliados 30 ácinos apresentando características típicas, por animal, em cada uma das regiões rostral, média e caudal. Os índices morfométricos foram determinados por programa de análise de imagens (Image-Pro Plus 1.3.2, 1994).

A caracterização do padrão histoquímico da glândula foi baseada nos componentes orgânicos das secreções das unidades secretoras (ácinos e túbulos), sendo a reação histoquímica classificada em negativa e positiva. A positividade foi observada pela coloração magenta para o PAS, azul para o Alcian blue e vermelho-alaranjado para a Xylidine Ponceau.

## **Análise estatística**

Como as variáveis não atenderam as premissas de normalidade (Lilliefors) e homocedasticidade (Cochran), mesmo após as transformações apropriadas, os dados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Foi utilizado o programa Statistica 7.0 e nível de significância de 5%.

## **RESULTADOS**

### **Avaliação morfológica**

As glândulas salivares labiais coletadas no lábio inferior do antímero esquerdo apresentaram-se facilmente palpáveis e mais agrupadas em direção caudal. Nas três regiões avaliadas as glândulas foram observadas profundamente à mucosa de revestimento da cavidade vestibular, na túnica submucosa, e envolvendo-as estava presente tecido conjuntivo que se estendia pelo parênquima, dividindo a glândula em estruturas semelhantes a lóbulos (Figura 1A).

As glândulas foram descritas como exócrinas, compostas, túbuloacinosas, mistas predominantemente mucosas, com presença de células que constituíam estruturas semelhantes a semiluas serosas associadas a algumas unidades secretoras mucosas. Foram observadas diversas unidades secretoras puramente mucosas e algumas seromucosas. As células secretoras mucosas apresentaram núcleo achatado, localizado na superfície basal e citoplasma granuloso, enquanto as serosas, em estruturas em forma de semilua, exibiram núcleo arredondado (Figura 1B).

Foram observados ductos intralobulares revestidos por epitélio simples, contínuo com as unidades secretoras, denominados intercalares (Figura 1C); ductos intralobulares, de epitélio simples, com células apresentando estriações basais, designados estriados (Figuras 1D, 1E); ductos interlobulares, localizados no septo de

tecido conjuntivo, apresentando epitélio biestratificado (Figura 1F); e o ducto excretor principal, com epitélio estratificado.

### **Avaliação morfométrica**

Na análise morfométrica das três regiões das glândulas salivares labiais (rostral, média, caudal), a região rostral mostrou diferença ( $p < 0,05$ ) nos valores da quantificação do parênquima e estroma em relação às demais (Tabela 1). Entretanto, nenhuma diferença ( $p > 0,05$ ) foi observada, entre as três regiões, em relação ao diâmetro dos ácinos (Tabela 1).

### **Avaliação histoquímica**

Na avaliação histoquímica, os ácinos mucosos e túbulos que compõem a unidade secretora apresentaram, nas três regiões, reação positiva ao método de PAS (Figura 2A) e ao Alcian blue com intensidade diferente de reação entre o pH 2,5 (Figura 2B) e o pH 0,5 (Figura 2C). Já a reação à técnica de Xylidine Ponceau foi negativa (Figura 2D).

As células que constituíam estruturas semelhantes à semiluas serosas apresentaram reação negativa ao Alcian blue pH 2,5 (Figura 2E) e positiva ao Xylidine Ponceau (Figura 2F).

## **DISCUSSÃO**

A facilidade de palpação e o agrupamento das glândulas salivares labiais observados neste estudo recomendam a área do lábio inferior, situada entre a região anatômica do 2<sup>o</sup> dente pré-molar e do 2<sup>o</sup> molar inferiores, como sítio doador de glândulas para transplante, como vêm realizando ANGÉLICO et al. (2011) e ROCHA (2012).

Envolvendo as glândulas salivares labiais, nas três regiões avaliadas, foi observado tecido conjuntivo à semelhança de uma cápsula, apesar de BACHA & BACHA (2003) não demonstrarem a presença de cápsula de tecido conjuntivo. A mesma estrutura foi observada por DANIELS (1984) em glândulas salivares labiais de humanos e por ROCHA (2012) em cães.

Este tecido conjuntivo envolvendo e entremeando as glândulas dividindo-as em porções, conferiu às glândulas aspecto semelhante a lóbulos, como descrito por HAND et al. (1999).

As análises morfológicas e histoquímicas permitiram classificar as glândulas como exócrinas, compostas, tubuloacinosas, mistas, predominantemente mucosas, concordando com a classificação apresentada por ROCHA (2012). Entretanto, BANKS (1991a) as descreveu como glândulas mucosas, o que não procede, pois neste estudo, além de células mucosas foram observadas outras células que constituíam estruturas semelhantes a semiluas, com núcleo arredondado, associadas a algumas unidades secretoras mucosas que são classificadas como serosas (BANKS, 1991b; HAND et al., 1999). Assinale-se que estas mesmas estruturas apresentaram padrões de reações histoquímicas diferentes dos demonstrados pelas células mucosas quando foram empregados métodos (COOK, 1996) para evidenciar presença de glicoconjugados (mucinas).

Com relação à via secretora, FRAPPIER (2006) afirmou que ductos estriados não são característicos de glândulas salivares menores de animais. Entretanto, além de ductos intercalares, foram observados dentro dos lóbulos das glândulas labiais, ductos com epitélio simples com estriações na porção basal da célula que, segundo BANKS (1991a), são denominados ductos estriados em função da presença de estriações resultantes da orientação perpendicular de mitocôndrias dentro de compartimentos

formados pela membrana basal. A presença de ductos estriados reforça ainda mais a classificação destas glândulas como predominantemente mucosas com presença de semiluas serosas, pois, segundo BANKS (1991a) estes ductos não estão presentes em glândulas salivares exclusivamente mucosas.

A diferença na quantificação morfométrica do parênquima e estroma da região rostral em relação às outras regiões, identificou menor quantidade de parênquima nesta região. Em relação à mensuração do diâmetro dos ácinos, não houve diferença entre as três regiões, mantendo a característica morfológica das glândulas, independente da região, demonstrando o padrão da estrutura glandular.

A avaliação histoquímica das glândulas salivares labiais revelou que elas são PAS positivas e, portanto, secretam glicoconjugados neutros. Elas também exibiram alcianofilia, ou seja, Alcian blue positivas em pH 2,5, demonstrando que secretam glicoconjugados ácidos, e em pH 0,5, caracterizando a presença de glicoconjugados ácidos sulfatados em suas secreções, à semelhança da classificação estabelecida por COOK (1996) e MUNYALA et al. (2009).

A diferença na intensidade de reação ao Alcian blue observada no pH 2,5 em relação ao pH 0,5, nas três regiões, e em todos os animais do estudo, demonstra a presença de glicoconjugados ácidos carboxilados.

Os glicoconjugados, ou seja, as mucinas salivares secretadas pelas células mucosas, demonstradas pela análise histoquímica, atuam como um lubrificante, mantendo a integridade da mucosa (MUNYALA et al., 2009). Para SAMAR et al. (1995), as mucinas salivares possuem propriedades como baixa solubilidade e altas viscosidade e adesividade, que as tornam capazes de se concentrar na superfície da mucosa e providenciar uma barreira efetiva contra a dessecação.

Foram encontrados diferentes glicoconjugados nas glândulas salivares labiais, aos moldes do observado por COOK (1996), ou seja, eles podem estar presentes como tipo único dentro do tecido ou, mais comumente, como mistura dos diferentes tipos. Além disso, o padrão de reação foi mantido nas três regiões avaliadas em todos os animais.

A reação positiva para Xylidine Ponceau, demonstrada pelas células que constituíam estruturas semelhantes a semiluas, representa presença de proteínas que, aliada à alcianofilia e ao PAS positivo nas unidades secretoras mucosas, confirmam unidades secretoras seromucosas nas glândulas salivares labiais de cães. De forma semelhante, ALMANSOUR & BASHIR (2007) confirmaram o tipo glandular por meio de critérios histoquímicos.

## **CONCLUSÕES**

O presente estudo permite concluir que as glândulas salivares labiais:

- são exócrinas, compostas, túbuloacinosas, mistas, predominantemente mucosas, com presença de semiluas serosas envolvendo algumas unidades secretoras mucosas;
- o sistema de ductos é formado por ductos intralobulares sendo estes intercalares e estriados, por ductos interlobulares e pelo ducto excretor principal;
- apresentam quantidade menor de parênquima na região rostral e o diâmetro dos ácinos não se modifica nas três regiões anatômicas; e
- secretam mucinas neutras, ácidas carboxiladas e ácidas sulfatadas, além de proteínas.

## **COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA**

Metodologia aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA/UFV) segundo parecer nº 57/2010.

## **AGRADECIMENTOS**

DEL CARLO, R.J. e BORGES, A.P.B., bolsistas de produtividade do CNPq.

## **REFERÊNCIAS**

ALMANSOUR, M.I.; BASHIR, M.J. Morphological, histological and histochemical study of the lingual salivary glands of the little egret, *Egretta garzetta*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 1, n. 1, p. 75-81, 2007. Disponível em: <[http://ipac.kacst.edu.sa/edoc/2008/172479\\_1.pdf](http://ipac.kacst.edu.sa/edoc/2008/172479_1.pdf)>. Acesso em: 09 ago. 2011.

ANGÉLICO, G.T. et al. Transplante de glândulas salivares menores no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 5, p. 1087-1092, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352011000500007>>. Acesso em: 20 out. 2012. doi: 10.1590/S0102-09352011000500007.

BACHA, W.J.; BACHA, L.M. Sistema digestório. In: \_\_\_\_\_. **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2003. Cap. 13, p. 195-273.

BANKS, W.J. Epitélios. In: \_\_\_\_\_. **Histologia veterinária aplicada**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1991b. Cap. 5, p. 60-86.

BANKS, W.J. Sistema digestivo II - Órgãos extramurais. In: \_\_\_\_\_. **Histologia veterinária aplicada**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1991a. Cap. 22, p. 465-480.

COOK, H.C. Carbohydrates. In: BANCROFT, J.D.; STEVENS, A. **Theory and practice of histological techniques**. 4.ed. New York: Churchill Livingstone, 1996. Cap. 10, p. 173-212.

DANIELS, T.E. Labial salivary gland biopsy in Sjögren's syndrome. **Arthritis & Rheumatism**, v. 27, n. 2, p. 147-156, 1984.

DYCE, K.M. et al. Aparelho digestório. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de anatomia veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. Cap. 3, p. 99-145.

FRAPPIER, B.L. Digestive system. In: EURELL, J.A.; FRAPPIER, B.L. **Dellmann's textbook of veterinary histology**. 6.ed. Iowa: Blackwell, 2006. Cap. 10, p. 170-211.

HAND, A.R. et al. Morphological features of the minor salivary glands. **Archives of Oral Biology**, v. 44, S3-S10, 1999. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0003-9969\(99\)90002-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-9969(99)90002-X)>. Acesso em: 17 out. 2011. doi: 10.1016/S0003-9969(99)90002-X.

MUNYALA, R. et al. Glycoconjugates in the secretory epithelium of the mandibular salivary gland of Malayan Pangolin (*Manis javanica*). **KKU Veterinary Journal**, v. 19, n. 2, p. 162-169, 2009.

MURUBE, J. Cirugía substitutiva del ojo seco y transplantes glandulares. In: \_\_\_\_\_. **Ojo seco**. Quito: Tecnimedia, 1997. Cap. 40, p. 207-221.

RAUS, P. Radiosurgery aids in salivary gland transplants for severe dry eye. **Ocular Surgery News**, v. 12, p. 16-18, 2003. Disponível em: <<http://www.leofarma.com%2Fassets%2Ffile%2Fdoc%2Fellman-radyocerrahi-urunleri-ile-kuru-goz-uygulamasi-leofarma.pdf>>. Acesso em: 28 abr. 2010.

ROCHA, G.L.S. **Transplante autólogo das glândulas salivares labiais, oclusão cirúrgica dos pontos lacrimais ou associação das duas técnicas no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães**. 2012. 65 f. Tese (Doutorado em Cirurgia e Oftalmologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2012.

SAMAR, M.E. et al. Structural and cytochemical study of salivary glands in the Magellanic Penguin *Spheniscus magellanicus* and the Kelp Gull *Larus dominicanus*. **Marine Ornithology**, v. 23, p. 153-156, 1995. Disponível em: <[http://www.marineornithology.org/PDF/23\\_2/23\\_2\\_9.pdf](http://www.marineornithology.org/PDF/23_2/23_2_9.pdf)>. Acesso em: 15 mai. 2013.

SOARES, E.J.C.; FRANÇA, V.P. Transplante de glândulas salivares labiais no tratamento do olho seco grave. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 68, n. 4, p. 481-489, 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27492005000400012&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27492005000400012&script=sci_arttext)>. Acesso em: 23 mar. 2010.

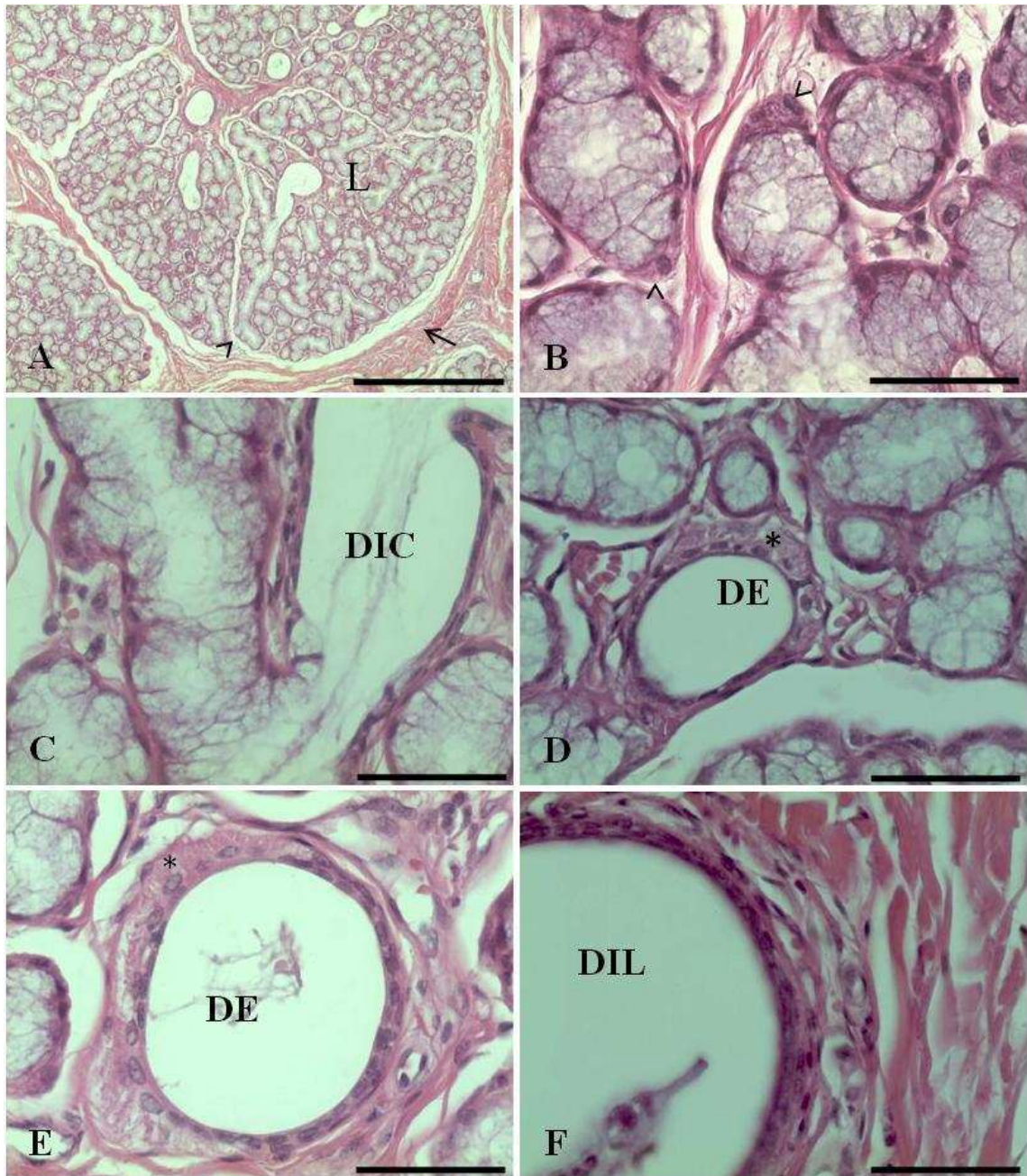


Figura 1 - Fotomicrografia das glândulas salivares labiais de cão, região rostral de coleta. A: Tecido conjuntivo envolvendo a glândula (seta) que se estende para o parênquima (ponta de seta), dividindo-a em estruturas semelhantes a lóbulos (L). B: Células constituindo estruturas semelhantes a semiluas serosas associadas a algumas unidades secretoras mucosas (ponta de seta). C: Ducto intercalar (DIC). D: Ducto estriado (DE) caracterizado por estriações (\*) em transição para ducto intercalar. E: Ducto estriado (DE) caracterizado por estriações (\*) em transição para ducto interlobular. F: Ducto interlobular (DIL). HE. Barras: A: 500  $\mu$ m; B-F: 50  $\mu$ m.

Tabela 1 - Valores médios da quantificação do parênquima, estroma e do diâmetro dos ácinos nas regiões rostral, média e caudal da área de coleta de glândulas salivares labiais de cães

<b>Locais</b>	<b>Regiões</b>		
	<b>Rostral</b>	<b>Média</b>	<b>Caudal</b>
Parênquima	328,31±57,05 <sup>a</sup>	348,27±53,27 <sup>b</sup>	356,56±45,40 <sup>b</sup>
Estroma	112,69±57,05 <sup>a</sup>	92,73±53,27 <sup>b</sup>	84,44±45,40 <sup>b</sup>
Ácinos	206,52±25,67 <sup>a</sup>	211,58±32,90 <sup>a</sup>	206,35±29,95 <sup>a</sup>

Valores expressos como média ± desvio-padrão.

Valores com letras minúsculas distintas sobrescritas nas linhas indicam diferença (p<0,05) pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

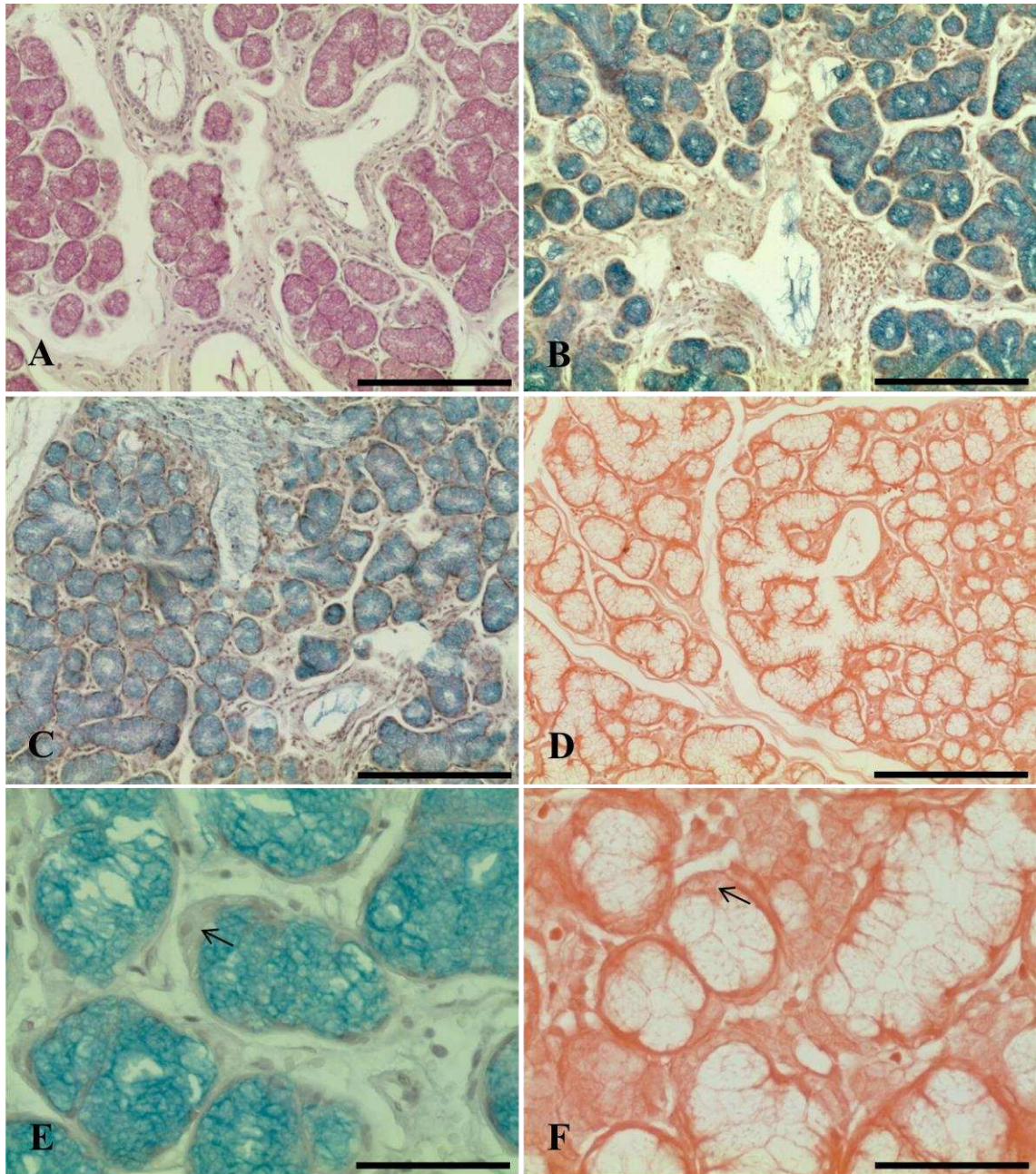


Figura 2 - Fotomicrografia das glândulas salivares labiais de cão, região média de coleta. A: ácinos e túbulos, reação positiva ao PAS. B: ácinos e túbulos, reação positiva ao Alcian blue pH 2,5. C: ácinos e túbulos, reação positiva ao Alcian blue pH 0,5. D: ácinos e túbulos, reação negativa ao Xylidine Ponceau. E: semiluas serosas (seta), reação negativa ao Alcian blue pH 2,5. F: semiluas serosas (seta), reação positiva ao Xylidine Ponceau. Barras: A-D: 200  $\mu$ m; E-F: 50  $\mu$ m.

## CAPÍTULO 2

### **TRANSPLANTE DE GLÂNDULAS SALIVARES LABIAIS AUTÓGENAS EM CÃES: ABORDAGENS CLÍNICA OFTALMOLÓGICA E HISTOLÓGICA EM OLHOS HÍGIDOS OU PORTADORES DE CERATOCONJUNTIVITE SECA QUANTITATIVA EXPERIMENTAL**

**RESUMO:** Foram avaliadas glândulas salivares labiais de cães usadas como transplante autógeno aplicado na conjuntiva da pálpebra superior de olhos hígidos e de olhos portadores de ceratoconjuntivite seca (CCS) experimental. O estudo foi constituído de duas etapas, utilizando-se 10 cães adultos, hígidos, distribuídos em dois grupos de cinco animais. Na etapa 1, a conjuntiva da pálpebra superior do olho esquerdo de cinco animais recebeu transplante de glândulas salivares labiais (TGSL) autógenas, formando o grupo hígido/TGSL e o olho contralateral foi utilizado como controle. Foram avaliados o sítio receptor e o doador, por meio de estudo clínico; a influência do transplante no olho hígido, por meio de exame clínico oftalmológico; e na 17ª semana após a realização do transplante, os aspectos morfológico, morfométrico e histoquímico do tecido glandular. Na etapa 2, em outros cinco animais foi desenvolvido o quadro de ceratoconjuntivite seca (CCS) experimental no olho esquerdo. Após estabelecimento do quadro clínico oftalmológico de CCS, a conjuntiva da pálpebra superior do olho esquerdo dos animais recebeu o transplante de glândulas salivares labiais autógenas, formando o grupo CCS/TGSL. Foram avaliados o sítio receptor e o sítio doador e a influência do transplante de glândulas salivares labiais autógenas na ceratoconjuntivite seca, por meio de estudo clínico oftalmológico. Ainda, no grupo CCS/TGSL foram avaliados, os aspectos morfológico, morfométrico e histoquímico do tecido glandular, na 17ª semana após o transplante. Não foram observadas complicações nos sítios doador e receptor. Após o transplante de glândulas salivares labiais nos olhos hígidos (grupo hígido/TGSL), não houve aumento ( $p>0,05$ ) da produção de lágrima, nem interferência desfavorável tanto na estabilidade do filme lacrimal quanto na superfície da córnea. Os olhos com CCS experimental associados aos transplantes (grupo CCS/TGSL) apresentaram resultados clínicos favoráveis em relação aos obtidos após a indução do quadro. A secreção das glândulas salivares labiais autógenas transplantadas para os olhos com CCS experimental foi confirmada pelo teste de Schirmer I e pela histoquímica. Na avaliação pela Lissamina verde ao longo do tempo, os resultados foram semelhantes em todas as avaliações realizadas a partir da terceira semana. As glândulas salivares transplantadas para o grupo hígido/TGSL apresentaram maior preservação da arquitetura em relação ao CCS/TGSL. Em ambos os grupos, os transplantes demonstraram, na avaliação histoquímica, manutenção do padrão histoquímico.

## **1. INTRODUÇÃO**

A ceratoconjuntivite seca (CCS) é doença comum em cães (ROCHA, 2012), caracterizada por deficiência do componente aquoso do filme lacrimal, com comprometimento da superfície ocular (GIULIANO; MOORE, 2007). Também tem sido definida por deficiência quantitativa no componente aquoso do filme lacrimal ou deficiência qualitativa nas suas outras camadas (ALMEIDA et al., 2009).

A CCS por deficiência quantitativa da camada aquosa do filme lacrimal possui diversas etiologias (MILLER, 2008) e é a forma mais comum, apresentando variação de sinais clínicos em função da gravidade e duração (OFRI et al., 2009; ROSA et al., 2012).

A terapia médica é a primeira consideração de tratamento, sendo influenciada pela etiologia, gravidade da doença e comprometimento do proprietário com a realização do esquema proposto (GRAHN; STOREY, 2004; GIULIANO; MOORE, 2007).

Na Medicina, o transplante de glândulas salivares labiais autógenas tem remetido à redução ou suspensão do uso de lágrimas artificiais, em função de produção salivar local suficiente e estável (RAUS, 2003; GÜERRISSI; BELMONTE, 2004; SOARES; FRANÇA, 2005; GEERLING et al., 2008; GUPTA, 2012; SANT'ANNA et al., 2012).

Em Medicina Veterinária, alguns tratamentos cirúrgicos têm sido empregados, como a oclusão do ponto lacrimal (WILLIAMS, 2002; ROSA et al., 2012) e a transposição do ducto da glândula parótida (HERRERA et al., 2007). Entretanto, limitações e complicações têm sido relatadas (HERRERA et al., 2007). Estudos (ANGÉLICO et al., 2011; ROCHA, 2012) envolvendo o transplante de glândulas salivares labiais autógenas em cães com quadro clínico de CCS, relatam resultados preliminares satisfatórios.

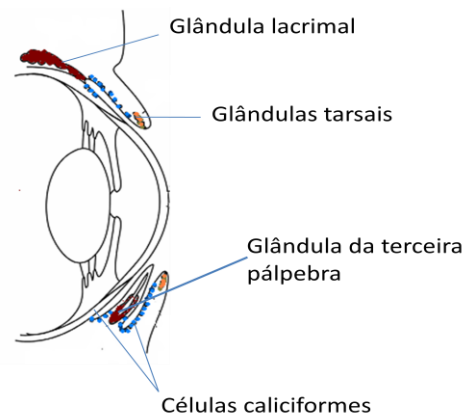
## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Anatomofisiologia da produção lacrimal**

O filme lacrimal pré-corneano é uma estrutura trilaminar complexa composta pelas camadas lipídica externa, aquosa média e mucosa interna, sendo essencial na

manutenção da saúde da superfície da córnea e conjuntiva (AGUILAR, 2008; RIBEIRO et al., 2008). Contribui também para a fisiologia normal do estroma ao influenciar o balanço hídrico entre o estroma e o humor aquoso (AGUILAR, 2008).

A camada lipídica é produzida por glândulas sebáceas modificadas (glândulas tarsais) localizadas dentro da placa tarsal das pálpebras (Figura 1), e é constituída por triglicerídeos, colesterol e alguns lipídios polares (GRAHN; STOREY, 2004) que retardam a evaporação do filme (GIULIANO; MOORE, 2007).



Fonte: Adaptado de Grahn e Storey (2004).

Figura 1 - Localização anatômica de componentes do sistema lacrimal de cão.

A camada aquosa da lágrima é secretada pelas glândulas lacrimal e da terceira pálpebra (WILLIAMS, 2008). A glândula lacrimal localiza-se profundamente ao ligamento orbital e ao processo supraorbital do osso frontal (MILLER, 2008), enquanto a glândula da terceira pálpebra encontra-se na base da cartilagem da terceira pálpebra (CABRAL et al., 2005) (Figura 1). É constituída por 98,2% de água e 1,8% de sólidos (IWATA, 1983). Possui propriedades antibacteriana, lubrificante, além de remover metabólitos da superfície da córnea e da conjuntiva (DAVIDSON; KUONEN, 2004; GIULIANO; MOORE, 2007).

A camada mucosa é secretada pelas células caliciformes presentes na conjuntiva (Figura 1), principalmente aquelas localizadas no fórnice conjuntival inferior (GRAHN; STOREY, 2004) e, em menor quantidade, pela glândula lacrimal e pelos epitélios da conjuntiva e da córnea (DAVIDSON; KUONEN, 2004). É responsável pela aderência do filme lacrimal à superfície da córnea (GRAHN; STOREY, 2004),

promovendo estabilidade do filme lacrimal (AGUILAR, 2008) e lubrificação da superfície da córnea (GIULIANO; MOORE, 2007).

## **2.2. Patogênese da ceratoconjuntivite seca quantitativa**

A integridade da superfície ocular é determinada pela ação do filme lacrimal pré-corneano, em consonância com a conformação e função normal dos anexos oculares (GIULIANO; MOORE, 2007). O filme lacrimal providencia uma superfície lisa para a refração da luz, nutre a córnea, possui importante papel no sistema de defesa ocular, além de ser essencial na manutenção da transparência da córnea (DAVIDSON; KUONEN, 2004). Para o desempenho eficaz de sua função, seus componentes devem estar íntegros e em constante equilíbrio (AGUILAR, 2008).

Na CCS, independente do fato da deficiência ser qualitativa ou quantitativa, a hipertonidade e a desidratação da superfície da córnea são os eventos fisiopatológicos iniciais (GIULIANO; MOORE, 2007; AGUILAR, 2008).

Na ceratoconjuntivite seca quantitativa há aumento da fricção dependente do movimento palpebral, além de comprometimentos da remoção de produtos do metabolismo e da manutenção da umidade da córnea (GIULIANO; MOORE, 2007). A deficiência da fração aquosa aumenta a osmolaridade do filme lacrimal (BARABINO et al., 2004) que, além de acarretar lesões epiteliais por desidratação e acúmulo de muco, influencia o processo inflamatório na superfície ocular (AGUILAR, 2008) que se torna a causa e a consequência do dano celular, originando um ciclo autoperpetuante de deterioração (STERN et al., 2004). Desta forma, desenvolve-se o quadro clínico de ceratite, conjuntivite e, em casos crônicos, vascularização e pigmentação da córnea com decréscimo da visão (GIULIANO; MOORE, 2007).

Para Mantelli e Argüeso (2008), alterações na glicosilação das mucinas são responsáveis pela perda da capacidade hidrofílica e de lubrificação, e pela redução na estabilidade do filme lacrimal. O comprometimento das células epiteliais da córnea também interfere com a adesão da mucina e resulta em desestabilização adicional do filme lacrimal (GIULIANO; MOORE, 2007).

### **2.3. Abordagens clínica e cirúrgica da ceratoconjuntivite seca quantitativa**

A terapia médica é a primeira consideração no tratamento da CCS, sendo influenciada pela etiologia, gravidade da doença e comprometimento do proprietário com o esquema de tratamento proposto. A terapia envolve o uso de substituto lacrimal e estimulante lacrimal, além de agentes antimicrobianos e anti-inflamatórios, empregados de forma isolada ou associada (GIULIANO; MOORE, 2007).

Os lacrimomiméticos são substitutos do filme lacrimal que atuam providenciando lubrificação da superfície ocular, estabilidade e manutenção de filme lacrimal isotônico (GIULIANO; MOORE, 2007). São importantes a composição, a concentração e o tipo de agente empregado, sendo que os produtos contendo celulose são os mais usados nas desordens aquosas por permanecerem por mais tempo na superfície ocular em função de sua maior viscosidade (GRAHN; STOREY, 2004). Seu emprego como terapia isolada, em Medicina Veterinária, é limitado pela alta frequência de aplicações (GIULIANO; MOORE, 2007).

Os lacrimogênicos são fármacos de custo elevado, capazes de estimular a produção lacrimal, e incluem agentes imunossupressores (ciclosporina, tacrolimus, pimecrolimus, serolimus), fármacos colinérgicos (GRAHN; STOREY, 2004), fator de crescimento neural e interferon- $\alpha$  (RIBEIRO et al., 2008).

A ciclosporina tópica é importante no manejo médico, pois grande número de casos de CCS é de origem imunomediada (KASWAN; SALISBURY, 1990). Possui efeito lacrimogênico e propriedade anti-inflamatória (GIULIANO; MOORE, 2007). Entretanto, percentagem significativa de casos são resistentes aos efeitos da ciclosporina, dentre eles os de origem congênita (HERRERA et al., 2007; WESTERMEYER et al., 2009), neurogênica e os casos crônicos com valores no teste lacrimal de Schirmer I de 0 mm/min (WILLIAMS, 2002). Em alguns cães, a irritação ocular, a ausência de retorno da produção lacrimal a valores no limite de efetividade, e o alto custo, proporcional ao longo tempo de terapia, também limitam o emprego deste medicamento (BERDOULAY et al., 2005).

Novos fármacos imunossupressores, como tacrolimus e pimecrolimus, são alternativas viáveis em pacientes que não respondem ou que apresentem efeitos indesejáveis à ciclosporina (BERDOULAY et al., 2005; RIBEIRO et al., 2008).

Rorig (2009) avaliou a eficácia do pimecrolimus na forma de pomada oftálmica a 0,5%, no tratamento de ceratoconjuntivite seca em 12 cães e observou

aumento nos valores do teste lacrimal de Schirmer I. Para Ofri et al. (2009), o pimecrolimus 1% foi mais efetivo no controle da CCS quando comparado à ciclosporina. Entretanto, Nell et al. (2005) verificaram resposta insatisfatória em 25% e moderada em 37,5% dos animais tratados, atribuindo os resultados ao emprego do fármaco em apenas uma concentração, mas também a dano irreversível na glândula lacrimal, e à intolerância ao produto em alguns casos.

Berdoulay et al. (2005) avaliando o efeito do tacrolimus 0,02% tópico em cães, verificaram produção significativa de lágrimas em 83% dos pacientes com CCS presumidamente imunomediada que mostraram resultados não satisfatórios à ciclosporina. Embora o efeito do tacrolimus seja mais acentuado que o da ciclosporina quando existe algum remanescente de glândula lacrimal, na ausência de tecido glandular ou em estágios avançados de fibrose glandular, nenhum fármaco imunossupressor aumentará a produção lacrimal (WILLIAMS, 2008).

A pilocarpina é indicada na CCS neurogênica (GRAHN; STOREY, 2004), frequentemente unilateral e pouco responsiva à ciclosporina (GIULIANO; MOORE, 2007). Sua eficácia depende da presença de glândula funcional (KLAUSS; CONSTANTINESCU, 2004). Segundo Grahn e Storey (2004), efeitos colaterais têm sido associados a sua aplicação tópica como hiperemia conjuntival e uveíte.

Outros fármacos lacrimogênicos (interferon- $\alpha$  e fator de crescimento neural) também têm sido testados (RIBEIRO et al., 2008). Gilger et al. (1999) observaram melhora clínica após a administração de interferon- $\alpha$  em 55% dos cães com CCS. Da mesma forma, Coassin et al. (2005) ao empregarem o fator de crescimento neural em cães com CCS, obtiveram melhora clínica e aumento da produção lacrimal. Entretanto, mais estudos são recomendados para comprovação de sua eficácia.

A abordagem cirúrgica da CCS deve ser realizada em pacientes não responsivos à terapia médica por período mínimo de 3 a 6 meses (MILLER, 2008). Segundo Ribeiro et al. (2008), animais que apresentam baixa resposta ao lacrimogênico e alto risco anestésico podem se beneficiar da oclusão dos pontos lacrimais. Entretanto, Williams (2002) verificou que a técnica tem valor limitado em cães sem produção de lágrimas e, para Rosa et al. (2012), a técnica constitui medida auxiliar no tratamento da CCS.

Peixoto (2013) descreveu o uso da fração de células mononucleares (FCM) da medula óssea para o tratamento da CCS canina, conferindo melhora à superfície ocular

dos pacientes acometidos. Entretanto, afirma a necessidade de maiores investigações sobre o efeito de plasticidade celular e a ação anti-inflamatória da FCM.

As glândulas salivares têm sido exploradas como fonte alternativa para lubrificar a superfície ocular em humanos desde 1951 (SOARES; FRANÇA, 2005), devido à existência de semelhanças constitutivas entre a saliva e o fluido lacrimal (RAUS, 2003), incluindo osmolaridade e pH (GIULIANO; MOORE, 2007).

Em Medicina Veterinária, a técnica de transposição do ducto da glândula parótida deve ser considerada em pacientes não responsivos à terapia com fármacos tópicos (HERRERA et al., 2007) por período mínimo de oito semanas (GIULIANO; MOORE, 2007). A técnica foi aplicada por Herrera et al. (2007) no tratamento de cães com suspeita de aplasia ou hipoplasia de glândula lacrimal, não responsivos à ciclosporina, tendo sido observada secreção salivar excessiva e dermatite facial. Outra complicação é a obstrução do ducto transplantado (TERMOTE, 2003). Além disto, a natureza serosa da secreção da glândula parótida difere da composição do filme lacrimal humano (SOARES; FRANÇA 2005; CHEN et al., 2008). Também, a produção e a natureza da secreção salivar humana são diferentes entre glândulas, e esta diferença se manifesta de forma bioquímica e biofísica, como a viscosidade da secreção (MURUBE, 1997).

Murube (1997) reportou, em humanos, técnicas de transplante de glândula salivar maior com anastomose vascular, e também transplante de fragmentos sem anastomose.

Sieg et al. (2000) realizaram, em humanos, a transferência microvascular da glândula submandibular para a região temporal, com implantação de seu ducto no fórnice conjuntival superior. Estes autores observaram melhor homeostase na superfície ocular em relação às lágrimas artificiais que estavam sendo utilizadas, sem ocorrência de secreção salivar reflexa. Porém, reportaram alta complexidade e longo tempo de execução da técnica.

Nas glândulas salivares labiais em humanos, a secreção é descrita como mucoserosa (RAUS, 2003) ou aquoserosa e mucosa (SOARES; FRANÇA, 2005), com composição semelhante à da lágrima. Porém, é mais viscosa e com nível de lipídios quatro a cinco vezes maior que de outras glândulas salivares, tornando-a apropriada para substituir lágrimas naturais (RAUS, 2003). Este último autor observou melhora clínica em todos os pacientes e presença de secreção viscosa duas a quatro semanas

após o transplante de glândulas salivares labiais autógenas em humanos, para o tratamento de deficiência lacrimal.

O transplante de glândulas salivares labiais autógenas em paciente humano refratário ao manejo clínico evidenciou, quinze dias após a cirurgia, redução do desconforto ocular com mudança da frequência de aplicação do lacrimomimético (GÜERRISSI; BELMONTE, 2004). Para os autores o resultado foi atribuído à melhor homeostase promovida pela secreção salivar.

Soares e França (2005) realizaram o transplante de glândulas salivares labiais autógenas para o tratamento de deficiência lacrimal grave em pacientes humanos, e observaram que 40,5% deixaram de usar lágrimas artificiais e 51,4% reduziram a frequência de uso, sendo a melhora atribuída à presença das mucinas que aumentam a viscosidade da “lágrima salivar”.

Transplante de glândulas salivares labiais autógenas também foi realizado por Geerling et al. (2008) em pacientes humanos, que verificaram transplantes viáveis e vascularizados na primeira semana, sendo que a vascularização foi associada à melhora dos sintomas e aumento da lubrificação na superfície ocular.

Gupta (2012) avaliou o transplante de glândulas salivares labiais autógenas no tratamento de olho seco grave em humanos, com valores iniciais do teste de Schirmer I iguais a zero. O autor notou melhora no teste e no quadro clínico, com redução na frequência do uso de lacrimomiméticos em todos os pacientes.

Sant’Anna et al. (2012) também observaram melhora nos resultados do teste de Schirmer I e no quadro clínico, seis meses após o transplante de glândulas salivares labiais autógenas em 14 dos 17 olhos de pacientes humanos analisados.

Embora os sinais clínicos sejam importantes na avaliação do transplante, eles são imprecisos e, para se conhecer a sobrevivência do tecido glandular transplantado e seu funcionamento, a biópsia do material e a comprovação de ácinos funcionantes é a prova clássica (MURUBE, 1997).

Güerrissi e Belmonte (2004) observaram, em humanos, ácinos atrofiados, ducto com conteúdo de mucina e infiltrado inflamatório em biópsia realizada aos três meses após o transplante das glândulas salivares labiais. Sieg et al. (2000) verificaram tecido acinar normal um ano após transplante microvascular de glândula submandibular em humanos.

A sobrevivência de tecido acinar, em avaliação histológica, foi observada em humanos por Raus (2003), após ressecção parcial do transplante das glândulas salivares

labiais 18 meses após a cirurgia, devido à queixa de “olhos lacrimejantes”. De forma semelhante, Geerling et al. (2008) encontraram glândulas viáveis aos 18 e 36 meses após a cirurgia em pacientes humanos, com presença de mínimo infiltrado inflamatório aos 36 meses.

Segundo Soares e França (2005), a técnica envolvendo transplante de glândulas salivares labiais constitui procedimento simples, com rápida integração do tecido ao leito receptor, mínima morbidade do paciente e possibilidade de repetição. Entretanto, foram observadas infecção e ptose palpebral definitiva em pacientes com doenças oculares associadas (SOARES; FRANÇA, 2005), necrose parcial do transplante (GEERLING et al., 2008) e erosão corneana (RAUS, 2003).

Em Medicina Veterinária, o transplante de glândulas salivares labiais autógenas para o tratamento de CCS foi realizado por Angélico et al. (2011) em 16 cães com intenso comprometimento da córnea e não responsivos à terapia médica. Os autores observaram aumento na produção de “lágrimas” e melhora dos sinais clínicos em 56,2% dos casos.

Rocha (2012) reportou o transplante de glândulas salivares labiais autógenas, associado ou não à oclusão cirúrgica do ponto lacrimal, em cães com valores de teste de Schirmer I inferiores a 10 mm/min, e observou melhora clínica significativa em ambos casos, embora a associação das duas técnicas não tenha apresentado vantagens.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Avaliar o transplante de glândulas salivares labiais autógenas em um leito preparado na conjuntiva da pálpebra superior em olhos hígidos ou com CCS experimental.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Avaliar clinicamente o sítio receptor do transplante de glândulas salivares labiais autógenas em olhos hígidos ou em olhos com ceratoconjuntivite seca experimental;
- Avaliar clinicamente o sítio doador do transplante de glândulas salivares labiais autógenas em olhos hígidos ou em olhos com ceratoconjuntivite seca experimental;

- Determinar a influência do transplante de glândulas salivares labiais autógenas, em olhos hígidos ou em olhos com ceratoconjuntivite seca experimental, por meio de avaliação clínica oftalmológica; e
- Avaliar morfológica, morfométrica e histoquimicamente as glândulas salivares labiais transplantadas em olhos hígidos ou em olhos com ceratoconjuntivite seca experimental.

#### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA/UFV) segundo parecer nº 57/2010.

##### **4.1. Aquisição e seleção dos animais**

Foram selecionados 10 cães adultos, hígidos, machos, pesando entre 14 e 21 kg, sem raça definida, provenientes do canil experimental do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, após avaliações clínica e oftalmológica. A avaliação oftalmológica foi realizada por meio do teste lacrimal de Schirmer I<sup>1</sup>, teste da impregnação por fluoresceína<sup>2</sup>, teste de Jones, Lissamina Verde<sup>3</sup>, tempo de ruptura do filme lacrimal, biomicroscopia com lâmpada de fenda<sup>4</sup> e oftalmoscopia direta monocular<sup>5</sup>. Avaliação clínica da cavidade oral também foi realizada para descartar processos infecciosos e outras anormalidades.

Depois de selecionados, os cães foram vermifugados<sup>6</sup>, vacinados<sup>7</sup> e alojados em baias individuais, e receberam ração comercial duas vezes ao dia e água ad libitum.

---

<sup>1</sup> Teste de Schirmer - Ophthalmos. Guarulhos, São Paulo, BR.

<sup>2</sup> Fluoresceína 1% - Ophthalmos. Guarulhos, São Paulo, BR.

<sup>3</sup> Lissamina Verde - Ophthalmos. Guarulhos, São Paulo, BR.

<sup>4</sup> Modelo SL 15 – kowa. Tokyo, Japan.

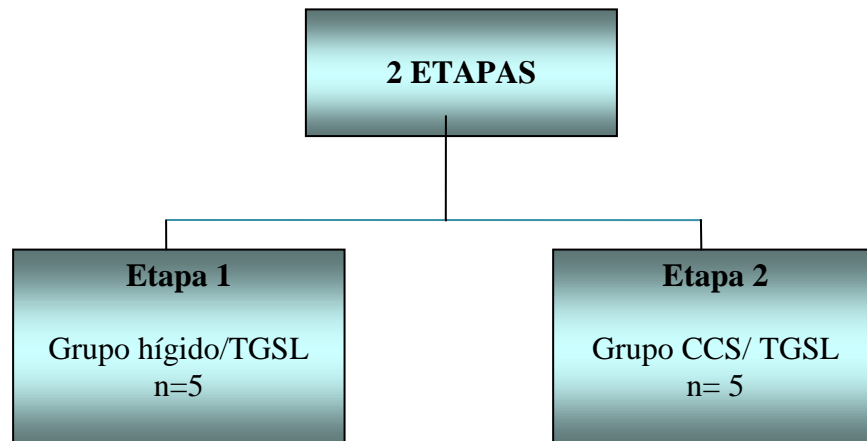
<sup>5</sup> Oftalmoscópio - Welch Allyn. New York, USA.

<sup>6</sup> Helfine Plus Cães - União Química Farmacêutica Nacional S/A. Embu-Guaçu, São Paulo, BR.

<sup>7</sup> Canigen CHA<sub>2</sub>PPi/LCv e Canigen R - Bio-Vet S/A. Vargem Grande Paulista, São Paulo, BR.

## 4.2. Grupos experimentais

Inicialmente foram selecionados cinco cães que fizeram parte da etapa 1. Posteriormente, cinco cães foram selecionados e fizeram parte da etapa 2, para estabelecimento e tratamento da CCS (Figura 2).



TGSL: Transplante de glândulas salivares labiais, CCS: Ceratoconjuntivite seca.

Figura 2 - Esquema representativo das etapas e respectivos grupos experimentais.

Na etapa 1, o transplante de glândulas salivares labiais autógenas foi aplicado na conjuntiva da pálpebra superior do olho esquerdo dos cinco animais (grupo hígido/TGSL). Foram avaliados, por meio de estudos clínico e oftalmológico, os sítios doador e o receptor, e a presença/influência do transplante em relação ao olho contralateral (controle). Também, foram analisados os aspectos morfológico, morfométrico e histoquímico do tecido glandular após transplante, que foi obtido por meio de biópsia.

Na etapa 2, em outros cinco animais foi induzida a ceratoconjuntivite seca após remoção das glândulas lacrimal e da terceira pálpebra do olho esquerdo dos animais, conforme técnica descrita por Cabral et al. (2005).

A CCS foi confirmada por avaliação clínica e, no sétimo dia, pelo teste lacrimal de Schirmer I. Nesse momento e até o décimo dia, todos os animais passaram a receber lacrimomimético para deficiência quantitativa (carboximetilcelulose 1%)<sup>8</sup>, seis vezes ao dia. No décimo dia após a indução da CCS, a conjuntiva da pálpebra superior

<sup>8</sup> Ophthalmos Indústria Farmacêutica. Guarulhos, São Paulo, BR.

do olho esquerdo dos cinco animais recebeu o transplante de glândulas salivares labiais autógenas e o colírio continuou sendo instilado por 15 dias, período esperado para que o transplante respondesse. Foram avaliados os sítios receptor e doador e a ação do transplante autógeno na ceratoconjuntivite seca experimental, por meio de estudo clínico oftalmológico. Também, foram avaliados os aspectos morfológico, morfométrico e histoquímico do tecido glandular após o transplante, que foi obtido por meio de biópsia.

### **4.3. Etapa 1**

#### **4.3.1. Preparo pré-operatório**

O preparo da cavidade oral foi realizado por meio de lavagem com solução de gluconato de clorhexidina a 0,12%<sup>9</sup>, a cada 12 horas, iniciado três dias prévios ao ato cirúrgico.

Os animais foram submetidos a jejum prévio e ambos os olhos dos animais do grupo hígido/TGSL foram avaliados pelo teste lacrimal de Schirmer I e foi anotado o tempo de ruptura do filme lacrimal, antes da administração de qualquer fármaco.

Em seguida, foi realizada antibioticoterapia profilática com enrofloxacino<sup>10</sup> (5 mg/kg, IM), medicação anti-inflamatória com meloxicam<sup>11</sup> (0,1 mg/kg, SC) e analgesia a base de sulfato de morfina<sup>12</sup> (0,5 mg/kg, SC).

Os animais foram submetidos à medicação pré-anestésica com acepromazina<sup>13</sup> (0,1mg/kg, IV), indução anestésica com propofol<sup>14</sup> (6mg/kg, IV) e manutenção com isoflurano<sup>15</sup> em circuito semi-fechado, através de vaporizador calibrado.

---

<sup>9</sup> PerioGard - Colgate-Palmolive Indústria Ltda. São Bernardo do Campo, São Paulo, BR.

<sup>10</sup> Duotrill 2,5% injetável - Laboratórios Duprat Ltda. Japeri, Rio de Janeiro, BR.

<sup>11</sup> Maxican 0,2 % injetável - Ourofino Pet Ltda. Vinhedo, São Paulo, BR.

<sup>12</sup> Dimorf 10 mg - Cristália. Belo Horizonte, Minas Gerais, BR.

<sup>13</sup> Acepran 1% - Univet S/A Indústria Veterinária. São Paulo, SP, BR.

<sup>14</sup> Propovan 1% - Cristália. Belo Horizonte, Minas Gerais, BR.

<sup>15</sup> Isoforine - Cristália. Itapira, São Paulo, BR.

### 4.3.2. Procedimento cirúrgico

#### 4.3.2.1. Sítio receptor

Após preparo da superfície ocular esquerda com solução de iodopovidona tópica<sup>16</sup> diluída a 0,5% em solução fisiológica estéril 0,9%<sup>17</sup>, a pálpebra superior foi invertida e fixada por duas suturas, com fio de poliamida 4-0<sup>18</sup>, transpassando a margem da pálpebra e ancorando na pele próxima à margem da órbita. Em seguida, anestésico local sem vasoconstritor<sup>19</sup> foi injetado no espaço subconjuntival (Figura 3A) para separar a conjuntiva do plano muscular adjacente e facilitar a dissecação.



Figura 3 - Imagens fotográficas da transplantação de glândulas salivares labiais autógenas na conjuntiva palpebral superior esquerda de cão. A: Administração de anestésico local para separação da conjuntiva do plano muscular adjacente. B: Incisão na conjuntiva palpebral. C: Transplante suturado na conjuntiva palpebral. Detalhe: transplante constituído pelas glândulas salivares labiais e mucosa oral. D: Reposicionamento da pálpebra superior no pós-operatório imediato.

<sup>16</sup> Riodeine – Rioquímica Indústria Farmacêutica Ltda. São José do Rio Preto, São Paulo, BR.

<sup>17</sup> Solução de Cloreto de Sódio 0,9% - JP Indústria Farmacêutica Ltda. Ribeirão Preto, São Paulo, BR.

<sup>18</sup> Nylon 4-0 – Shalon Fios Cirúrgicos Ltda. São Luís de Montes Belos, Goiás, BR.

<sup>19</sup> Cloridrato de Lidocaína 2% - Hiporlabor Farmacêutica Ltda. Sabará, Minas Gerais, BR.

A incisão na conjuntiva foi realizada na metade da distância compreendida entre a margem palpebral e o fórnice conjuntival da pálpebra superior, em posição horizontal (Figura 3B), estendendo-se por aproximadamente 1,2 cm entre o canto nasal e temporal, criando uma área cruenta, que correspondeu ao sítio receptor. Em seguida, as margens da ferida foram dissecadas para permitir o acondicionamento do transplante.

#### **4.3.2.2. Obtenção do transplante**

Após preparo da mucosa oral do lábio inferior do antímero esquerdo com solução de gluconato de clorhexidina a 0,12%, as glândulas salivares labiais e a mucosa oral, que originaram o transplante, foram obtidas do lábio inferior no antímero esquerdo na região anatômica do último pré-molar e primeiro molar inferior, por meio de incisão elíptica na mucosa oral, aprofundada até o plano muscular, com 1,2 cm de comprimento e largura e profundidade correspondentes às das glândulas.

Em seguida, o transplante, constituído pelas glândulas salivares labiais e a mucosa oral, foi dissecado com auxílio de uma tesoura, coletado (Figura 3C - detalhe) e imediatamente transferido para o sítio receptor previamente preparado.

#### **4.3.2.3. Sutura do transplante e sítio doador**

O transplante foi acondicionado no sítio receptor, criado na conjuntiva da pálpebra superior esquerda, com a face glandular em contato com a superfície cruenta.

A conjuntiva palpebral foi suturada à mucosa oral do transplante de forma contínua utilizando fio de poliamida 6-0<sup>20</sup>, sendo a agulha inicialmente introduzida pela pele da pálpebra superior no sentido da conjuntiva palpebral e ao término da sutura, as extremidades do fio foram enodadas na pele da pálpebra superior (Figura 3C). Em seguida, os pontos de apoio foram removidos, permitindo o reposicionamento palpebral (Figura 3D).

O sítio doador foi coberto com flap mucoso de avanço e suturado com pontos simples separados com fio de ácido poliglicólico 3-0<sup>21</sup>.

---

<sup>20</sup> Nylon 6-0 – Shalon Fios Cirúrgicos Ltda. São Luís de Montes Belos, Goiás, BR.

<sup>21</sup> Acido Poliglicólico 3-0 – Shalon Fios Cirúrgicos Ltda. São Luís de Montes Belos, Goiás, BR.

### **4.3.3. Procedimentos pós-operatórios**

Imediatamente ao final da cirurgia foi realizada uma bandagem ligeiramente compressiva sobre o olho operado, que foi mantida por 5 dias.

No pós-operatório, foi realizada antibioticoterapia tópica no olho operado com cloridrato de ciprofloxacino 0,35%<sup>22</sup> (1 gota, a cada 6 horas), durante 15 dias, e sistêmica com enrofloxacino<sup>23</sup> (5 mg/kg a cada 12 horas), durante 7 dias. A analgesia foi estabelecida com sulfato de morfina (0,5 mg/kg, SC, a cada 4 horas) no primeiro dia. Também foram utilizados diclofenaco sódico<sup>24</sup> como colírio anti-inflamatório tópico (1 gota, a cada 8 horas), durante 15 dias e meloxicam (0,1 mg/kg, SC, a cada 24 horas), durante 3 dias. As medicações com colírios foram realizadas no olho esquerdo com intervalo de 15 minutos entre os mesmos, conforme recomendação de Ofri et al. (2009).

Os animais receberam ração comercial macia durante os primeiros 7 dias e permaneceram com o colar de proteção até a retirada do ponto na pálpebra superior, no 15º dia.

### **4.3.4. Avaliação clínica do sítio receptor**

A região receptora foi avaliada diariamente, durante 10 dias, quanto ao aspecto do transplante (coloração e presença/ausência de edema), presença ou ausência de quemose e ocorrência de complicações.

### **4.3.5. Avaliação clínica do sítio doador**

Após a cirurgia, a região doadora foi avaliada diariamente, durante 10 dias, em relação à aparência, cicatrização e ocorrência de complicações.

### **4.3.6. Avaliação clínica oftalmológica**

A avaliação pelo teste lacrimal de Schirmer I para mensurar a produção de lágrimas no olho que recebeu o transplante de glândulas salivares labiais autógenas, e

---

<sup>22</sup> Biamotil - Allergan- Produtos Farmacêuticos Ltda. Guarulhos, São Paulo, BR.

<sup>23</sup> Duotrill 50 mg comprimidos - Laboratórios Duprat Ltda. Japeri, Rio de Janeiro, BR.

<sup>24</sup> Still colírio - Allergan- Produtos Farmacêuticos Ltda. Guarulhos, São Paulo, BR.

no contralateral (controle) dos cinco cães (grupo hígido/TGSL), foi realizada, diariamente, na 1ª e 2ª semanas e, depois, semanalmente até a 13ª semana, com a última avaliação ocorrendo na 17ª semana. O teste foi realizado sempre no mesmo período do dia, em função de flutuações de produção de lágrima ao longo do dia, no mesmo ambiente para todos os animais e empregando tiras do mesmo lote.

As avaliações do tempo de ruptura do filme lacrimal para verificar alterações qualitativas, do teste da impregnação por fluoresceína para detectar presença de ceratites ulcerativas e do aspecto biomicroscópico da superfície da córnea em relação à ocorrência de opacidade e vascularização, foram realizadas semanalmente em ambos os olhos, durante 13 semanas, com a última avaliação ocorrendo na 17ª semana. O resultado do teste da impregnação pela fluoresceína foi classificado em positivo ou negativo e do aspecto biomicroscópico da superfície da córnea, classificado em normal ou alterado.

#### **4.3.7. Avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica**

Para permitir as avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica, na 17ª semana após o transplante, os cinco animais do grupo hígido/TGSL foram submetidos a jejum prévio por 12 horas, e foram realizadas antibioticoterapia com enrofloxacino (5 mg/kg, IM) e analgesia com sulfato de morfina (0,5 mg/kg, SC). Em seguida, foram sedados com acepromazina (0,1 mg/kg, IV), e a anestesia foi induzida (6 mg/kg, IV) e mantida com propofol.

Após preparo da superfície ocular esquerda com solução de iodopovidona tópica diluída a 0,5% em solução fisiológica estéril 0,9%, a pálpebra superior foi invertida e um fragmento do transplante de aproximadamente 2 mm de espessura foi coletado ao longo do seu eixo maior com auxílio de bisturi. Em seguida, o local de coleta foi suturado com categute cromado 5-0<sup>25</sup>, em padrão simples separado com nós ocultos. No pós-operatório, foi realizada antibioticoterapia tópica com cloridrato de ciprofloxacino 0,35% (1 gota, a cada 6 horas) e diclofenaco sódico, como colírio anti-inflamatório tópico (1 gota, a cada 8 horas), durante 7 dias.

O material coletado foi fixado em formaldeído a 4% por 24 horas, em temperatura ambiente, e processado por meio de técnicas histológicas convencionais

---

<sup>25</sup> CatGut cromado 5-0 - Shalon Fios Cirúrgicos Ltda. São Luís de Montes Belos, Goiás, BR.

para inclusão em parafina. Em seguida, foram obtidas secções de 5 µm de espessura, em micrótomo de rotação manual (Spencer).

As secções foram coradas por hematoxilina-eosina para descrição das características morfológicas e avaliação morfométrica das glândulas. Para caracterizar o padrão histoquímico, os seguintes métodos foram utilizados: Periodic Acid-Schiff (detecção de glicoconjugados neutros), Alcian blue pH 2,5 (detecção de glicoconjugados ácidos carboxilados e sulfatados), Alcian blue pH 0,5 (detecção de glicoconjugados ácidos sulfatados).

As lâminas foram analisadas em microscópio de luz (Olympus BX50), e as imagens obtidas com câmera acoplada (CMOS), com auxílio de software (TSView).

Na avaliação morfológica foi observada a manutenção ou perda da arquitetura glandular em relação ao parênquima e estroma, além da ausência ou presença de infiltrado inflamatório, classificado em leve, moderado ou intenso.

Na avaliação morfométrica foram analisados 10 diferentes campos por animal, escolhidos ao acaso, para quantificar o parênquima e o estroma das glândulas labiais. As mensurações foram realizadas em imagens obtidas com objetiva de 10X, por meio de quantificação dos pontos de intersecção sobre os componentes das glândulas, utilizando gradícula de 90.000 µm<sup>2</sup> de área com 441 pontos de intersecção.

As mensurações do diâmetro dos ácinos das glândulas salivares labiais foram realizadas em imagens obtidas com objetiva de 10X, onde foram avaliados 30 ácinos, apresentando características típicas, por animal, sendo os índices morfométricos determinados por meio de programa de análise de imagens (Image-Pro Plus 1.3.2, 1994).

A caracterização do padrão histoquímico foi baseada nos componentes orgânicos das secreções das unidades secretoras (ácinos e túbulos), sendo a reação histoquímica classificada em negativa e positiva. A positividade destas reações foi observada pela coloração magenta para o PAS e azul para o Alcian blue.

## **4.4. Etapa 2**

### **4.4.1. Indução da ceratoconjuntivite seca**

Para o estabelecimento da ceratoconjuntivite seca, todos os cães da etapa 2 foram submetidos ao mesmo preparo pré-operatório descrito na etapa 1, exceto o

preparo referente à cavidade oral. Da mesma forma, o teste lacrimal de Schirmer I foi realizado antes da administração de qualquer fármaco.

A pálpebra superior do olho esquerdo e a região dorsolateral da órbita dos cinco animais foram submetidas à tricotomia.

#### **4.4.1.1. Procedimento cirúrgico**

Após preparo do campo operatório com solução de iodopovidona tópica, a glândula lacrimal foi acessada por meio de incisão de pele de 3 cm na margem dorsolateral da órbita e no septo orbital, conforme técnica descrita por Cabral et al. (2005).

Em seguida, o ligamento orbital foi localizado e parcialmente seccionado, e a glândula lacrimal, dissecada e removida. Após remoção, o ligamento orbital foi reconstituído com fio de ácido poliglicólico 3-0, em ponto padrão “X”. O septo orbital e o tecido subcutâneo foram suturados em padrão simples contínuo, com fio catégute cromado 5-0, e a pele, com fio poliamida 4-0 em padrão simples separado.

Após preparo da superfície ocular esquerda com solução de iodopovidona tópica diluída a 0,5% em solução fisiológica estéril 0,9%, a glândula da terceira pálpebra foi exposta por meio de incisão e dissecação da conjuntiva posterior da terceira pálpebra, e removida após sua dissecação da cartilagem e dos tecidos adjacentes, conforme Cabral et al. (2005). Após remoção da glândula, a conjuntiva foi suturada com pontos simples separados invertidos, com fio catégute cromado 5-0.

#### **4.4.1.2. Procedimentos pós-operatórios**

No pós-operatório, foi realizada analgesia com sulfato de morfina (0,5 mg/kg, SC, a cada 4 horas) no primeiro dia e meloxicam (0,1 mg/kg, SC, a cada 24 horas) durante 3 dias.

Os animais permaneceram com colar de proteção e a retirada dos pontos foi realizada no 15º dia.

#### **4.4.2. Avaliação clínica oftalmológica da ceratoconjuntivite seca**

Os animais foram avaliados diariamente, e sinais clínicos de enfermidade foram representados por hiperemia conjuntival, secreção ocular e blefaroespasma. No 7º dia foi realizado o teste lacrimal de Schirmer I.

A hiperemia conjuntival foi avaliada por meio de escores que variaram de 0 a 3, sendo 0, conjuntiva normal; 1, hiperemia leve; 2, hiperemia moderada; e 3, hiperemia intensa (MOORE et al., 2001).

Para secreção ocular, o escore 0 indicou ausência de muco visível ou presença de filamento de muco claro; 1, cordão de muco não aderente; 2, cordão de muco aderente cobrindo até 25% da córnea; e 3, muco aderente cobrindo acima de 25% da córnea (Adaptado de MOORE et al., 2001).

O blefaroespasma recebeu escore 0, quando ausente; 1, para fissura palpebral 75% estreita; 2, fissura palpebral 50% estreita; e 3, fissura fechada, abrindo ocasionalmente.

Após a avaliação clínica oftalmológica realizada no 7º dia, todos os animais iniciaram o tratamento com lacrimomimético, 6 vezes ao dia, por 3 dias, para preparar a superfície ocular para realização do transplante.

#### **4.4.3. Tratamento da ceratoconjuntivite seca**

No 10º dia após a indução da ceratoconjuntivite seca, os animais foram submetidos ao transplante das glândulas salivares labiais autógenas na conjuntiva da pálpebra superior do olho esquerdo formando o grupo CCS/TGSL, seguindo a mesma técnica e protocolos descritos na etapa 1, acrescido de lacrimomimético nos 15 primeiros dias após a cirurgia. Também e, de forma semelhante à etapa 1, o teste lacrimal de Schirmer I foi realizado antes da administração de qualquer fármaco.

#### **4.4.4. Avaliação clínica do sítio receptor**

A região receptora foi avaliada diariamente, durante 10 dias quanto ao aspecto do transplante (coloração e presença/ausência de edema), presença/ausência de quemose e complicações.

#### **4.4.5. Avaliação clínica do sítio doador**

A região doadora dos animais do grupo CCS/TGSL foi avaliada diariamente, durante 10 dias, em relação à aparência, cicatrização e ocorrência de complicações.

#### **4.4.6. Avaliação clínica oftalmológica**

A avaliação dos sinais clínicos foi realizada semanalmente durante 13 semanas, com a última avaliação ocorrendo na 17ª semana, conforme escores já estabelecidos no item 4.4.2., e constou dos seguintes sinais de ceratoconjuntivite seca: hiperemia conjuntival, secreção ocular e blefaroespasmos.

A avaliação oftálmica foi realizada semanalmente durante 13 semanas, com a última avaliação ocorrendo na 17ª semana, por meio do teste lacrimal de Schirmer I, Lissamina verde, aspecto biomicroscópico da superfície da córnea em relação à ocorrência de opacidade e vascularização classificado em normal ou alterado, teste de impregnação por fluoresceína para ceratite ulcerativa, classificado em positivo ou negativo. O teste lacrimal de Schirmer I foi realizado conforme descrito na etapa 1.

O teste com Lissamina verde, utilizado para verificar presença de células desvitalizadas, foi iniciado na 3ª semana e classificado de acordo com a escala de Van Bijsterveld (1969) utilizada na coloração com Rosa Bengala. A superfície ocular foi dividida em três regiões: conjuntiva bulbar nasal, córnea e conjuntiva bulbar temporal, sendo que cada região recebeu escore de 0 a 3, de acordo com ordem crescente de intensidade de coloração.

#### **4.4.7. Avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica**

Na 17ª semana após o transplante, todos os animais foram submetidos aos mesmos procedimentos pré-operatórios, de coleta, processamento do material, técnicas histológicas e histoquímicas, e avaliações descritos na etapa 1.

#### **4.5. Análise estatística**

As variáveis quantitativas foram submetidas aos testes de normalidade (Lilliefors) e homocedasticidade (Cochran) e, posteriormente, a análise de variância.

Quando apresentaram significância, foi utilizado o teste t (dois tratamentos) e o teste de Duncan (mais de dois tratamentos). Quando não atenderam às premissas de normalidade e homocedasticidade, mesmo após as transformações apropriadas, os dados foram submetidos ao teste não-paramétrico de Mann-Whitney (dois tratamentos) e Kruskal-Wallis (mais de dois tratamentos). As variáveis qualitativas foram submetidas ao teste não paramétrico Kruskal-Wallis. Todos os testes foram realizados utilizando o programa Statistica 7.0 e nível de significância de 5%.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1. Etapa 1**

#### **5.1.1. Avaliação clínica do sítio receptor**

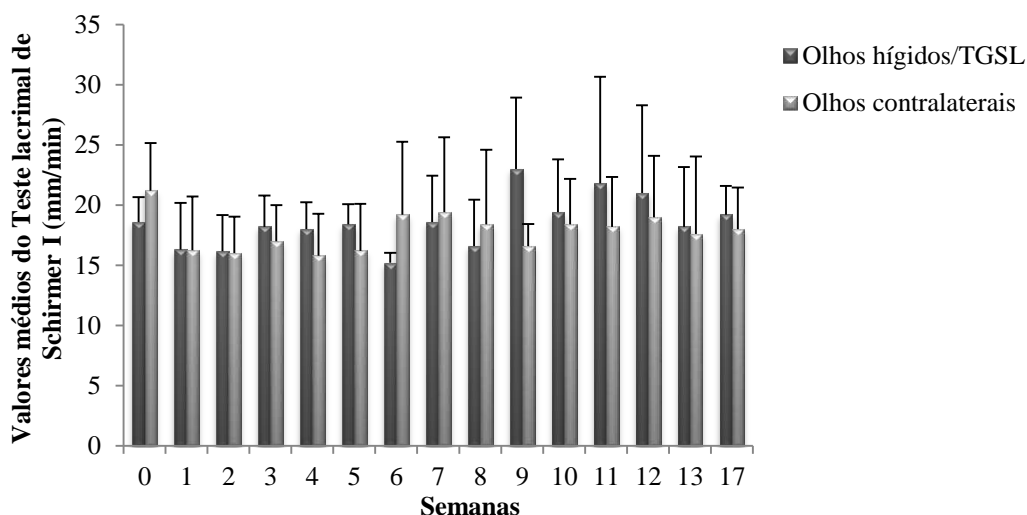
Todos os transplantes apresentaram coloração pálida nas primeiras 24 horas após a cirurgia. Na avaliação realizada após 48 horas, foram evidenciados edema e coloração semelhante à da área de coleta na mucosa oral. A quemose observada em todos os animais teve duração máxima de seis dias.

#### **5.1.2. Avaliação clínica do sítio doador**

A aparência foi comparável a uma região mucosa submetida a trauma cirúrgico leve, com cicatrização normal e sem ocorrência de complicações.

#### **5.1.3. Avaliação clínica oftalmológica**

O teste lacrimal de Schirmer I, realizado no olho hígado/TGSL e no contralateral (controle), não evidenciou diferença ( $p > 0,05$ ) no período pré-operatório, e durante todo o período de avaliação (Figura 4). Não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) quando foram confrontados os valores para o mesmo olho (hígado/TGSL ou contralateral), ao longo de todo o período de avaliação (Figura 4).

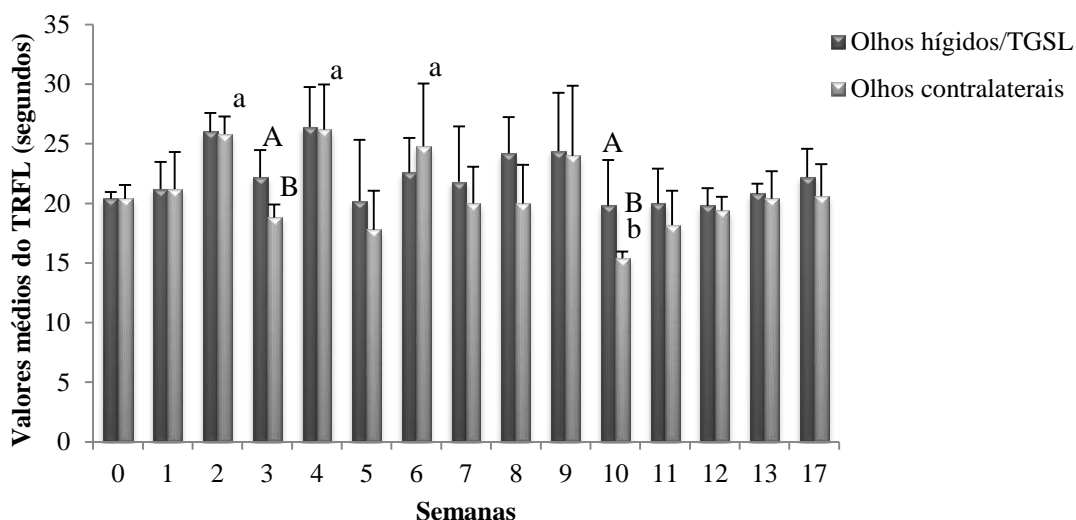


Semana 0 - valor pré-operatório. Valores expressos como média (coluna) e desvio-padrão (barra). Não foram encontradas diferenças na comparação de valores entre os tratamentos e ao comparar os valores no mesmo tratamento ao longo do tempo.

Figura 4 - Valores médios do teste lacrimal de Schirmer I (mm/min) em olhos hígdos/TGSL e contralaterais de cães, ao longo do período experimental.

Com relação ao tempo de ruptura do filme lacrimal, foram observadas diferenças ( $p < 0,05$ ) entre o olho hígdio/TGSL e o contralateral na 3ª e 10ª semanas após a cirurgia, com menores valores para o olho contralateral (Figura 5). Ao analisar os valores do olho que recebeu transplante ao longo do tempo e do contralateral, também ao longo do tempo de avaliação, foi observada diferença estatística apenas no contralateral na 10ª semana em relação à 2ª, 4ª e 6ª semanas (Figura 5).

Não foram observadas alterações nos olhos hígdos/TGSL e nos olhos contralaterais nas avaliações pelo teste da impregnação por fluoresceína e do aspecto biomicroscópico das superfícies das córneas.



Semana 0: valor pré-operatório. Valores expressos como média (coluna) e desvio-padrão (barra). Letras maiúsculas distintas na mesma semana indicam diferença entre os tratamentos. Letras minúsculas distintas no mesmo tratamento ao longo do tempo indicam diferença.

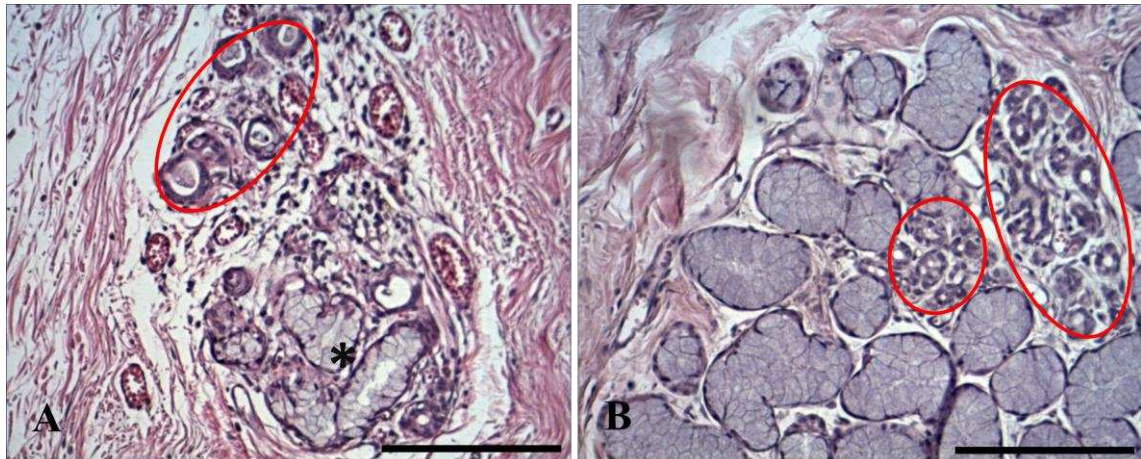
Figura 5 - Valores médios do tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL) em olhos hígidos/TGSL e contralaterais de cães ao longo do período experimental.

#### 5.1.4. Avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica

Na avaliação morfológica do material biopsiado do transplante de glândulas salivares labiais autógenas nos olhos hígidos (grupo hígido/TGSL) foi observado, em 80% dos animais, parênquima glandular com acentuada hipotrofia, algumas regiões com preservação do padrão morfológico (Figura 6A) e outras com unidades secretoras apresentando células cúbicas ou pavimentosas associadas a lúmen amplo.

No cão 4 (20% dos animais) foram observadas regiões com parênquima glandular relativamente preservado e, em menor quantidade, regiões com acentuada hipotrofia (Figura 6B), sendo estas semelhantes às observadas nos demais cães do grupo.

Em todas as biópsias realizadas na 17ª semana após o transplante, foi observado infiltrado inflamatório leve a moderado, com predomínio de linfócitos e macrófagos, e presença de grande quantidade de tecido conjuntivo.



A: Parênquima glandular com acentuada hipotrofia (círculo vermelho) e regiões com preservação do padrão morfológico (\*). B: Parênquima glandular relativamente preservado e regiões bem delimitadas exibindo acentuada hipotrofia glandular (círculo vermelho). HE. Barras: 150  $\mu$ m.

Figura 6 - Fotomicrografia das glândulas salivares labiais autógenas transplantadas para a conjuntiva palpebral de cães, pertencentes ao grupo hígado/TGSL.

Os valores médios da quantificação do parênquima e estroma proveniente da biópsia dos animais do grupo hígado/TGSL estão representados na Tabela 1. Quando comparados os valores entre os animais foram verificadas diferenças ( $p < 0,05$ ) entre os cães 2 e 4, e dos mesmos em relação aos demais, sendo que o cão 4 apresentou a maior relação parênquima e estroma, e o cão 2, a menor relação (Tabela 1). Não foi observada diferença estatística entre os demais (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores médios da quantificação do parênquima e estroma do material oriundo de biópsia do transplante de glândulas salivares labiais autógenas dos cães do grupo hígado/TGSL, pertencentes à Etapa 1

Animais	Parênquima	Estroma
Cão 1	181,4 $\pm$ 36,67 <sup>a</sup>	259,6 $\pm$ 36,67 <sup>a</sup>
Cão 2	117,4 $\pm$ 37,39 <sup>b</sup>	323,6 $\pm$ 37,39 <sup>b</sup>
Cão 3	159,2 $\pm$ 58,49 <sup>a</sup>	281,8 $\pm$ 58,49 <sup>a</sup>
Cão 4	254,7 $\pm$ 54,92 <sup>c</sup>	186,3 $\pm$ 54,92 <sup>c</sup>
Cão 5	176,1 $\pm$ 42,54 <sup>a</sup>	264,9 $\pm$ 42,54 <sup>a</sup>
Média Total	177,76 $\pm$ 63,70	263,24 $\pm$ 63,70

Valores expressos como média  $\pm$  desvio-padrão.

Valores com letras distintas sobrescritas na mesma coluna indicam diferença ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan.

Os valores médios da mensuração do diâmetro de ácinos proveniente da biópsia dos animais do grupo hígado/TGSL são apresentados na Tabela 2. Quando comparados os valores entre os animais, foram verificadas diferenças ( $p < 0,05$ ), conforme representadas na Tabela 2.

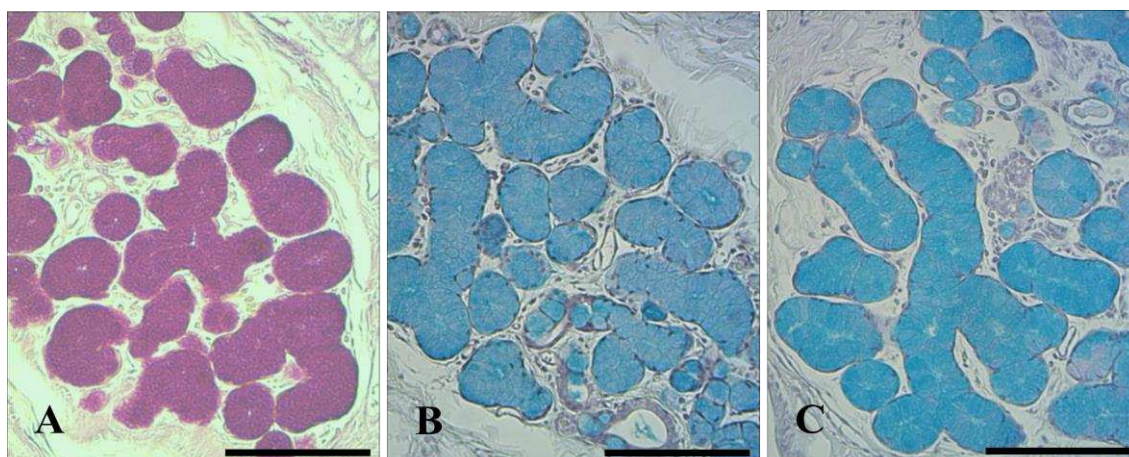
Tabela 2 - Valores médios da mensuração do diâmetro de ácinos presentes no material oriundo de biópsia realizada no transplante de glândulas salivares labiais autógenas dos cães do grupo hígado/TGSL, pertencentes à Etapa 1

Animais	Diâmetro
Cão 1	98,61±13,08 <sup>ade</sup>
Cão 2	143,12±36,61 <sup>b</sup>
Cão 3	102,55±24,18 <sup>cd</sup>
Cão 4	116,51±13,88 <sup>bc</sup>
Cão 5	106,50±25,30 <sup>ce</sup>
Média Total	115,08±28,89

Valores expressos como média ± desvio-padrão.

Valores com letras distintas sobrescritas na mesma coluna indicam diferença ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis.

A avaliação histoquímica realizada no material oriundo de biópsia de todos os animais, mostrou reações positivas aos métodos de PAS e Alcian blue pH 2,5 e pH 0,5 (Figura 7).



A: Reação positiva ao PAS. B: Reação positiva ao Alcian blue pH 2,5. C: Reação positiva ao Alcian blue pH 0,5. Barras: 150  $\mu$ m.

Figura 7 - Fotomicrografia de unidades secretoras das glândulas salivares labiais autógenas transplantadas para a conjuntiva palpebral de cão, pertencente ao grupo hígado/TGSL.

## **5.2. Etapa 2**

### **5.2.1. Avaliação clínica oftalmológica da ceratoconjuntivite seca**

Os valores do teste lacrimal de Schirmer I, realizado nos olhos esquerdos dos animais do grupo CCS/TGSL antes do procedimento cirúrgico de indução da CCS, apresentaram-se normais ( $17,4 \pm 2,07$  mm/min).

Após a indução da CCS, a pálpebra superior esquerda e conjuntiva palpebral dos animais pertencentes ao grupo CCS/TGSL apresentaram-se edemaciadas nos cinco primeiros dias e foram observadas hiperemia conjuntival em 100% dos cães, além da presença de blefaroespasmos e secreção em 80%, sendo esta, presente em 100% deles, no 6º dia.

No sétimo dia, o teste lacrimal de Schirmer I apresentou valor igual a 0 mm/min em todos os animais. Em 1 animal (20%), foi observada ceratite ulcerativa superficial, que foi tratada com lacrimomimético, administrado 6 vezes ao dia, como previsto no experimento, associado a antibioticoterapia tópica (cloridrato de ciprofloxacino 0,35%, 1 gota a cada 6 horas) e anti-inflamatório tópico (diclofenaco sódico, 1 gota a cada 8 horas), com remissão dentro de 7 dias.

### **5.2.2. Avaliação clínica do sítio receptor**

Todos os transplantes apresentaram coloração pálida nas primeiras 24 horas. Na avaliação realizada após 48 horas, apresentaram-se edemaciados e com coloração rosada semelhante a da mucosa oral. Todos os animais apresentaram quemose após a cirurgia, que teve duração máxima de oito dias.

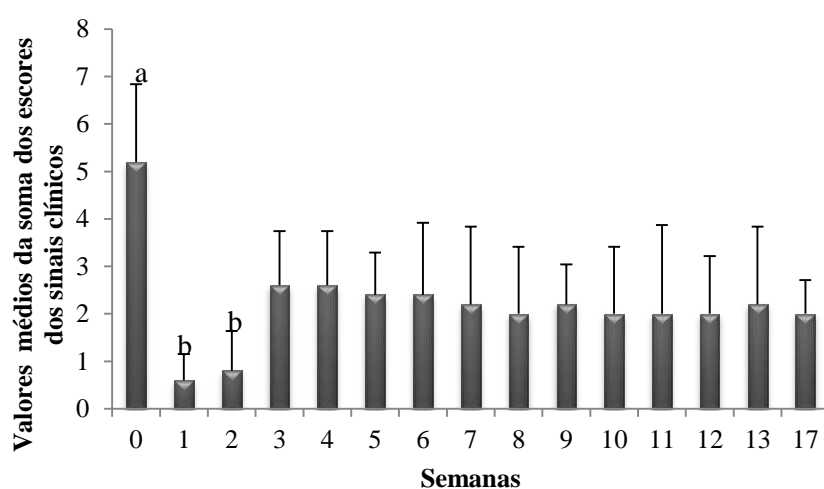
A presença de fio de sutura frouxo foi observada em dois animais no momento da retirada do ponto, e um deles, apresentou sinais de ceratite ulcerativa superficial.

### **5.2.3. Avaliação clínica do sítio doador**

Desde o pós-operatório imediato, o sítio doador apresentou-se, em todos os casos, com aparência de tecido submetido a trauma cirúrgico leve, com cicatrização normal e sem ocorrência de complicações.

## 5.2.4. Avaliação clínica oftalmológica

Na avaliação dos sinais clínicos da ceratoconjuntivite seca, os valores referentes à soma dos escores obtidos para hiperemia, secreção ocular e blefaroespasma, observados após a indução da CCS (semana zero) e semanalmente para os animais do grupo CCS/TGSL, encontram-se representados na Figura 8 e Tabela 3. Ao se comparar os valores obtidos após a indução da CCS com os apresentados ao longo das semanas, foi observada diferença ( $p < 0,05$ ) apenas na 1ª e 2ª semana apesar de todos os outros valores médios também terem sido menores (Figura 8).



Semana 0: valores após a indução da CCS. Letras minúsculas distintas ao longo do tempo indicam diferença pelo teste de Kruskal-Wallis.

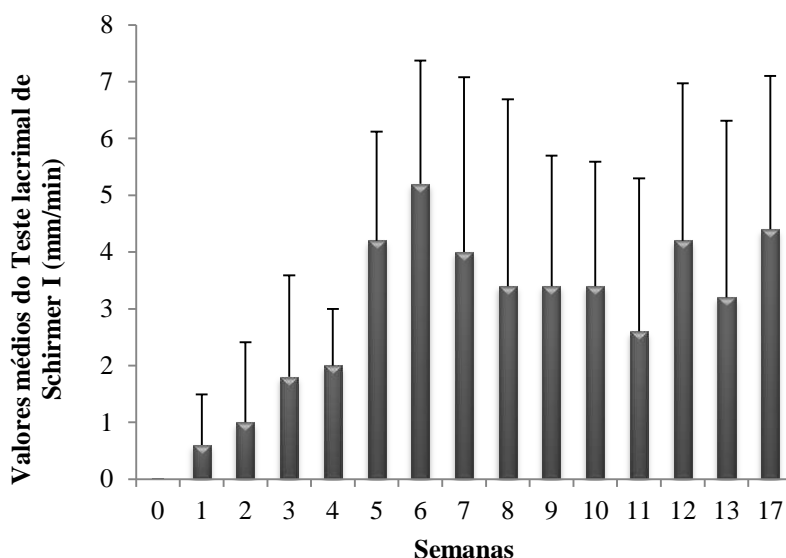
Figura 8 - Valores médios da soma dos escores dos sinais clínicos da CCS dos animais do grupo CCS/TGSL.

Tabela 3 - Valores individuais da soma dos escores dos sinais clínicos dos animais do grupo CCS/TGSL, pertencentes à Etapa 2, ao longo do período experimental

Animais	S0*	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S17
Cão 6	7	1	1	3	4	4	5	5	4	3	3	5	4	5	3
Cão 7	4	0	2	3	3	2	2	2	0	1	0	0	1	1	1
Cão 8	6	0	0	4	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2
Cão 9	3	1	1	2	3	2	2	1	2	3	3	2	2	2	2
Cão 10	6	1	0	1	1	2	1	1	2	2	3	2	2	1	2

\*S0: valores após a indução da CCS.

Na avaliação pelo teste lacrimal de Schirmer I, foi observado aumento nos valores a partir da 1ª semana no grupo CCS/TGSL (Figura 9).



Semana 0: valores obtidos após a indução da CCS. Ausência de diferenças pelo teste de Kruskal-Wallis ao se comparar os valores ao longo do tempo.

Figura 9 - Valores médios do teste lacrimal de Schirmer I (mm/min) dos animais do grupo CCS/TGSL.

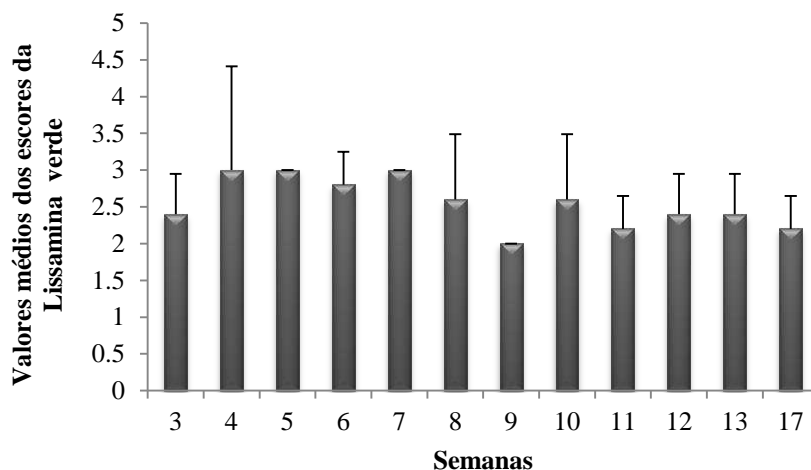
Todos os animais do grupo CCS/TGSL apresentaram secreção glandular evidenciada pelo teste de Schirmer I. Em 40% deles, a secreção foi evidenciada pela primeira vez na 1ª semana, em 20% na terceira, e o restante, na 4ª semana, embora em quantidades variáveis entre animais e a cada semana (Tabela 4).

Tabela 4 - Valores individuais do teste lacrimal de Schirmer I (mm/min) dos animais do grupo CCS/TGSL pertencentes à Etapa 2, ao longo do período experimental

Animais	S0*	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S17
Cão 6	0	0	0	0	1	4	4	2	0	2	3	1	3	4	4
Cão 7	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	1	0	3
Cão 8	0	0	0	4	2	5	7	7	4	5	4	2	3	1	2
Cão 9	0	2	3	2	3	5	6	4	7	5	4	3	8	8	9
Cão 10	0	1	2	3	3	6	7	7	6	5	6	7	6	3	4

\*S0: valores após a indução da CCS.

Na avaliação pela Lissamina verde, não foi observada diferença ( $p>0,05$ ) na impregnação pelo corante no grupo CCS/TGSL ao longo do período de avaliação (Figura 10) e os valores individuais dos escores da Lissamina verde estão representados na Tabela 5.



Ausência de diferenças pelo teste de Kruskal-Wallis ao comparar os valores ao longo do tempo.

Figura 10 - Valores médios dos escores da Lissamina verde dos animais do grupo CCS/TGSL.

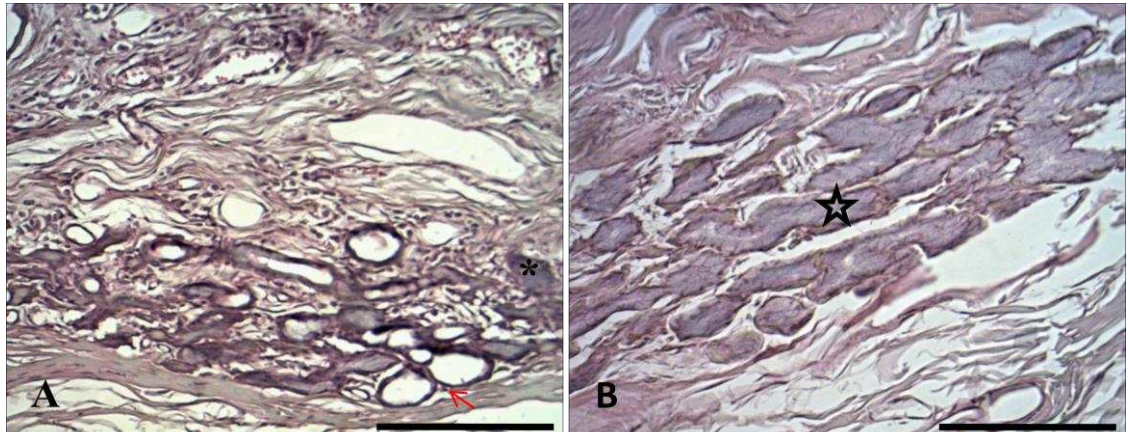
Tabela 5 - Valores individuais dos escores da Lissamina verde dos animais do grupo CCS/TGSL pertencentes à Etapa 2, ao longo do período experimental

Animais	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S17
Cão 6	3	2	3	3	3	2	2	2	3	3	3	3
Cão 7	3	5	3	3	3	2	2	2	2	3	3	2
Cão 8	2	4	3	2	3	4	2	4	2	2	2	2
Cão 9	2	2	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2
Cão 10	2	2	3	3	3	3	2	3	2	2	2	2

Com relação ao aspecto biomicroscópico da córnea, não foram observadas opacidade e vascularização nos animais do grupo CCS/TGSL, referentes à progressão do quadro de CCS. Também não foi observada alteração nos animais pelo teste da impregnação por fluoresceína. Entretanto, na 2ª semana de avaliação, foi encontrada ceratite ulcerativa superficial em um animal.

### 5.2.5. Avaliações morfológica, morfométrica e histoquímica

Na avaliação morfológica, em 80% dos animais do grupo CCS/TGSL foi observada hipotrofia acentuada do parênquima glandular, regiões com unidades secretoras apresentando células cúbicas ou pavimentosas associadas à lúmen amplo e regiões com preservação do padrão morfológico (Figura 11A).



A: Parênquima glandular com acentuada hipotrofia, unidades secretoras com células cúbicas ou pavimentosas associadas a lúmen amplo (seta vermelha) e regiões com preservação do padrão morfológico (\*). B: Parênquima glandular hipotrofiado, mas com preservação da arquitetura histológica (estrela). HE. Barras: 150  $\mu$ m.

Figura 11 - Fotomicrografia das glândulas salivares labiais autógenas transplantadas para a conjuntiva palpebral de cães do grupo CCS/TGSL.

No cão 9 (20%) foi observado parênquima glandular hipotrofiado, mas com preservação da arquitetura histológica (Figura 11B).

Em todos os animais do grupo foi observada presença de infiltrado inflamatório, leve a moderado, com predomínio de linfócitos e macrófagos, e presença de grande quantidade de tecido conjuntivo.

Na morfometria, os valores da quantificação do parênquima e estroma do material de biópsia dos animais do grupo CCS/TGSL estão representados na Tabela 6.

Quando comparados os valores da quantificação do parênquima e estroma entre os animais do grupo CCS/TGSL, foi verificada diferença ( $p < 0,05$ ) do cão 9 em relação aos demais (Tabela 6). Ainda, diferença estatística foi observada entre os cães 6 e 7, assim como, entre os cães 7 e 8 (Tabela 6).

Tabela 6 - Valores médios da quantificação do parênquima e estroma do material oriundo de biópsia do transplante de glândulas salivares labiais autógenas dos cães do grupo CCS/TGSL pertencentes à Etapa 2

Animais	Parênquima	Estroma
Cão 6	104,60±34,30 <sup>a</sup>	336,40±34,30 <sup>a</sup>
Cão 7	156,20±51,48 <sup>b</sup>	284,80±51,48 <sup>b</sup>
Cão 8	115,10±45,31 <sup>a</sup>	325,90±45,31 <sup>a</sup>
Cão 9	196,30±32,67 <sup>c</sup>	244,70±32,67 <sup>c</sup>
Cão 10	129,60±48,10 <sup>ab</sup>	311,40±48,10 <sup>ab</sup>
Média Total	140,36±52,97	300,64±52,97

Valores expressos como média ± desvio-padrão.

Valores com letras distintas sobrescritas nas colunas indicam diferença ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan.

Os valores da mensuração do diâmetro de ácinos presentes no material de biópsia dos animais do grupo CCS/TGSL estão representados na Tabela 7.

Os dados de comparação dos valores dos diâmetros dos ácinos, entre os animais do grupo CCS/TGSL estão representados na Tabela 7.

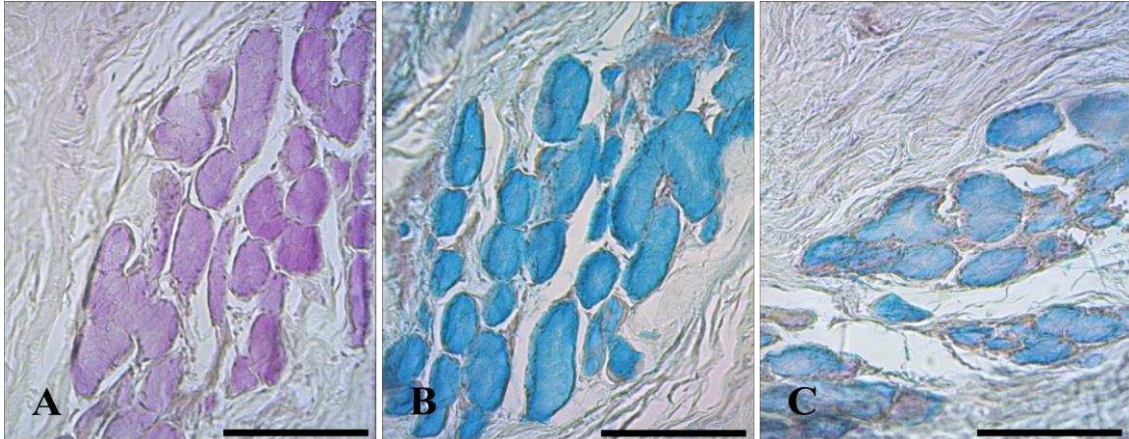
Tabela 7 - Valores médios da mensuração do diâmetro de ácinos presentes no material de biópsia do transplante de glândulas salivares labiais autógenas dos cães do grupo CCS/TGSL pertencentes à Etapa 2

Animais	Diâmetro
Cão 6	114,96±32,79 <sup>ac</sup>
Cão 7	127,99±28,46 <sup>a</sup>
Cão 8	123,60±24,63 <sup>ac</sup>
Cão 9	61,07±13,98 <sup>b</sup>
Cão 10	94,89±37,58 <sup>c</sup>
Média Total	106,73±37,26

Valores expressos como média ± desvio-padrão.

Valores com letras distintas sobrescritas na mesma coluna indicam diferença ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis.

Com relação à avaliação histoquímica, realizada no material oriundo de biópsia de todos os animais do grupo CCS/TGSL foi observada reação positiva ao método de PAS, e ao Alcian blue pH 2,5 e pH 0,5 (Figura 12).



A: Reação positiva ao PAS. B: Reação positiva ao Alcian blue pH 2,5. C: Reação positiva ao Alcian blue pH 0,5. Barras: 150  $\mu$ m.

Figura 12 - Fotomicrografia de unidades secretoras das glândulas salivares labiais autógenas transplantadas para a conjuntiva palpebral de cão pertencente ao grupo CCS/TGSL.

## 6. DISCUSSÃO

A técnica cirúrgica envolvida no transplante de glândulas salivares labiais é simples e de fácil execução, assim como observado nos procedimentos descritos na literatura humana (RAUS, 2003; SOARES; FRANÇA, 2005; GEERLING et al., 2008) e na Medicina Veterinária (ANGÉLICO et al., 2011; ROCHA, 2012).

As glândulas salivares labiais transplantadas nos animais do grupo hígado/TGSL (Etapa 1) e do grupo CCS/TGSL (Etapa 2) foram obtidas do lábio inferior no antímero esquerdo, na região anatômica do último pré-molar e primeiro molar inferior, por constituir região de mais fácil acesso, com maior quantidade de parênquima em relação a região rostral, determinada como região média no estudo das glândulas in situ (GALVÃO et al., s.d.). Porém, Angélico et al. (2011) optaram pela região próxima à comissura labial como local de coleta das glândulas salivares, mesmo sem ter feito avaliação histológica in situ, e Rocha (2012) utilizou a região anatômica ao lado dos dentes pré-molares inferiores.

A pálpebra superior foi escolhida como local receptor do transplante para manter a localização anatômica mais relacionada com a glândula lacrimal, apesar de apresentar maior mobilidade que a pálpebra inferior, segundo Gelatt et al. (2006). Na literatura humana são descritas a pálpebra superior e inferior como possíveis sítios receptores para o transplante (MURUBE, 1997; RAUS, 2003; SOARES; FRANÇA, 2005; GEERLING et al., 2008; GUPTA, 2012; SANT'ANNA et al., 2012).

Neste estudo foi realizada sutura com fio inabsorvível em padrão simples contínuo, com as extremidades enodadas na pele, conforme descrito por Soares e França (2005) e recomendado por Geerling et al. (2008). Apesar da maior mobilidade da pálpebra superior e do padrão contínuo de sutura representarem maior risco de perda do transplante, não foi observado qualquer tipo de perda, à semelhança dos resultados de Gupta (2012), ao utilizar padrão contínuo com nós ocultos e fio absorvível nas pálpebras superior e inferior, em humanos. Diferindo, entretanto, do resultado de Rocha (2012), que observou perda parcial de 1 em 27 transplantes realizados na pálpebra superior de cães, ao utilizar padrão contínuo e fio absorvível.

Ainda com relação à técnica cirúrgica, Angélico et al. (2011) realizaram sutura com fio absorvível em pontos simples separados invertidos para evitar lesões corneanas. Entretanto, no 7º dia após a cirurgia foram observados três casos de ceratite ulcerativa superficial em 16 animais que receberam o transplante. Já, Rocha (2012) em um caso após deiscência da ferida cirúrgica, ao empregar sutura contínua. Neste estudo, foram evidenciados sinais de ceratite ulcerativa superficial em um cão do grupo CCS/TGSL que pode ser imputada ao atrito ocasionado pelo fio cirúrgico que se encontrava frouxo.

Embora Geerling et al. (2008) recomendem a retirada da sutura aos 15 dias, o achado de sutura frouxa nessa época e, portanto, sem função, reforça a possibilidade de retirada mais precoce. Segundo Melo et al. (2009), em transplante da mucosa oral autógena para a conjuntiva palpebral de cães, pontos foram removidos aos 7 dias, devido a ótima receptividade. Para Pereira (2004), a cicatrização por primeira intenção acontece em torno de 10 dias.

Em humanos, foi sugerida a aplicação de lente de contato terapêutica até completa reabsorção da sutura, para evitar danos no epitélio corneano, especialmente em transplantes na pálpebra superior (RAUS, 2003; GEERLING et al., 2008) ou, realização de duas suturas contínuas paralelas envolvendo a submucosa, e extremidades enodadas na pele, o que reduz a quantidade e duração do edema pós-operatório (GEERLING et al., 2008).

Segundo Soares e França (2005) e Geerling et al. (2008), deve ser estabelecido um bom contato entre o transplante e o sítio receptor para proporcionar rápida revascularização e fornecimento de oxigênio aos tecidos transplantados. Desta forma, buscou-se a implantação do transplante em contato direto com a musculatura local, e optou-se por não utilizar fármacos vasoconstritores no sítio receptor.

Todos os transplantes realizados nas etapas 1 e 2 (grupo hígido/TGSL e grupo CCS/TGSL, respectivamente), nas primeiras avaliações, exibiram coloração pálida, tornando-se, posteriormente, edemaciados e assumindo coloração semelhante à observada no local de coleta, como relatado nos experimentos de Soares e França (2005), Geerling et al. (2008) e Angélico et al. (2011). Para Soares e França (2005), a rápida recuperação da coloração no leito receptor e a lubrificação ocular referendada pela melhora clínica, evidenciam a integração do transplante.

Os achados deste estudo são semelhantes às três fases descritas por Lofêgo Filho et al. (2006) em relação à integração dos enxertos autólogos de pele em humanos, com uma fase inicial de embebição plasmática, posteriormente retornando à coloração normal nas fases seguintes (fase inosculatória e de revascularização). Assim, e de forma semelhante ao relatado por Raus (2003) e Geerling et al. (2008), foram obtidos transplantes clinicamente viáveis e revascularizados dentro de uma semana. Segundo Geerling et al. (2008), a revascularização está associada à melhora dos sintomas e aumento da lubrificação da superfície ocular.

A colocação de bandagem, ligeiramente compressiva, sobre o olho dos animais que receberam transplante (grupo hígido/TGSL e grupo CCS/TGSL), mantendo as pálpebras fechadas, como recomendado por Raus (2003) e Geerling et al. (2008), possivelmente contribuiu para a integração, pois reduziu a mobilidade palpebral e preveniu sangramento.

De maneira diferente à relatada por Soares e França (2005) e Geerling et al. (2008), em nenhum dos transplantes realizados foram observadas necrose ou infecção do tecido transplantado, o que permite inferir a eficiência da técnica empregada, que favoreceu a revascularização do transplante e da antibioticoterapia.

A quemose observada no sítio receptor de todos os animais que receberam transplante, esteve presente por 6 e 8 dias nos grupos hígido/TGSL e CCS/TGSL, respectivamente, e também foi descrita por Soares e França (2005) e Angélico et al. (2011), e pode ser atribuída ao trauma cirúrgico e à presença do material transplantado.

Não foram observadas intercorrências nos sítios doadores em ambas as etapas, à semelhança do relatado por Raus (2003) e Geerling et al. (2008) em humanos, após remoção de transplantes de maior tamanho, sem a realização de sutura, com cicatrização ocorrendo no período de 2 a 4 semanas. Infere-se a importância da sutura, que contribui para restabelecimento precoce e diminuição do trauma ocasionado pela interferência do cão.

Com relação aos resultados das avaliações clínicas oftalmológicas, não foi observada diferença entre os valores obtidos para os olhos hípidos/TGSL e os contralaterais, e para os mesmos olhos ao longo do tempo, no teste lacrimal de Schirmer I.

Güerri e Belmonte (2004) também não observaram aumento significativo nos valores do teste em paciente humano submetido ao transplante de glândulas salivares labiais autógenas para tratamento da CCS. Segundo Sant'Anna et al. (2012), o teste lacrimal de Schirmer I pode apresentar valores subestimados em função da secreção salivar ser mais viscosa que a lágrima, interferindo na absorção pelo papel. É possível inferir também que em olhos com produção lacrimal normal, como nos animais do grupo hírido/TGSL, pequeno aumento no teste lacrimal de Schirmer I, oriundo da produção de saliva pelo transplante, pode não ser significativo.

Com relação ao tempo de ruptura do filme lacrimal, não houve diferença estatística entre os valores obtidos nos olhos hípidos/TGSL (Etapa 1) e nos contralaterais, exceto na 3ª e 10ª semana. Independente do fator que tenha ocasionado esta flutuação em relação ao normal, ocorrido na 3ª semana no olho contralateral, e na 10ª semana em ambos os olhos, acredita-se que a presença de mucinas na secreção das glândulas salivares labiais tenha conferido maior estabilidade para o filme lacrimal do olho hírido/TGSL em relação ao contralateral, permitindo menores alterações em relação ao valor normal. Também, para Maggs (2008) o tempo de ruptura do filme lacrimal, avalia a quantidade e qualidade das mucinas presentes.

Segundo Moore et al. (1987), o tempo normal de ruptura do filme lacrimal é de 20 segundos ou mais e, embora na 3ª, 5ª, 11ª e 12ª semanas o olho contralateral, e na 10ª semana ambos os olhos tenham apresentado valores menores do que o normal, os mesmos não estavam associados a outros sinais oftalmológicos e nem inferiores a 15 segundos, sendo que para Moore e Collier (1990), alterações qualitativas no filme lacrimal ocorrem com valores menores que 5 segundos.

As ausências de positividade para a ceratite ulcerativa no teste da impregnação por fluoresceína, e de opacidade e vascularização no aspecto biomicroscópico da superfície da córnea, observadas no grupo hígado/TGSL, permitem inferir que a presença física e a funcionalidade da glândula não alteraram desfavoravelmente a estabilidade do filme lacrimal e a superfície da córnea durante o período avaliado.

Na avaliação morfológica, as glândulas salivares labiais apresentaram arquitetura histológica parcialmente preservada 17 semanas após transplantação no grupo hígado/TGSL (Etapa 1), confirmada pela presença de quantidade variável de preservação do padrão morfológico, regiões hipotrofiadas, outras com unidades secretoras com células cúbicas ou pavimentosas associadas a lúmen amplo e presença de tecido conjuntivo em maior quantidade.

Houve revascularização precoce do tecido glandular, na medida em que os constituintes, parênquima e estroma, apresentavam-se viáveis 17 semanas após o transplante, o que não ocorreria na ausência da revascularização, conforme informações de Nunes et al. (2013), que realizaram transplante autógeno de órgãos parenquimatosos. Os transplantes glandulares aplicados de forma livre são dependentes de difusão de nutrientes e do surgimento de novos vasos sanguíneos. Desta forma, um leito receptor ricamente vascularizado influencia positivamente a sobrevivência do transplante (MOTA et al., 1999). Segundo Soares e França (2005), as glândulas salivares labiais autógenas foram acondicionadas sobre o plano muscular constituído de estruturas ricamente vascularizadas.

A fibrose e a hipotrofia glandular também foram descritas em transplantes glandulares de forma livre (MOTA et al., 1999; MOTA et al., 2004; VASCONCELLOS et al., 2008), e podem ser parte do processo de incorporação do transplante de forma livre, sendo possivelmente influenciadas pela revascularização.

Segundo Kumar et al. (2010), respostas adaptativas ocorrem em função de mudanças no ambiente e podem ser devidas à perda da inervação, redução do fluxo sanguíneo e nutrição inadequada.

Nos animais do grupo hígado/TGSL (Etapa 1) foi observado infiltrado inflamatório leve a moderado, com predomínio de linfócitos e macrófagos cuja presença pode estar relacionada à degradação tecidual, com o que concordam Mota et al. (1999).

Com relação à avaliação morfométrica do material biopsiado do grupo hígado/TGSL, foram observados menores valores da quantificação do parênquima e da mensuração do diâmetro dos ácinos em comparação com os obtidos no estudo das

glândulas in situ (GALVÃO et al., s.d.), confirmando os achados morfológicos de fibrose e de hipotrofia glandular, respectivamente.

Na morfometria realizada no material oriundo do grupo hígado/TGSL, foi observada maior relação parênquima e estroma no cão 4 em comparação com os outros animais do grupo. Em contrapartida, foi observada menor relação no cão 2, também comparada aos animais do grupo. Possivelmente, estas respostas sejam individuais, sendo que padrões variáveis de respostas dentro do mesmo grupo também foram descritos por Vasconcellos et al. (2008), ao avaliarem morfológicamente transplantes de órgãos parenquimatosos.

Com relação ao diâmetro dos ácinos observados nos animais do grupo hígado/TGSL, não foi constatada diferença entre os cães 2 e 4, provavelmente porque no cão 2 estavam presentes regiões com unidades secretoras apresentando células cúbicas ou pavimentosas associadas a lúmen amplo, que contribuíram para os valores encontrados.

As avaliações histoquímicas demonstraram que além da arquitetura histológica parcialmente preservada em todos os transplantes realizados no grupo hígado/TGSL, as glândulas mantiveram a viabilidade funcional, na medida em que foram observadas respostas positivas aos corantes empregados.

Desta forma, a capacidade funcional da glândula labial autógena transplantada em olhos hígados (grupo hígado/TGSL) foi preservada, embora quantitativamente menor quando comparada à das glândulas in situ (GALVÃO et al., s.d.). Qualitativamente, pode ser inferido que houve manutenção do perfil da secreção glandular, pois houve o mesmo padrão de resposta observado em estudo anterior com glândulas in situ (GALVÃO et al., s.d.).

Moore et al. (2001) verificaram, na 2ª semana após remoção bilateral da glândula lacrimal e da glândula da terceira pálpebra, em modelo de CCS em cães, hiperemia conjuntival e acúmulo de muco, e iniciaram o tratamento tópico com ciclosporina a 2% nesta data. Já Kern et al. (1988), observaram evidências clínicas de CCS no 7º dia pós-operatório na maioria dos animais, após remoção de ambas as glândulas. Na etapa 2 deste estudo, a CCS induzida com os mesmos procedimentos cirúrgicos descritos por Kern et al. (1988) e Moore et al. (2001), resultou em sinais clínicos semelhantes na avaliação realizada no 7º dia (blefaroespasmos, hiperemia e secreção), apresentando valores iguais a 0 mm/min no teste lacrimal de Schirmer I.

O teste lacrimal de Schirmer I, realizado antes da indução da CCS, apresentou valores normais, confirmando ausência de alterações anteriores à indução. Os sinais clínicos aferidos após a indução da ceratoconjuntivite seca foram utilizados como dados iniciais para avaliação do transplante (grupo CCS/ TGSL).

No grupo CCS/TGSL, a escolha e a frequência de administração do lacrimomimético foram baseadas no tipo de desordem do filme lacrimal produzido, concentração e viscosidade do agente, presença de conservantes, conforme critérios estabelecidos por Grahn e Storey (2004).

Com relação aos sinais clínicos, ao longo das semanas no grupo CCS/TGSL, nas semanas 1 e 2 foi observada diferença em relação aos valores iniciais, que foi o período em que os olhos receberam medicações que, possivelmente, contribuíram para maior redução dos sinais clínicos. Acredita-se que a melhora clínica observada em todo período de avaliação em relação à semana inicial, não apresentou diferença estatística em função dos dados iniciais representarem apenas uma semana após indução da CCS, que constitui doença de caráter progressivo. Rocha (2012), trabalhando com CCS crônica, observou melhora clínica significativa em cães, assim como Angélico et al. (2011) que utilizaram tratamento similar, entretanto, conduzidos em olhos com doença crônica, com quadro clínico estabelecido.

A remoção das glândulas lacrimal e da terceira pálpebra produziu um quadro de CCS incapaz de recuperação espontânea, e a melhora clínica observada no grupo CCS/TGSL, embora sem diferença estatística em relação ao valor inicial, foi consequência dos componentes da “lágrima salivar”, concordando com as observações de Güerrissi e Belmonte (2004), Soares e França (2005), Angélico et al. (2011), Gupta (2012) e Rocha (2012).

Para Aguilar (2008) a deficiência da fração aquosa observada na CCS induzida, aumenta a osmolaridade do filme lacrimal que, além de acarretar lesões epiteliais e acúmulo de muco, influencia o processo inflamatório. Já, a hiposmolaridade da saliva (AKERS; DENBOW, 2008), aliada a presença de mucinas ácidas em sua composição, atuaram de forma competitiva com a hipertonicidade e a desidratação da superfície ocular, que correspondem aos eventos causadores iniciais da CCS (GIULIANO; MOORE, 2007; AGUILAR, 2008).

Para Giuliano e Moore (2007) a falta da camada aquosa na CCS quantitativa aumenta a fricção ocasionada pelo movimento palpebral na córnea, compromete a remoção de produtos do metabolismo e a manutenção da umidade da córnea.

Possivelmente, as mucinas salivares, presentes na superfície ocular no grupo CCS/TGSL, foram responsáveis pela redução dos sinais clínicos observados ao longo do tempo, à semelhança da cavidade oral, onde essas mucinas conferem proteção e sensação de conforto (MOHAMMADPOUR, 2010).

Na avaliação pelo teste lacrimal de Schirmer I, todos os animais do grupo CCS/TGSL apresentaram secreção glandular, inicialmente mensurada a partir da primeira semana após transplantação. De forma semelhante, Raus (2003) observou em humanos, aumento dos valores em 10 olhos que receberam o transplante, embora com secreção iniciada entre 2<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> semanas.

Ao avaliar os resultados obtidos ao longo do tempo pelo teste lacrimal de Schirmer I, foi constatado que os valores foram variados em todos os cães, com resultados nulos em algumas semanas, o que pode ser devido a valores subestimados pelo teste em função da secreção salivar ser mais viscosa que a lágrima, de acordo com Sant'Anna et al. (2012), e também porque os sinais clínicos não evidenciaram piora nestes momentos.

Apesar da ausência de diferença estatística para os valores advindos do teste de Schirmer I no grupo CCS/TGSL, os dados demonstram aumento ao final do período avaliado em relação ao valor obtido após a indução da CCS. De forma semelhante, Gupta (2012) e Sant'Anna et al. (2012) avaliaram o TGSL no tratamento de olho seco grave em humanos que possuíam valores iniciais do teste iguais a zero, entretanto, observaram melhora significativa em 100% e 73,7%, respectivamente, dos olhos que receberam o transplante. Já Angélico et al. (2011), observaram aumento no teste lacrimal em 56% dos olhos transplantados de cães, valores constantes em 18,7% e mais baixos que no dia zero em 25%, enquanto Rocha (2012) observou aumento significativo no volume de lágrimas no pós-operatório quando comparado ao pré-operatório em cães.

É possível inferir que os melhores resultados de Gupta (2012), Rocha (2012), e Sant'Anna et al. (2012) estão relacionados ao maior tamanho do transplante utilizado, pois segundo Gupta (2012), o tamanho do transplante e, conseqüentemente, do número de glândulas presentes, deve determinar a quantidade de secreção de “lágrimas salivares”, sendo que é possível aumentar a taxa de sucesso com o emprego de até dois transplantes, um em cada fórnice conjuntival. Para este autor, ainda é possível melhorar os resultados do transplante com a oclusão dos pontos lacrimais, permitindo o acúmulo das “lágrimas salivares“. Entretanto, Rocha (2012) não observou vantagens na associação das duas técnicas em cães.

Não foi observada diferença na impregnação pelo corante Lissamina verde no grupo CCS/TGSL ao longo do tempo, o que não alterou a quantidade de células desvitalizadas coradas. Este resultado, possivelmente, está relacionado à presença da saliva produzida pelo transplante, que proporcionou lubrificação da superfície ocular.

Com relação ao aspecto biomicroscópico da superfície da córnea, não foram observadas opacidade e vascularização nos olhos dos animais do grupo CCS/TGSL relacionadas com a progressão da doença, o que pode ser explicado pela ausência de evolução do quadro durante o período avaliado. Da mesma forma, o teste da impregnação pela fluoresceína não demonstrou ceratite ulcerativa, exceto na 2ª semana, em um animal do grupo CCS/TGSL.

Na avaliação morfológica do material oriundo do grupo CCS/TGSL, foi observada preservação parcial da arquitetura do transplante, em todos os animais, como descrito para o grupo hígado/TGSL (Etapa 1). Desta forma, acredita-se, que estas alterações, na estrutura do transplante, podem ser parte do processo de incorporação sendo, possivelmente, influenciadas pela revascularização. Já Sieg et al. (2000), observaram glândulas salivares normais, sem sinais de atrofia, um ano após transplante microvascular de glândula submandibular em humanos, caracterizando a importância da revascularização.

A presença de infiltrado inflamatório no grupo CCS/TGSL possivelmente seja consequência da degradação tecidual de parte do material transplantado, como descrito para os animais do grupo hígado/TGSL (Etapa 1). Para Güerrissi e Belmonte (2004), o infiltrado inflamatório, após transplante de glândula salivar labial em humanos, foi ocasionado pela doença de base que desencadeou o quadro de ceratoconjuntivite seca.

Na avaliação morfométrica foi observada diferença nos valores da quantificação do parênquima e da mensuração do diâmetro dos ácinos do material do grupo CCS/TGSL ( $140,36 \pm 52,97$  e  $106,73 \pm 37,26$ , respectivamente) em relação aos obtidos no grupo hígado/TGSL ( $177,76 \pm 63,70$  e  $115,08 \pm 28,89$ , respectivamente), e aos do estudo das glândulas in situ (GALVÃO et al., s.d.). Possivelmente, os menores valores no grupo CCS/TGSL tenham sido influenciados pelo quadro de ceratoconjuntivite seca no sítio receptor, embora Rocha (2012) afirme que a inflamação decorrente da CCS não interfere no transplante.

Outro fator que pode ter contribuído para os menores valores obtidos, na avaliação morfométrica, para o grupo CCS/TGSL, foi a lubrificação deficiente entre as pálpebras e a superfície ocular no grupo CCS/TGSL em função da deficiência da

camada aquosa, pois segundo Giuliano e Moore (2007) o fluido aquoso é crucial para manutenção da lubrificação evitando fricção. Desta forma, embora os animais tenham recebido lacrimomimético no pós-operatório, a fricção ainda existente entre as superfícies pode ter interferido na revascularização do transplante.

Na morfometria para quantificação do parênquima e estroma do material de biópsia dos animais do grupo CCS/TGSL, o cão 9 apresentou maior relação parênquima/estroma. A ocorrência de padrões variáveis de resposta, dentro do mesmo grupo, também foi observada na Etapa 1 deste estudo e foi descrita por Vasconcellos et al. (2008).

Na morfometria referente ao grupo CCS/TGSL, o cão 9 apresentou o menor diâmetro dos ácinos. É possível que nos outros animais do grupo a presença de regiões com unidades secretoras apresentando células cúbicas ou pavimentosas associadas a lúmen amplo pode ter contribuído para os maiores valores do diâmetro.

Na avaliação histoquímica, as reações foram positivas para todos os corantes empregados, demonstrando a viabilidade funcional do material transplantado nos olhos dos animais do grupo CCS/TGSL que, embora quantitativamente em níveis inferiores ao das glândulas in situ (GALVÃO et al., s.d.), qualitativamente apresentou resultados semelhantes (GALVÃO et al., s.d.), bem como ao dos transplantes no grupo hígado/TGSL (Etapa 1), sugerindo a manutenção do perfil histoquímico.

## **7. CONCLUSÕES**

O transplante de glândulas salivares labiais autógenas:

- com 1,2 cm de extensão pode ser coletado e acondicionado na conjuntiva da pálpebra superior sem apresentar complicações no sítio doador e receptor, respectivamente;
- não aumenta significativamente os valores da mensuração da produção de lágrima, e não interfere desfavoravelmente na estabilidade do filme lacrimal e na superfície da córnea de olhos hígados;
- apresenta resultados clínicos favoráveis em relação aos obtidos após indução em olhos com CCS experimental;
- apresenta secreção glandular em olhos com CCS experimental;
- lubrifica a superfície ocular tornando favorável o resultado da avaliação das células desvitalizadas, em olhos com CCS experimental;

- apresenta arquitetura histológica mais preservada quando acondicionado em olhos hígidos do que em olhos com CCS experimental; e
- apresenta manutenção do padrão histoquímico, em olhos hígidos e em olhos com CCS experimental.

## 8. REFERÊNCIAS

AGUILAR, A.J. Tears osmolarity in dry eye. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 71, n. 6, p. 69-71, 2008.

AKERS, R.M.; DENBOW, D.M. Digestive system. In: \_\_\_\_\_. **Anatomy and physiology of domestic animals**. Iowa: Blackwell, 2008. cap. 17, p. 435-473.

ALMEIDA, D.E.; ROVERATTI, C.; BRITO, F.L.C.; GODOY, G.S.; DUQUE, J.C.M.; BECHARA, G.H.; LAUS, J.L. Conjunctival effects of canine distemper vírus-induced keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v. 12, n. 4, p. 211-215, 2009.

ANGÉLICO, G.T.; RANZANI, J.J.T.; BRANDÃO, C.V.S.; SCHELLINI, S.A.; PADOVANI, C.R. Transplante de glândulas salivares menores no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 5, p. 1087-1092, 2011.

BARABINO, S.; CHEN, W.; DANA, M.R. Tear film and ocular surface tests in animal models of dry eye: uses and limitations. **Experimental Eye Research**, v. 79, p. 613-621, 2004.

BERDOULAY, A.; ENGLISH, R.V.; NADELSTEIN, B. Effect of topical 0,02% tacrolimus aqueous suspension on tear production in dogs with keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, n. 4, p. 225-232, 2005.

CABRAL, V.P.; LAUS, J.L.; DAGLI, M.L.Z.; PEREIRA, G.T.; TALIERI, I.C.; MONTEIRO, E.R.; MAMEDE, F.V. Canine lacrimal and third eyelid superficial glands' macroscopic and morphometric characteristics. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 391-397, 2005.

CHEN, W.L.; LIU, S.; LI, H.G.; WANG, Y.Y.; WANG, K. Transplantation of a reverse facial artery pedicled submandibular gland in a dog. **International Journal of Oral Maxillofacial Surgery**, v. 37, p. 1054-1058, 2008.

COASSIN, M.; LAMBIASE, A.; COSTA, N.; GREGÓRIO, A.; SGRULLETTA, R.; SACCHETTI, M.; ALOE, L.; BONINI, S. Efficacy of topical nerve growth factor treatment in dogs affected by dry eye. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 243, p. 151-155, 2005.

DAVIDSON, H.J.; KUONEN, V.J. The tear film and ocular mucins. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 2, p. 71-77, 2004.

GALVÃO, S.R.; DEL CARLO, R.J.; BORGES, A.P.B.; BENJAMIM, L.A.; FONSECA, C.C.; MARCON, L.; PEREIRA, C.E.R. Aspectos morfológicos, morfométricos e histoquímicos das glândulas salivares labiais de cães. **Ciência Rural**, s.d. - submetido.

GEERLING, G.; RAUS, P.; MURUBE, J. Minor salivary gland transplantation. **Developments in Ophthalmology**, v. 41, p. 243-254, 2008.

GELATT, K.N.; MACKAY, E.O.; WIDENHOUSE, C.; WIDENHOUSE, T.S.; STOPEK, J.B. Effect of lacrimal punctal occlusion on tear production and tear fluorescein dilution in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 1, p. 23-27, 2006.

GILGER, B.C.; ROSE, P.D.; DAVIDSON, M.G.; ROBERTS, S.M.; MILLER, T. Low-dose oral administration of interferon-alpha for the treatment of immune-mediated Keratoconjunctivitis sicca in dogs. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 19, p. 901-905, 1999.

GIULIANO, E.A.; MOORE, C.P. Diseases and surgery of the lacrimal secretory system. In: GELATT, K.N. **Veterinary ophthalmology**. 4.ed. Victoria: Blackwell, 2007. cap. 13, p. 633-661.

GRAHN, B.H.; STOREY, E.S. Lacrimostimulants and lacrimomimetics. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 739-753, 2004.

GÜERRISSI, J.O.; BELMONTE, J. Surgical treatment of dry eye syndrome: Conjunctival graft of the minor salivary gland. **Journal of Craniofacial Surgery**, v. 15, n. 1, p. 6-10, 2004.

GUPTA, V.P. Labial salivary glands transplantation for severe dry eye due to Stevens-Johnson Syndrome. In: ALL INDIA OPHTHALMOLOGICAL CONFERENCE (AIOC), 70., 2012, Cochin. **Proceedings...** Cochin: Free\_Papers, 2012. Disponível em: <[http://www.aioseducation.org/2012/Free\\_Papers/BOB1.pdf](http://www.aioseducation.org/2012/Free_Papers/BOB1.pdf)>. Acesso em: 8 jul. 2013.

HERRERA, H.D.; WEICHSLER, N.; GÓMEZ, J.R.; JALÓN, J.A.G. Severe, unilateral, unresponsive keratoconjunctivitis sicca in 16 juvenile Yorkshire terriers. **Veterinary Ophthalmology**, v. 10, n. 5, p. 285-288, 2007.

IWATA, S. Chemical composition of the aqueous phase. **International Ophthalmology Clinics**, v. 13, n. 1, p. 29-46, 1983.

KASWAN, R.L.; SALISBURY, M.A. A new perspective on canine keratoconjunctivitis sicca. Treatment with ophthalmic cyclosporine. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 583-613, 1990.

KERN, T.J.; ERB, H.N.; SCHAEGLER, J.M.; DOUGHERTY, E.P. Scanning electron microscopy of experimental keratoconjunctivitis sicca in dogs: cornea and bulbar conjunctiva. **Veterinary Pathology**, v. 25, p. 468-474, 1988.

KLAUSS, G.; CONSTANTINESCU, G.M. Nonhypotensive autonomic agents in veterinary ophthalmology. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 777-800, 2004.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; ASTER, J.C. Respostas celulares ao estresse e aos estímulos tóxicos: adaptação, lesão e morte. In: KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; ASTER, J.C. (Eds.). **Robbins e Cotran, bases patológicas das doenças**. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap. 1, p. 3-42.

LOFÊGO FILHO, J.A.; DADALTI, P.; SOUZA, D.C.; SOUZA, P.R.C.; SILVA, M.A.L.; TAKIYA, C.M. Enxertia de pele em oncologia cutânea. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 5, p. 465-472, 2006.

MAGGS, D.J. Basic diagnostic techniques. In: SLATTER, D. **Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology**. 4.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. cap. 5, p. 81-106.

MANTELLI, F.; ARGÜESO, P. Functions of ocular surface mucins in health and disease. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 8, n. 5, p. 477-483, 2008.

MELO, J.C.; MARIANO, C.M.A.; CARVALHO, E.C.Q.; MELO, O.C.C.; ANTUNES, F.; OLIVEIRA, A.L.A. Autoenxerto de conjuntiva com mucosa labial em Canis Familiares. **MEDVEP**, v. 7, n. 23, p. 494-500, 2009.

MILLER, P.E. Lacrimal system. In: SLATTER, D. **Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology**. 4.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. cap. 9, p. 157-174.

MOHAMMADPOUR, A.A. Anatomical and histological study of molar salivary gland in domestic cat. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 11, n. 2, p. 164-167, 2010.

MOORE, C.P.; COLLIER, L.L. Ocular surface disease associated with the loss of conjunctival goblet cells in dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 26, n. 5, p. 458-466, 1990.

MOORE, C.P.; McHUGH, J.B.; THORNE, J.G.; PHILLIPS, T.E. Effect of cyclosporine on conjunctival mucin in a canine keratoconjunctivitis sicca model. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 42, n. 3, p. 653-659, 2001.

MOORE, C.P.; WILSMAN, N.J.; NORDHEIM, E.V.; MAJORS, L.J.; COLLIER, L.L. Density and distribution of canine conjunctival goblet cells. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 28, n. 12, p. 1925-1932, 1987.

MOTA, J.C.N.; SILVA, A.L.; ANDRADE, Z.A.; BARBOSA JUNIOR, A.A. Aspectos morfológicos dos autotransplantes de tireóide da rata. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 26, n. 3, p. 135-139, 1999.

MOTA, J.C.N.; SILVA, A.L.; BARBOSA JUNIOR, A.A.; NASCIMENTO, M. Aspectos funcionais e imunológicos do transplante autólogo da tireóide em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, n. 6, p. 630-636, 2004.

MURUBE, J. Cirugía substitutiva del ojo seco y transplantes glandulares. In: \_\_\_\_\_. **Ojo seco**. Quito: Tecnimedia, 1997. cap. 40, p. 207-221.

NELL, B.; WALDE, I.; BILLICH, A.; VIT, P.; MEINGASSNER, J.G. The effect of topical pimecrolimus on keratoconjunctivitis sicca and chronic superficial keratitis in dogs: results from an exploratory study. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, n. 1, p. 39-46, 2005.

NUNES, S.I.; FERNANDES, C.B.F.; REZENDE, D.F.; BERNARDES, J.B.G.; SILVA, M.V.P. Verificação da viabilidade do transplante autógeno de testículo no omento e na parede abdominal em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 40, n. 1, p. 60-65, 2013.

OFRI, R.; LAMBROU, G. N.; ALLGOEWER, I.; GRAENITZ, U.; PENA, T.M.; SPIESS, B.M.; LATOUR, E. Clinical evaluation of pimecrolimus eye drops for treatment of canine keratoconjunctivitis sicca: A comparison with cyclosporine A. **Veterinary Journal**, v. 179, p. 70-77, 2009.

PEIXOTO, R.V.R. **Aplicação autóloga da fração de células mononucleares (FCM) da medula óssea sobre a glândula da terceira pálpebra em cães com ceratoconjuntivite seca, e sua repercussão sobre a superfície ocular**. 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2013.

PEREIRA, F.E.L. Degenerações. Morte celular. Alterações do interstício. In: BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo patologia geral**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 4, p. 44-82.

RAUS, P. Radiosurgery aids in salivary gland transplants for severe dry eye. **Ocular Surgery News**, v. 12, p. 16-18, 2003.

RIBEIRO, A.P.; BRITO, F.L.C.; MARTINS, B.C.; MAMEDE, F.; LAUS, J.L. Qualitative and quantitative tear film abnormalities in dogs. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 568-575, 2008.

ROCHA, G.L.S. **Transplante autólogo das glândulas salivares labiais, oclusão cirúrgica dos pontos lacrimais ou associação das duas técnicas no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães.** 2012. 65 f. Tese (Doutorado em Cirurgia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2012.

RORIG, M.C.L. **Uso de pimecrolimus 0,5% no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães.** 2009. 72 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2009.

ROSA, A.S.; PEREIRA, J.T.; BOTTEON, R.C.C.M. Obstrução do duto nasolacrimal com etil-cianocrilato como adjuvante no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 4, p. 353-360, 2012.

SANT'ANNA, A.E.B.P.P.; HAZARBASSANOV, R.M.; FREITAS, D.; GOMES, J.A.P. Minor salivary glands and labial mucous membrane graft in the treatment of severe symblepharon and dry eye in patients with Stevens-Johnson syndrome. **British Journal of Ophthalmology**, v. 96, p. 234-239, 2012.

SIEG, P.; GEERLING, G.; KOSMEHL, H.; LAUER, I.; WARNECKE, K.; DOMARUS, H.V. Microvascular submandibular gland transfer for severe cases of keratoconjunctivitis sicca. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 106, n. 3, p. 554-560, 2000.

SOARES, E.J.C.; FRANÇA, V.P. Transplante de glândulas salivares labiais no tratamento do olho seco grave. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 68, n. 4, p. 481-489, 2005.

STERN, M.E.; GAO, J.; SIEMASKO, K.F.; BEUERMAN, R.W.; PFLUGFELDER, S.C. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. **Experimental Eye Research**, v. 78, p. 409-416, 2004.

TERMOTE, S. Parotid salivary duct mucocele and sialolithiasis following parotid duct transposition. **Journal of Small Animal Practice**, v. 44, n. 1, p. 21-23, 2003.

VAN BIJSTERVELD, O.P. Diagnostic tests in the sicca syndrome. **Archives of Ophthalmology**, v. 82, p. 10-14, 1969.

VASCONCELLOS, L.S.; ALBERTI, L.R.; PETROIANU, A. Avaliação morfofuncional de transplante ovariano autógeno no retroperitônio. **Jornal Brasileiro de Transplantes**, v. 11, p. 954-958, 2008.

WESTERMEYER, H.D.; WARD, D.A.; ABRAMS, K. Breed predisposition to congenital alacrima in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2009.

WILLIAMS, D.L. Use of punctal occlusion in the treatment of canine keratoconjunctivitis sicca. **Journal of Small Animal Practice**, v. 43, n. 11, p. 478-481, 2002.

WILLIAMS, D.L. Immunopathogenesis of keratoconjunctivitis sicca in the dog. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 38, n. 2, p. 251-268, 2008.

## CONCLUSÕES GERAIS

Com base nos resultados obtidos no estudo das glândulas salivares labiais de cães *in situ* e após transplantação em olhos hígidos ou portadores de ceratoconjuntivite seca experimental, pode-se concluir que:

As glândulas salivares labiais são exócrinas, compostas, túbuloacinosas, mistas, predominantemente mucosas, com presença de semiluas serosas associadas a algumas unidades secretoras mucosas, apresentando sistema de ductos formado por ductos intralobulares intercalares e estriados, por ductos interlobulares e pelo ducto excretor principal. Apresentam menor quantidade de parênquima na região rostral e o diâmetro dos ácinos não se modifica nas três regiões (rostral, média e caudal). Estas glândulas secretam mucinas neutras, ácidas carboxiladas e ácidas sulfatadas, além de proteínas.

O transplante de glândulas salivares labiais autógenas com 1,2 cm de extensão pode ser coletado e acondicionado na conjuntiva da pálpebra superior sem apresentar complicações no sítio doador e receptor, respectivamente. Em olhos hígidos não aumenta significativamente os valores da mensuração da produção de lágrima, e não interfere desfavoravelmente na estabilidade do filme lacrimal e na superfície da córnea enquanto em olhos com CCS experimental apresenta resultados clínicos favoráveis em relação aos obtidos após indução da doença. Nos olhos com CCS experimental, apresenta secreção glandular que lubrifica a superfície ocular tornando favorável o resultado da avaliação das células desvitalizadas. Apresenta arquitetura histológica mais preservada quando acondicionado em olhos hígidos do que em olhos com CCS experimental, com manutenção do padrão histoquímico em ambos os olhos.