ADRIANA LIMA TEIXEIRA

**Estudo comparativo do estresse oxidativo após
facoemulsificação experimental com e sem implante
de lentes intra-oculares em cães**

São Paulo
2003

ADRIANA LIMA TEIXEIRA

**Estudo comparativo do estresse oxidativo após
facoemulsificação experimental com e sem implante
de lentes intra-oculares em cães**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Cirurgia da Faculdade
de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Cirurgia

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Sergio de Moraes Barros

São Paulo
2003

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1269 Teixeira, Adriana Lima
FMVZ Estudo comparativo do estresse oxidativo após
 facoemulsificação experimental com e sem implante de lentes
 intra-oculares em cães / Adriana Lima Teixeira. – São Paulo :
 A. L. Teixeira, 2003.
 134 f. : il.

 Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo.
 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento
 de Cirurgia, 2003.

 Programa de Pós-graduação: Cirurgia.
 Área de concentração: Cirurgia.

 Orientador: Prof. Dr. Paulo Sergio de Moraes Barros.

 1. Facoemulsificação. 2. Lentes intra-oculares. 3. Catarata
 animal. 4. Antioxidantes. 5. Inflamação. I. Título.

FICHA DE AVALIAÇÃO

Nome do Autor: TEIXEIRA, Adriana Lima

Título: Estudo comparativo do estresse oxidativo após facoemulsificação experimental
com e sem implante de lentes intra-oculares em cães

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Cirurgia da Faculdade
de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____.

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____
Julgamento. _____

Instituição: _____
Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Julgamento. _____

Instituição: _____
Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Julgamento. _____

Instituição: _____
Assinatura: _____

A meu pai, **Adriano**, por me estimular a ir atrás de cada sonho da minha vida, mesmo tendo que abdicar de minha companhia em tantos momentos; pela felicidade em dividir TODAS as conquistas comigo; e pela dedicação que nunca me deixou perder o rumo...

À minha mãe, **Ilka** (*in memoriam*), por todo amor que recebi, e por ter sido um exemplo de generosidade, dignidade e competência. Esforçar-me-ei sempre para carregar em mim o que de melhor existiu em você...

Vocês sempre disseram que a maior herança que os pais deixam para um filho é a educação e que, cultivando-a, eu seria feliz... e assim o fiz!!!

A vocês que me ajudaram a construir os alicerces da minha vida...

...dedico

A **Deus** pelo dom da vida e por iluminar o meu caminho...

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Paulo Sergio de Moraes Barros**, que iniciou os estudos de Oftalmologia Veterinária no Brasil, meus sinceros agradecimentos pelo incentivo, ensinamentos e compreensão... que a sua orientação se faça sempre presente!

À **Profa. Dra. Silvia Berlanga de Moraes Barros**, responsável pelo Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP, pela prontidão na realização das análises bioquímicas, pela valiosa orientação e pelo entusiasmo com que ensina.

A vocês que me guiaram até aqui...

...agradeço

*“Todos ouvem o que você diz
Os amigos escutam o que você fala
Os melhores amigos prestam atenção no que você não diz.”*

Às queridas amigas **Alessandra Martins Vargas, Ana Luiza Cherichetti, Renata Squarzoni Quinze (Tutu)** e **Vivianne Imagawa Matsuyama (Fon)** por seu apoio constante, pelas palavras SEMPRE sinceras e pela amizade que se fortalece a cada dia. Os amigos são a família que Deus nos permitiu escolher. E a amizade de vocês foi, sem dúvida, a maior das conquistas da minha jornada em São Paulo!!!

***A vocês que fazem parte da minha vida...
...ofereço***

AGRADECIMENTOS

Foram tantas as pessoas que contribuíram para este estudo que se torna impossível agradecer a todas nominalmente. Por isso, em primeiro lugar, gostaria de agradecer a **TODOS...** pelas palavras ou atitudes que, de alguma maneira, me permitiram melhorar pessoal e profissionalmente. Em segundo lugar, gostaria de agradecer aos cães **Philip, Cesar, Davi, Alcione, Elizabeth, Stephany, Leci, Iracema, Manuela, Frida, Brigitte, Lucíola, Charles, Nero, Laurence, Ranier e Adolph** por sua cooperação e alegria, mesmo durante o experimento. E agradecer ainda àquelas pessoas maravilhosas que aceitaram adotá-los, estando cientes de sua utilização em estudo experimental. A vocês, minha inestimável gratidão!!!

Finalmente, como não podia deixar de ser, gostaria de agradecer nominalmente às pessoas e entidades que contribuíram diretamente na execução desse trabalho.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** pelo suporte científico e financeiro, imprescindíveis à realização deste estudo.

Ao **Carlos Ferreira**, uma pessoa ímpar, pelo carinho, dedicação e paciência durante a realização deste estudo; e pela impressão destes exemplares.

À **Selma Exposto** pelo carinho e amizade, que só tendem a crescer.

Ao meu cão **Patrick** (*in memorian*), e às gatinhas **Yasmin** e **Isabelle**, minhas eternas companheiras, que me ensinam diariamente a pureza do amor incondicional.

Ao pós-graduando e amigo **Fernando Barros Nóbrega Maia** pela cumplicidade na realização do experimento, pelo carinho com os animais e pelo bom humor constante, que fez com que nossa tarefa parecesse menos árdua.

À médica veterinária **Carolina Girardi Francisco**, “nosso braço direito”, pela boa vontade, disponibilidade e dedicação com que nos auxiliou no cuidado com os animais.

Ao funcionário **Sr. José Domingues de Lima** pelo tratamento afetuoso e grande preocupação com o bem-estar dos animais, que iam muito além de suas obrigações.

Aos bolsistas do Depto. de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP, **Clarissa Zanoni Kera** e **Henrique Araújo Rodrigues Silva**, pela boa vontade e prontidão na execução das técnicas bioquímicas.

Ao **Prof. Dr. Fernando Ferreira** pelo entusiasmo com que me auxiliou na execução das análises estatísticas e pela confecção dos gráficos, mas, sobretudo, pela satisfação que tem em ensinar, o que despertou meu interesse em aprender estatística.

À **Profa. Dra. Silvia Regina Ricci Lucas**, à médica veterinária **Maria Luiza Franquini** e à toda a **equipe do Laboratório de Patologia Clínica** da FMVZ-USP, pela realização dos exames laboratoriais pré-operatórios.

Ao “velho” amigo e companheiro de pós-graduação **Alex Barbosa Carvalho** pelo apoio, incentivo e contribuições imprescindíveis ao presente estudo.

Ao amigo **Dr. Daniel Keizo de Medeiros Haraguchi** pelos ensinamentos em oftalmologia e colocações sempre relevantes; e por ter me conduzido ao Depto. de Oftalmologia da EPM, o que proporcionou um aprendizado profissional enorme.

Às pós-graduandas **Angélica Cecília Tatarunas** e **Sandra Mastrocinque** pela competência e carinho com que realizaram as esterilizações dos animais.

À **Angélica Vaz de Mendonça Safatle** pela amizade, respeito e troca de experiências que me permitiram um grande amadurecimento profissional.

Aos colegas de pós-graduação **Andréa Barbosa de Azevedo**, **Cintia Aparecida Lopes Godoy Esteves**, **Francisco Moreno Carmona**, **Juliana Freddo**, **Miriam Siliane Batista de Souza** e **Roseli Borges Teixeira**; e à estagiária **Luciana Sihle Cunha**, pelas nossas realizações em conjunto, pelos meses de convívio produtivo e por constituirmos muito mais do que uma “equipe oftalmológica”...

Ao pós-graduando e amigo **Pedro Mancini Guedes** por ter sempre uma palavra carinhosa a oferecer...

À **Christianni Ferrari Padovani** e ao pós-graduando **João Antônio Tadeu Piggato** pela amizade, cooperação e fornecimento de referências bibliográficas.

Ao querido amigo **Alexandre Merlo** por me conceder o privilégio de uma amizade tão sincera e pelo apoio incondicional nas horas difíceis.

Ao pós-graduando **Marcelo de Souza Zanutto** pela amizade e oportunidade de trabalhar com uma pessoa tão séria e dedicada à pesquisa, como ele.

Ao médico veterinário **Carlos João Juppa Jr.**, responsável pelo meu interesse em oftalmologia, pela orientação ética e competente durante os anos de estágio.

Aos **médicos do Depto. de Oftalmologia da EPM/UNIFESP** pela receptividade e por me possibilitarem vasto aprendizado por meio do acompanhamento da sua rotina ambulatorial e cirúrgica, especialmente ao **Dr. Augusto Paranhos Jr.** pelo exemplo de profissionalismo e pelos ensinamentos em metodologia científica.

A **TODOS** os professores dos Deptos. de Cirurgia e Clínica Médica da **FMVZ-USP**, aos médicos veterinários, residentes, estagiários e funcionários do **HOVET-USP** por terem me acolhido com tanta simpatia, carinho e respeito desde o início. Em especial, aos **residentes de 1998 a 2000** pela solidariedade e companheirismo.

Aos amigos **Alex Gradowski Adeodato, Alexandre Rêgo Souza Pinto, Ana Paula Rodrigues, Clarisse Freire Lopes, Claudia Oliveira André, Keli Cristina Domingues** e **Paulo Renato Lasmar Rei** por me provarem que as verdadeiras amizades continuam a crescer mesmo a longas distâncias.

Ao **Belarmino Ney Pereira**, secretário da pós-graduação em Cirurgia, pela paciência e auxílio com as questões “burocráticas” e “tecnológicas”.

À **Cláudia Lima** e **Dayse Flexa**, secretárias da Pós-graduação da FMVZ-USP, e à **Sandra Domenica Marceo**, pela boa vontade e eficiência em todos os momentos.

Às bibliotecárias **Maria Cláudia Pestana** e **Pedra Margarete S. G. Pires** pela simpatia e prontidão no auxílio com a formatação deste estudo.

À **Bayer Produtos Veterinários S/A, Merial Saúde Animal Ltda., Laboratórios Pfizer Ltda.** e **Nestlé Purina** pela doação de medicamentos, vacina e ração.

*“De tudo ficaram três coisas:
a certeza de que estamos sempre começando;
a certeza de que precisamos continuar;
a certeza de sermos interrompidos antes de terminar.*

*Portanto, devemos:
fazer da interrupção um caminho novo;
da queda, um passo de dança;
do medo, uma escada;
do sonho, uma ponte;
da procura, um encontro.”*

Fernando Pessoa

RESUMO

TEIXEIRA, A. L. **Estudo comparativo do estresse oxidativo após facoemulsificação experimental com e sem implante de lentes intra-oculares em cães.** [Comparative study of the oxidative stress following experimental phacoemulsification with and without intraocular lens implantation in dogs]. 2003. 134 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

O tratamento da catarata em cães têm passado por algumas mudanças. A facoemulsificação reduziu o tempo cirúrgico e a necessidade de incisão extensa; o implante de lentes intra-oculares (LIOs) permitiu restabelecer a emetropia após a remoção do cristalino. O processo inflamatório induzido pelas cirurgias intra-oculares leva a um estado de estresse oxidativo, com efeitos deletérios às estruturas oculares. O presente estudo teve como objetivo avaliar comparativamente o estresse oxidativo após facoemulsificação experimental em cães, com e sem implante de LIO.

Doze cães (três machos e nove fêmeas), sem raça definida, com peso médio de 15,8kg, foram submetidos à facoemulsificação bilateral, sendo doze olhos sem implante de LIO (Grupo 1) e doze olhos com implante de LIO de polimetilmetacrilato no saco capsular (Grupo 2). Os animais foram medicados nos períodos pré-operatório e pós-operatório com antiinflamatórios, antibióticos e midriáticos. As amostras de humor aquoso (HA) foram obtidas por paracentese de câmara anterior, sob anestesia geral, nos períodos pré-operatório (T0) e pós-operatório com 1 dia (T1), 2 dias (T2), 3 dias (T3), 7 dias (T7) e 14 dias (T14). O estresse oxidativo foi avaliado por meio da determinação quantitativa de proteínas no HA (método de Lowry), avaliação da atividade antioxidante total do HA utilizando o AAPH, cloreto de 2,2'azobis (2-

metilamidinopropano) e avaliação da concentração de ácido ascórbico no HA e no plasma (cromatografia líquida de alta eficiência). Os resultados foram submetidos à análise estatística, utilizando-se o teste *t* de Student, quando as variáveis apresentaram distribuição normal, e pelo teste de Wilcoxon, quando não houve distribuição normal.

Os níveis de proteína total no HA aumentaram nos dois grupos, sendo de forma mais acentuada no Grupo 2 em todos os tempos pós-operatórios: T1 ($p= 0,004$), T2 ($p= 0,002$), T3 ($p= 0,004$), T7 ($p= 0,003$) e T14 ($p= 0,009$). A atividade antioxidante total do HA apresentou uma diminuição nos dois grupos, mais acentuada, entretanto, no Grupo 2, com diferença estatisticamente significativa nos tempos T1 ($p= 0,013$), T2 ($p= 0,016$), T3 ($p= 0,002$) e T14 ($p= 0,033$). No tempo T7 ($p= 0,155$) essa diferença não foi observada. A concentração de ácido ascórbico no HA apresentou uma diminuição marcante no primeiro dia do pós-operatório, seguida por uma recuperação progressiva nos dois grupos. O Grupo 2 mostrou resultados mais baixos, com diferença estatisticamente significativa nos tempos T1 ($p= 0,003$), T3 ($p= 0,015$), T7 ($p= 0,004$) e T14 ($p= 0,007$), exceto em T2 ($p= 0,051$), quando não houve diferença. A concentração de ácido ascórbico no plasma não variou em função dos procedimentos.

A comparação entre os procedimentos sugere que o implante de LIO contribui para a condição de estresse oxidativo.

Palavras-chave: Facoemulsificação. Lentes intra-oculares. Catarata animal. Antioxidantes. Inflamação.

ABSTRACT

TEIXEIRA, A. L. **Comparative study of the oxidative stress following experimental phacoemulsification with and without intraocular lens implantation in dogs.** [Estudo comparativo do estresse oxidativo após facoemulsificação experimental com e sem implante de lentes intra-oculares em cães]. 2003. 134 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

The cataract treatment in dogs has undergone some changes. Phacoemulsification has reduced the surgical time of cataract extraction and the need of large incision. Intraocular lens (IOL) implantation has allowed emetropic vision recovery. The inflammatory process induced by intraocular surgery leads to an oxidative stress, with ocular structures damage. The purpose of this study was to comparatively evaluate the oxidative stress following phacoemulsification in dogs with and without IOL implantation. Twelve dogs, three male and nine female, mixed breed, with an average weight of 15.8kg were submitted to bilateral phacoemulsification, being twelve eyes without IOL implantation (Group 1) and twelve eyes with polymethylmethacrylate IOL in the capsular bag (Group 2). In the pre-operative and post-operative periods, the medication consisted of anti-inflammatories, antibiotics and mydriatics. Aqueous humor (AH) samples were taken by anterior chamber paracentesis, under general anesthesia in the pre-operative (T0) and post-operative periods after 1 (T1), 2 (T2), 3 (T3), 7 (T7) and 14 (T14) days of the surgery. The oxidative stress was evaluated by quantitative protein levels in the AH (Lowry's method), total antioxidant activity in the AH using 2,2' azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride (AAPH) and ascorbic acid concentration in the AH and plasma (high performance liquid chromatography). Results were submitted

to statistical analysis using the *t*-student test when the variables had a normal distribution and Wilcoxon test when they did not.

Aqueous humor total protein levels increased in both groups, more intensively in Group 2 in all post-operative periods: T1 ($p= 0.004$), T2 ($p= 0.002$), T3 ($p= 0.004$), T7 ($p= 0.003$) and T14 ($p= 0.009$). Total antioxidant activity in the AH decreased in both groups; however, it was more impressive in Group 2, with statistical significant difference in T1 ($p= 0.013$), T2 ($p= 0.016$), T3 ($p= 0.002$) e T14 ($p= 0.033$). In T7 ($p= 0.155$), this difference was not observed. Ascorbic acid concentration in the AH presented a remarkably decrease in the first post-operative day, then started to recover progressively in the two groups. Group 2 showed lower results with statistically significant differences in T1 ($p= 0.003$); T3 ($p= 0.015$); T7 ($p= 0.004$) and T14 ($p= 0.007$), except in T2 ($p= 0.051$) when there was no difference. Ascorbic acid concentration in plasma did not vary as a result of the procedures.

The comparison between procedures suggests that IOL implantation contributes to an oxidative stress condition.

Key words: Facoeulsification. Intraocular lens. Animal cataract. Antioxidants. Inflammation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Diagrama de blocos representando a distribuição da concentração de proteínas totais no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em g de proteína/L de humor aquoso) 83
- Figura 2 -** Diagrama de blocos representando a capacidade antioxidante total no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em minutos-tempo de indução)86
- Figura 3 -** Diagrama de blocos representando a distribuição da concentração de ácido ascórbico no humor aquoso e no plasma de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos μmol de ácido ascórbico/L de humor aquoso ou plasma) 90

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 -** Nível descritivo do teste, mediana e valores de 1^o e 3^o quartis para distribuição dos dados da concentração de proteínas totais no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em g de proteína/L de humor aquoso)82
- Tabela 2 -** Nível descritivo do teste, mediana e valores de 1^o e 3^o quartis para distribuição dos dados da capacidade antioxidante total no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em minutos-tempo de indução)85
- Tabela 3 -** Nível descritivo do teste, mediana e valores de 1^o e 3^o quartis para distribuição dos dados da concentração de ácido ascórbico no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em μmol de ácido ascórbico/L de humor aquoso)88
- Tabela 4 -** Mediana e valores de 1^o e 3^o quartis para distribuição dos dados da concentração de ácido ascórbico no plasma de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular (resultados expressos em μmol de ácido ascórbico/L de plasma)89

LISTA DE APÊNDICES

- APÊNDICE A** - Aleatoriedade dos procedimentos cirúrgicos a partir da escolha da sequência cirúrgica entre os olhos e do olho em que a lente intra-ocular foi implantada127
- APÊNDICE B** - Resultados individuais da concentração de proteínas no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, caracterizando os grupos de olhos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em g de proteína/L de humor aquoso)128
- APÊNDICE C** - Resultados individuais da capacidade antioxidante total no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, caracterizando os grupos de olhos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em minutos-tempo de indução)129
- APÊNDICE D** - Resultados individuais da concentração de ácido ascórbico no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, caracterizando os grupos de olhos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em μmol de ácido ascórbico/L de humor aquoso)130
- APÊNDICE E** - Resultados individuais da concentração de ácido ascórbico no plasma de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular (resultados expressos em μmol de ácido ascórbico/L de plasma)131
- APÊNDICE F** - Tempo cirúrgico utilizado para realização da facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular em cães, a contar do momento da incisão até a sutura corneana (resultados expressos em minutos)132
- APÊNDICE G** - Tempo de ultra-som utilizado para realização da facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular em cães (resultados expressos em segundos)133
- APÊNDICE H** - Animais utilizados no experimento134

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

D – dioptrias

EROs – espécies reativas de oxigênio

GPx – glutathione peroxidase

GR – glutathione reductase

GSH – glutathione reduzida

GSSG – glutathione oxidada

HA – humor aquoso

HPLC – cromatografia líquida de alta eficiência

IA – irrigação e aspiração

Khz - kilohertz ou mil pulsos por segundo

LIO – lente intra-ocular

PIO – pressão intra-ocular

PMMA – polimetilmetacrilato

PVPI – polivinilpirrolidona Iodo

SOD – superóxido dismutase

O₂ – oxigênio

•NO – óxido nítrico

¹O₂ – oxigênio singlete

•O₂⁻ – radical ânion superóxido

H₂O₂ – peróxido de hidrogênio

•OH – radical hidroxila

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1 ASPECTOS MORFO-FUNCIONAIS DO CRISTALINO	23
2.2 CATARATA	25
2.3 HISTÓRIA DA CIRURGIA DE CATARATA	30
2.4 FACOEMULSIFICAÇÃO	37
2.5 IMPLANTE DE LENTE INTRA-OCULAR	47
2.6 OS RADICAIS LIVRES	51
2.7 SISTEMAS DE DEFESA ANTIOXIDANTE	53
2.8 ESTRESSE OXIDATIVO X CATARATA	58
2.9 HUMOR AQUOSO E O ASCORBATO COMO ANTIOXIDANTE	61
2.10 INFLAMAÇÃO OCULAR E ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO	65
3 MATERIAL E MÉTODO	67
3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	67
3.2 AMOSTRA	69
3.3 PROCEDIMENTOS PRÉ-OPERATÓRIOS	69
3.4 PROTOCOLO ANESTESIOLÓGICO	70
3.5 TÉCNICA CIRÚRGICA	71
3.6 PROCEDIMENTOS PÓS-OPERATÓRIOS	74

3.7 COLHEITA DE AMOSTRAS DE HUMOR AQUOSO E SANGUE	75
3.8 PARÂMETROS INDICADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO	76
3.8.1 Determinação de proteínas totais no HA	76
3.8.2 Avaliação da atividade antioxidante total do HA	76
3.8.3 Avaliação da concentração de ácido ascórbico no HA e no plasma	77
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	78
4 RESULTADOS	79
4.1 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS NO HA	81
4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DO HA	84
4.3 CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO NO HA E NO PLASMA.....	87
5 DISCUSSÃO	91
6 CONCLUSÕES	113
REFERÊNCIAS	114
APÊNDICE	127

1 INTRODUÇÃO

As cirurgias intra-oculares induzem um processo inflamatório, com produção de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs) capazes de interagir com macromoléculas, causando lesão tecidual em estruturas oculares. Os tecidos utilizam suas reservas de antioxidantes para combater os efeitos deletérios das EROs, minimizando os danos teciduais. Assim, a medida de antioxidantes possibilita a avaliação do estresse oxidativo, de maneira indireta. Os principais compostos antioxidantes presentes no humor aquoso (HA) e cristalino incluem enzimas (superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase) e compostos hidrossolúveis e lipossolúveis (ácido ascórbico, alfa-tocoferol, carotenóides e glutathione). Segundo Sies (1986), quando os níveis de pró-oxidantes predominam em relação aos antioxidantes, instala-se o denominado estresse oxidativo.

A catarata apresenta etiopatogenia complexa e constitui uma das causas mais frequentes de perda visual em cães. A cirurgia de catarata, associada ou não ao implante de lente intra-ocular (LIO), é capaz de promover a reabilitação visual na maioria dos casos. Com o intuito de obter resultados cada vez mais satisfatórios, a técnica cirúrgica vem sofrendo grandes inovações, tais como o emprego da facoemulsificação como técnica de escolha e a indicação para o implante de LIOs. O objetivo do implante é restabelecer a emetropia após a remoção do cristalino, evitando uma redução drástica da visão. Entretanto, sua utilização ainda é motivo de controvérsias, fazendo-se necessários estudos adicionais para estabelecer com precisão a sua necessidade funcional em cães.

A facoemulsificação, a despeito de todas as suas vantagens em relação às demais técnicas de extração do cristalino, também contribui para a condição de estresse oxidativo. Além da indução de um processo inflamatório pelo procedimento cirúrgico em si, Holst et al. (1993) observaram uma correlação entre o poder de ultrassom do facoemulsificador e a quantidade de radicais livres formados.

Este trabalho teve como objetivo estudar comparativamente o estresse oxidativo gerado na facoemulsificação experimental em cães, com e sem implante de lente intraocular, pela avaliação de parâmetros bioquímicos (determinação de proteínas totais no HA, atividade antioxidante total do HA e níveis de ácido ascórbico no HA e no plasma).

2 REVISÃO DE LITERATURA

Em virtude da vasta literatura relacionada a este estudo, a revisão de literatura foi subdividida em capítulos.

2.1 ASPECTOS MORFO-FUNCIONAIS DO CRISTALINO

O cristalino é uma estrutura biconvexa, transparente, avascular, com formato elíptico, localizado na porção anterior do bulbo ocular, entre a íris e o vítreo, sendo mantido em posição pelas fibras zonulares que o prendem ao corpo ciliar e, também, pelo seu contato com o vítreo, posteriormente, na região denominada fossa patelar (HELPER, 1989). Alterações na tensão das fibras zonulares causam modificações na curvatura do cristalino e conseqüentemente no seu poder dióptrico, caracterizando o fenômeno de acomodação visual para focalização de objetos próximos. A contração da musculatura ciliar promove um relaxamento das fibras zonulares, conferindo ao cristalino um formato mais arredondado graças à elasticidade natural de sua cápsula. Esse mecanismo é limitado nos cães em função da musculatura ciliar pouco desenvolvida (SLATTER, 1990).

O cristalino do cão apresenta um volume aproximado de 0,5 ml, uma espessura no eixo ântero-posterior de 7 mm e um diâmetro equatorial que pode variar de 9 a 11,5

mm (PRINCE¹ et al., 1960 apud HELPER, 1989). A relação entre o cristalino e o bulbo ocular nos cães varia em torno de 1:8 a 1:10 (SAMUELSON, 1999, p. 99).

A função básica do cristalino é convergir os estímulos luminosos para a retina, contribuindo para a formação de uma imagem nítida. De aproximadamente 60 dioptrias correspondentes ao poder refracional total do sistema óptico dos cães, o cristalino contribui com aproximadamente 40 dioptrias (SAMUELSON, 1999, p. 98).

Por ser uma estrutura avascular, sua nutrição e oxigenação são realizadas pelo HA. A principal fonte de energia é obtida pelo metabolismo da glicose, em sua grande parte, por via anaeróbica. Essa energia é essencial para a síntese protéica, manutenção de sua hidratação normal e transporte ativo de íons e aminoácidos. O cristalino é composto por aproximadamente 65% de água, 35% de proteína e uma pequena fração de minerais, carboidratos e lipídeos (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

A vitalidade das células do cristalino, o arranjo altamente ordenado de suas fibras e uma série de processos bioquímicos refinados são condições imprescindíveis para a manutenção de sua transparência (DAVIDSON; NELMS, 1999, p. 797).

O cristalino é constituído por cápsula, epitélio anterior e fibras lenticulares. A sua cápsula corresponde a uma membrana basal elástica que o envolve e regula sua forma, sendo formada por fibras colágenas do tipo IV e carboidratos complexos. Ela permite a passagem de água e eletrólitos e é impermeável a grandes moléculas (albumina e globulina). A cápsula apresenta uma espessura de 8 a 12 µm na região equatorial, 50 a 70 µm na porção anterior, e apenas 2 a 4 µm na porção posterior. O

¹ PRINCE, J. H.; DIESEM, C. D.; EGLITIS, I.; RUSKELL, G. L. **Anatomy and fisiology of the eye and orbit in domestic animals**. Springfield: Charles C. Thomas, 1960. p. 82.

epitélio do cristalino é representado por uma única camada de células epiteliais que se estende por baixo da cápsula anterior do cristalino e é responsável pela formação das fibras lenticulares. Estas são produzidas continuamente durante toda a vida, compondo o córtex do cristalino (região mais periférica) e o seu núcleo (SAMUELSON, 1999, p. 99-107).

As fibras lenticulares se dispõem concentricamente, deixando o núcleo progressivamente mais denso, fato que caracteriza um fenômeno denominado esclerose nuclear, que pode ser identificado clinicamente em cães a partir de 6 anos de idade. Com a idade, também ocorre uma diminuição na elasticidade da cápsula do cristalino, levando a uma diminuição na sua capacidade de acomodação (SAMUELSON, 1998, p. 99-107).

2.2 CATARATA

Catarata é definida como qualquer opacidade do cristalino ou de sua cápsula, unilateral ou bilateral, podendo apresentar vários estágios de desenvolvimento. Nos estágios iniciais e intermediários, quando aparecem opacidades localizadas, em geral a visão está preservada. Nos estágios avançados, a visão encontra-se prejudicada, e se os dois olhos forem afetados, o animal apresenta perda funcional da visão (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

A catarata é uma das causas mais freqüentes de perda de visão em cães, juntamente com algumas doenças corneanas, glaucoma e degeneração retiniana. Seu

tratamento é estritamente cirúrgico. A cirurgia de catarata, associada ou não ao implante de LIO, embora constitua procedimento de tecnologia sofisticada, é bastante eficaz, propiciando a reabilitação visual na maioria dos casos (DAVIDSON; NELMS, 1999; GELATT, GELATT, 2001, p. 286).

Os mecanismos envolvidos na formação de qualquer tipo de catarata incluem alguma forma de estresse osmótico, agregação das proteínas lenticulares, disfunções no metabolismo energético, disfunções no metabolismo nutricional, mudanças na concentração de oxigênio, exposição a toxinas, radiação, exposição à luz ultravioleta A e B, e estresse oxidativo decorrente de efeitos adversos de reações de oxidação ou redução (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; SAMUELSON, 1998, p. 102).

As cataratas corticais geralmente se manifestam por desequilíbrio eletrolítico e osmótico, enquanto as cataratas nucleares estão mais comumente associadas a modificações protéicas e insolubilização (DAVIDSON; NELMS, 1999, p. 802).

Durante a formação da catarata, ocorre o acúmulo de produtos oriundos do metabolismo retardado ou alterado das células lenticulares, levando à acidificação. As fibras se desidratam, ocorre acúmulo de líquido e, em seguida, a coagulação protéica intracelular, formando as opacidades lenticulares permanentes (SLATTER, 1990). As cataratas estão quase sempre associadas a uma diminuição na atividade da bomba de Na^+/K^+ -adenosina trifosfato (ATPase) das células epiteliais do cristalino, podendo levar a um aumento dos níveis de sódio e cálcio, e a uma diminuição dos níveis de potássio. O consumo de oxigênio e a produção de adenosina trifosfato diminuem. A atividade de agentes antioxidantes, incluindo glutathione reduzida e oxidada, ácido ascórbico, alfa-tocoferol e superóxido dismutase também diminuem (DAVIDSON; NELMS, 1999, p. 802).

A classificação do tipo de catarata e o conhecimento das suas características é fundamental para a instituição de um tratamento adequado. As cataratas podem ser classificadas segundo a etiologia (hereditária ou adquirida), a idade de aparecimento (congenita, juvenil ou senil), a localização anatômica (capsular, subcapsular, zonular, cortical, nuclear, polar, axial ou equatorial), o formato (radiada, cuneiforme, em fissura, em roseta, *punctata*, pulverulenta) ou, mais comumente, segundo o estágio de desenvolvimento (incipiente, imatura, madura ou hipermadura). É apropriado associar várias formas de classificação para descrever com precisão o tipo específico de catarata (DAVIDSON; NELMS, 1999, p. 804; SLATTER, 1990).

A catarata mais comum em cães de raça pura é decorrente de alterações hereditárias no metabolismo das proteínas lenticulares, sendo tipicamente bilaterais, embora não necessariamente simétricas em sua progressão (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

As cataratas senis afetam mais freqüentemente o núcleo do cristalino, podendo ocorrer em qualquer raça. É importante diferenciá-las da esclerose nuclear, o que pode facilmente ser realizado através da oftalmoscopia, uma vez que a esclerose nuclear não interfere com a visibilidade das estruturas do pólo posterior (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

A catarata de etiologia adquirida pode ocorrer secundariamente a trauma, outras oftalmopatias, agentes tóxicos, uso de medicamentos, radiação, doenças inflamatórias, doenças nutricionais e doenças metabólicas, como, por exemplo, *diabetes mellitus*. Em cães diabéticos, ocorre um aumento de glicose no HA e, conseqüentemente, um maior afluxo para o interior do cristalino por difusão. Quando o nível de glicose excede a capacidade da via glicolítica, o seu excesso é convertido em sorbitol, que não se

difunde para fora do cristalino e se acumula, criando um gradiente osmótico que atrai água e favorece a ruptura e a desorganização das fibras lenticulares. Por esse motivo, os cães diabéticos geralmente desenvolvem catarata bilateral simétrica e progressiva (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997). Os pacientes diabéticos com bom controle glicêmico podem obter resultados cirúrgicos satisfatórios, desde que não tenham sofrido anteriormente complicações clínicas ou oftalmológicas (BAGLEY; LAVACH, 1994).

Por convenção, o grau de opacidade de uma catarata está diretamente relacionado à porcentagem do reflexo tapetal que ela bloqueia. A catarata incipiente representa o estágio inicial, com opacidade focal, que ocupa menos de 10 a 15% da área do cristalino, sem comprometimento do reflexo tapetal. Ela freqüentemente afeta a região cortical, subcapsular ou capsular e, dependendo da causa, poderá ou não progredir. A catarata imatura constitui o estágio intermediário, que apresenta opacidade um pouco mais pronunciada, com comprometimento parcial do reflexo tapetal. A catarata madura apresenta opacidade total, com bloqueio completo do reflexo tapetal. A catarata hipermadura constitui o último estágio evolutivo, com comprometimento das cápsulas anterior e posterior, do córtex e do núcleo; apresenta aspecto cintilante, e o reflexo tapetal vai variar em função do grau de reabsorção.

As fibras lenticulares rompidas e degeneradas podem liberar enzimas que irão causar uma proteólise de áreas do cristalino, caracterizando o fenômeno de reabsorção do cristalino, mais comum na região cortical. Proteínas lenticulares lisadas e água podem atravessar a cápsula íntegra, causando uma redução no volume do cristalino, associado a um enrugamento da sua cápsula anterior e a um aumento da profundidade da câmara anterior. Durante o processo de reabsorção do cristalino, pode se instalar

um quadro de uveíte facogênica, cujos sinais mais característicos são congestão episcleral, miose, *flare* e hipotonia. Apesar da fisiopatogenia da uveíte facogênica não estar completamente elucidada, ela está relacionada a uma exposição súbita da imunidade ocular a grandes quantidades de material cristalino cortical e nuclear, que desencadeia reações celular e humoral imuno-mediadas. Durante muitos anos, o cristalino foi considerado um sítio de privilégio imunológico, pois acreditava-se que as proteínas lenticulares não eram reconhecidas pelo sistema imune. Atualmente, reconhece-se no homem baixos níveis de anticorpos circulantes contra essas proteínas. Apesar desses anticorpos estarem presentes em maior quantidade em pacientes com catarata, eles também podem ser detectados em indivíduos sem catarata. Acredita-se que o mesmo ocorra em animais, especialmente no cão, que apresenta uma resposta imuno-ocular intensa (WILLIAMS; BOYDELL; LONG, 1996). Em casos excepcionais, o processo de reabsorção do cristalino pode permitir o retorno da visão. Entretanto, a reabsorção também pode estar associada a aumento na incidência de descolamento de retina por alterações na composição do vítreo (DAVIDSON; NELMS, 1999; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; SLATTER, 1990).

A catarata pode progredir de forma lenta, rápida, ou manter-se estacionada em determinado estágio evolutivo. Geralmente, observa-se uma progressão mais rápida em animais jovens. Não há tratamento que evite a progressão da catarata ou que previna sua formação. O restabelecimento da visão pode ocorrer em função do processo de reabsorção espontânea e não em decorrência do uso de qualquer medicação (HELPER, 1989, p. 221). Por outro lado, estudos recentes têm sugerido uma possível associação entre a prevenção ou desenvolvimento da catarata e a

concentração de ácido ascórbico no HA (BARROS et al., 2002; BENDICH; LANGSETH, 1995; DEVAMANOCHARAN et al., 1991; GORALSKA et al., 1998;).

Outros termos têm sido utilizados para descrever cataratas com características específicas. A catarata morganiana é uma forma hipermadura associada à liquefação da região cortical, o que permite a precipitação do núcleo dentro do saco capsular. Na catarata intumescente, o cristalino sofre uma expansão do córtex devido ao acúmulo de líquido em seu interior, e pode comprometer a dinâmica de drenagem do HA por bloqueio pupilar, aumentando a pressão intra-ocular (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; REZENDE, 2002).

2.3 HISTÓRIA DA CIRURGIA DE CATARATA

Na Grécia antiga, acreditava-se que o bulbo ocular fosse preenchido por um único humor indiferenciado. Aristóteles considerava o cristalino um achado *post-mortem* (DUKE-ELDER², 1961 apud REZENDE FILHO; REZENDE, 2002). A escola árabe, porém, reconhecia a presença de uma lente com função sensorial no centro do olho e, portanto, responsável pela visão. Essa idéia foi mantida por Leonardo da Vinci até o século XVI (ALBERT³, 1996 apud REZENDE FILHO; REZENDE, 2002). A correta

² DUKE-ELDER, S. Historical development. In: DUKE-ELDER, S. System of Ophthalmology, v. 2, p. 1-53, 1961.

³ ALBERT, D. M. Discovering the anatomy of the eye. In: ALBERT, D. M., EDWARDS, D. D. **History of ophthalmology**, London: Blackwell Science, 1996. p. 47-63.

localização do cristalino só foi identificada por Hieronymus Fabricius ab Aquapendente em 1600, após minuciosa dissecação de olhos humanos e de animais (DUKE-ELDER², 1961 apud REZENDE FILHO; REZENDE, 2002).

A primeira menção sobre catarata foi feita por Hipócrates que a descreveu como uma doença de pacientes idosos, causadora de distúrbios visuais, *glaukosees* (coloração azulada da pupila) e perda de audição (HIRSCHBERG⁴, 1982 apud REZENDE FILHO; REZENDE, 2002).

A primeira descrição cirúrgica da catarata, de autoria do médico romano Aulus Cornelius Celsus, foi encontrada no século I, e referia-se à técnica de *couching*, que consistia em introduzir uma agulha pelo limbo corneoescleral e empurrar a catarata em direção à margem inferior da pupila, luxando-a em direção ao vítreo.

Até o século XVII, acreditava-se que o cristalino era o centro da visão e que a catarata era uma membrana posicionada à sua frente, bloqueando a captação da luz. Em 1610, o astrônomo e matemático alemão Johannes Kepler identificou a retina como o órgão de percepção visual e o cristalino apenas como uma lente difratora. Em 1705, o médico francês Pierre Brisseau classificou corretamente a catarata como a opacificação do próprio cristalino.

Em 1752, o cirurgião francês Jacques Daviel afirmou que a catarata poderia ser extraída do bulbo ocular, apresentando sua técnica intracapsular, realizada por meio de uma incisão corneana inferior medindo mais de 180° e pela remoção de todo o cristalino, incluindo suas cápsulas.

⁴ HIRSCHBERG, J. **The history of ophthalmology**. Antiquity. Trans. Blodi FC. Bonn: J. P.Wayenborgh, 1982. v. 1.

Durante anos, as técnicas de extração intracapsular e *couching* dividiram as opiniões dos médicos. No início do século XIX, surgiu a técnica denominada *keratonyxis*, que consistia em incisar córnea e cápsula anterior, fragmentar a catarata em pedaços e deixar que o próprio organismo os absorvesse. Entretanto, essa técnica não teve grande expressão no meio médico.

A vitória da extração intracapsular sobre a técnica de *couching* se deu com a passagem da incisão para a região superior da córnea, o que diminuiu o índice de infecção, e com o advento da anestesia, que possibilitou o aprimoramento da técnica cirúrgica.

Em 1864, a técnica extracapsular, que consistia na remoção da cápsula anterior do cristalino, córtex e núcleo, foi descrita por Albrecht von Graefe, mas não foi amplamente utilizada por causa da possibilidade de opacificação da cápsula posterior, que permanecia intacta. As opacidades em cápsula posterior eram freqüentes e interpretadas como recorrência da catarata. Assim, a técnica intracapsular realizada por meio de força mecânica de pressão-contrapressão tornou-se padrão internacional até o século XX. A sutura corneana contribuiu para a recuperação mais precoce e menor índice de complicações pós-operatórias, tendo sido descrita pela primeira vez por H. W. Williams em 1865. Nesse procedimento, eram utilizadas agulha de costura e seda de luva feminina (BLODI⁵, 1996 apud REZENDE FILHO; REZENDE, 2002; SLATTER, 1990).

Os primeiros relatos de extração de catarata em cães devem ser atribuídos a Möller, em 1886, e posteriormente a Berlin, em 1887, e referem-se às técnicas de

⁵ BLODI, F. C. Cataract surgery. In: ALBERT, D. M., EDWARDS, D. D. **History of ophthalmology**. London: Blackwell Science, 1996. p. 165-175.

couching e discisão. Esta última consistia na abertura da cápsula anterior e na aspiração do conteúdo cristalino com auxílio de uma agulha ou cânula de irrigação/aspiração (dupla via), cuja execução só era viável nas cataratas de conteúdo líquido. A primeira extração intracapsular em cães foi realizada em 1936, por Bartholomew. Posteriormente, Überreiter descreveu a técnica intracapsular para remoção de lentes luxadas com boa taxa de sucesso (GELATT; GELATT, 2001).

Em razão da imprevisibilidade dos resultados, a cirurgia de catarata teve seu valor contestado por vários investigadores, como por exemplo, por Fröhner e Silbersiepe (1948), Love (1940) e Markowitz (1954). Contudo, a partir de 1954, sua indicação foi encorajada por Magrane (1961, 1969) como um bom método terapêutico para a recuperação da visão em cães acometidos de catarata, através da técnica de extração extracapsular (GELATT; GELATT, 2001). Com a melhora do conhecimento sobre anatomia e fisiologia do olho do cão, estabeleceram-se normas para a cirurgia nessa espécie, o que contribuiu para aumentar a taxa de sucesso (BARROS, 1990).

Na década de 50, com o início da utilização dos microscópios cirúrgicos, houve um avanço enorme na identificação das estruturas intra-oculares. O surgimento de dois outros recursos facilitou a extração intracapsular no homem: a utilização de α -quimiotripsina para lise zonular, em 1958, e a crioextração, em 1961 (BLODI⁵, 1996 apud REZENDE FILHO; REZENDE, 2002).

Na década de 60, enquanto a técnica intracapsular com utilização de α -quimiotripsina era preconizada para o homem, com ampla taxa de sucesso, havia um grande debate no meio veterinário para se decidir entre as técnicas extracapsular e

intracapsular. Gradativamente, ficou evidente que o sucesso da técnica de extração extracapsular em cães era superior porque, quando se usava a técnica de extração intracapsular, notava-se uma grande aderência entre o vítreo e a cápsula posterior do cristalino, que propiciava perda vítrea, e maior possibilidade de descolamento de retina. Além disso, a α -quimiotripsina, largamente utilizada no homem, não causava zonulólise em poucos minutos no cão (BARRIE; GELATT; GUM, 1982). No final da década de 60, surgiram ainda vários relatos da crioextração intracapsular para a catarata do cão (GELATT; GELATT, 2001). Durante muitos anos, a extração extracapsular do cristalino foi considerada a técnica de eleição na espécie canina, sendo, ainda hoje, muito utilizada. Os seus resultados, quando realizada por cirurgião experiente, com instrumental adequado e em pacientes corretamente selecionados, devem atingir uma taxa de 80 a 90% de sucesso (DZIEZYC, 1990).

A introdução da facoemulsificação por Charles Kelman, em 1967, trouxe uma mudança revolucionária na maneira de se tratar cirurgicamente a catarata. A idéia de se remover a catarata por uma pequena incisão corneana de 3,5 mm, utilizando menos sutura e com uma recuperação mais precoce, modificou todos os conceitos vigentes (KELMAN, 1969). Entretanto, o custo elevado e a dificuldade de aprendizado da facoemulsificação impediu sua generalização, abrindo caminho para a técnica de extração extracapsular que veio substituir definitivamente a técnica intracapsular no homem. A facoemulsificação contribuiu indiretamente para o desenvolvimento da técnica extracapsular, que era utilizada quando havia dificuldade na realização da facoemulsificação e necessitava-se converter a cirurgia para aspiração cuidadosa das massas cristalínias. Aos poucos, a extração extracapsular planejada passou a ser

considerada uma técnica própria, por ser prática e eficaz, sem a necessidade de grandes investimentos em equipamentos e instrumental, e com poucas mudanças a partir das etapas da técnica intracapsular. Além disso, a evolução das LIOs e o aprimoramento da técnica extracapsular proporcionavam um resultado visual incomparavelmente melhor do que a correção com óculos e lentes de contato para afacia que eram empregados na técnica intracapsular. O contato das LIOs com a cápsula posterior minimizou a ocorrência de opacidades pós-operatórias (REZENDE FILHO; REZENDE, 2002).

A primeira LIO foi implantada no homem em 1949 pelo oftalmologista inglês Harold Ridley, sendo constituída de um material semelhante ao polimetilmetacrilato (REZENDE FILHO; REZENDE, 2002). Em 1956, o Dr. Hugh Simpson, da Universidade de Iowa, implantou a primeira LIO em cães. Mas somente quase 30 anos depois, em 1984, o Dr. Lew Campbell relatou uma série de casos clínicos de cães que foram submetidos ao implante de LIOs de polimetilmetacrilato com três peças e +13D. Dessa época em diante, várias LIOs têm sido implantadas após a cirurgia de catarata com sucesso, permitindo a restauração da emetropia e a melhora da qualidade de vida do animal (DAVIDSON, 2001). O seu formato e o material de constituição passaram, e continuam passando, por várias modificações, visando à obtenção de melhores resultados. Outro fator que contribuiu para o fortalecimento das técnicas extracapsulares (convencional e facoemulsificação) sobre a técnica intracapsular foi o desenvolvimento do Nd:YAG Laser para remoção das opacidades de cápsula posterior por meio da capsulotomia no período pós-operatório (DZIEZYC, 1990; PADILHA, 2000).

O surgimento das substâncias viscoelásticas trouxe maior segurança ao procedimento da facoemulsificação por facilitar a manipulação e proteger as estruturas intra-oculares (KIM et al., 2002). As substâncias viscoelásticas foram utilizadas pela primeira vez em 1972 por Balazs que injetou ácido hialurônico no vítreo, e posteriormente, em 1977, por Miller que utilizou ácido hialurônico experimentalmente num implante de LIO em coelhos (HÖFLING de LIMA; CHALITA, 2002).

Com o advento das LIOs dobráveis e incisões auto-selantes, aperfeiçoamento dos aparelhos e uso das substâncias viscoelásticas, a facoemulsificação foi gradativamente retomada e se consagrou como a melhor técnica cirúrgica de catarata, e a mais utilizada desde 1990, tanto na Medicina (MONTENEGRO; REZENDE, 2002) quanto na Medicina Veterinária (WILLIAMS; BOYDELL; LONG, 1996).

Outro fator que contribuiu para a aplicação da facoemulsificação em cães foi o desenvolvimento de aparelhos com maior poder de fragmentação. Os equipamentos desenvolvidos antes de 1980 não eram adequados para fragmentar cataratas muito duras, especialmente no cão, que apresenta um cristalino mais duro do que o de outras espécies (DZIEZYC, 1990; WHITLEY et al., 1993).

Nos Estados Unidos, realiza-se de 4.000 a 5.000 cirurgias de catarata em cães por ano, sendo a maioria dos procedimentos por facoemulsificação (GILGER, 1997). A taxa de sucesso da cirurgia, que era em torno de 30% no final da década de 50, aumentou para 90% em 1993 (WHITLEY et al., 1993). Vários fatores contribuíram para esse aumento, tais como o controle mais efetivo da uveíte pós-operatória; as mudanças nas técnicas cirúrgica e anestesiológica; e a realização de exame oftalmológico mais acurado, possibilitando excluir os pacientes com oftalmopatias concomitantes. Além disso, a reação inflamatória intra-ocular desencadeada pela

facoemulsificação é menor do que pela extração extracapsular (CHEE et al., 1999; WILLIAMS; BOYDELL; LONG, 1996).

2.4 FACOEMULSIFICAÇÃO

Dentre as vantagens da facoemulsificação está a estabilidade da câmara anterior durante o procedimento, o que possibilita a remoção de todo o material cristalino, resultando em menor inflamação pós-operatória. Além disso, a incisão corneana reduzida proporciona menor risco de abertura dos pontos, cicatriz pequena, maior transparência corneana, menor astigmatismo e recuperação visual mais precoce. As principais desvantagens são o custo de aquisição do equipamento, a maior dificuldade de aprendizado, a possibilidade de ruptura da cápsula posterior do cristalino com extravasamento de vítreo ou o deslocamento de material do cristalino para o vítreo (SHIMMURA et al., 1992; WHITLEY et al., 1993).

O aprendizado da facoemulsificação requer domínio da técnica cirúrgica e um grande conhecimento dos princípios físicos envolvidos em sua realização. Isso permite ao cirurgião adequar os diversos parâmetros de ultra-som, fluxo e vácuo de acordo com o tipo de catarata, a etapa cirúrgica e a estratégia utilizada, aumentando sua eficácia e segurança (MONTENEGRO; REZENDE, 2002).

A facoemulsificação consiste na fragmentação ultra-sônica do cristalino, que é aspirado do olho por uma incisão corneana mínima. O equipamento de facoemulsificação é composto por dois sistemas integrados: um sistema de fluidos para

irrigação, aspiração e resfriamento; e um sistema de ultra-som para fragmentação do cristalino. A irrigação, realizada por infusão de solução salina balanceada ou solução de Ringer lactato, tem como finalidade manter o olho com pressão positiva durante todo o procedimento cirúrgico e compensar a perda de líquidos que ocorre pela aspiração (perda ativa) e incisão corneana (perda passiva). Na maioria dos aparelhos, os comandos principais são executados por meio de pedal com quatro posições principais: posição zero (repouso), posição um (irrigação), posição dois (irrigação e aspiração) e posição três (irrigação, aspiração e emulsificação) (GILGER, 1997).

Para emulsificar o cristalino, a energia mecânica é gerada por um transdutor (cristal piezoelétrico) localizado na caneta de facoemulsificação. A estimulação elétrica do cristal produz uma vibração em frequência ultra-sônica constante (Khz), que é transmitida a uma ponteira de titânio, criando uma movimentação longitudinal. A destruição tecidual ocorre pelo contato direto com o cristalino e por cavitação. Isso gera efeitos indesejáveis, tais como aquecimento da ponteira e tendência a empurrar o cristalino ou seus fragmentos, afastando-os do orifício de aspiração. Esses problemas são minimizados pelo fluxo constante de irrigação/aspiração cuja finalidade é manter o volume da câmara anterior constante, remover os fragmentos emulsificados e resfriar a ponteira de titânio (MONTENEGRO; REZENDE, 2002).

No sistema de irrigação/aspiração, a infusão de líquido (*flow rate*) na câmara anterior é obtida pela pressão hidrostática, dependente da altura da garrafa de infusão em relação à cabeça do paciente, menos a pressão intra-ocular. A saída de líquido da câmara é influenciada pela pressão negativa (vácuo) criada pela bomba de aspiração do aparelho somada à pressão intra-ocular (MONTENEGRO; REZENDE, 2002).

O equilíbrio entre a entrada e a saída de líquidos deve ser constante, a fim de evitar flutuações no volume e na pressão dentro da câmara anterior. A infusão de líquidos contribui para a atração dos fragmentos cristalinos até o orifício de aspiração; e a velocidade do fluxo de aspiração é medida em cc/min. O vácuo é responsável por aprisionar os fragmentos junto à ponteira durante o acionamento do ultra-som e por transpor a resistência no trajeto da aspiração, sendo medido em mmHg. A potência de facoemulsificação (*power*) é decorrente da potência de ultra-som gerada pelo aparelho, sendo representada como porcentagem da potência máxima. O cirurgião deve realizar uma boa oclusão da ponteira com fragmentos do cristalino, por meio da aspiração, para que se forme o vácuo dentro da tubulação do aparelho. Deve-se ter o cuidado de não iniciar a emulsificação antes de se obter uma boa oclusão, pois isso acarretaria a repulsão dos fragmentos, ao invés da emulsificação desejada. Por ter um efeito mecânico de frequência ultra-sônica antero-posterior, a potência do ultra-som pode levar a uma repulsão dos fragmentos (*chattering*). Quanto maior a potência utilizada, maior será a repulsão. Por isso, muitas vezes opta-se pela utilização de rajadas intermitentes de ultra-som (modo *pulse*) para emulsificar núcleos muito duros (GILGER, 1997; MONTENEGRO; REZENDE, 2002).

Nos facoemulsificadores com bomba peristáltica, que correspondem à maioria dos aparelhos comercialmente disponíveis, o fluxo e o vácuo podem ser ajustados separadamente no painel do aparelho. Havendo oclusão da ponteira por fragmentos do cristalino, o vácuo se formará de modo gradual e progressivo até um limite preestabelecido (MONTENEGRO; REZENDE, 2002).

Se houver oclusão do orifício de aspiração por um período prolongado, uma alta pressão negativa se acumula nas mangueiras de aspiração. Quando a oclusão se

desfaz, ocorre um equilíbrio imediato entre as pressões, ocasionando uma diminuição abrupta do volume da câmara anterior e eventualmente o seu colapso, conhecido como efeito *surge*, que pode trazer muitas complicações per-operatórias (MONTENEGRO; REZENDE, 2002).

Outros componentes básicos do equipamento de facoemulsificação são cautério, vitreófago anterior, respiro (*venting*) e refluxo. O respiro é um método de alívio do vácuo, que é ativado automaticamente quando ocorre uma descompressão rápida, permitindo a entrada de ar ou de líquido da garrafa no sistema, minimizando a ocorrência de *surge* ou a apreensão indevida de estruturas intra-oculares. O refluxo é controlado pelo cirurgião e serve para reverter o fluxo do sistema, sendo útil para liberar tecidos intra-oculares, como íris, cápsula posterior ou vítreo, indevidamente capturados (GILGER, 1997).

As ponteiros são acopladas diretamente na caneta de facoemulsificação, recobertas por luva de silicone. O orifício de aspiração localiza-se no centro da ponteira e os dois orifícios de irrigação localizam-se lateralmente. A ponteira pode apresentar diferentes angulações; a sua seleção vai depender da experiência do cirurgião, da técnica de facoemulsificação e da rigidez da lente (GILGER, 1997).

A execução adequada das etapas cirúrgicas com utilização do instrumental apropriado é fundamental para o sucesso da cirurgia. Na facoemulsificação, cada tempo cirúrgico interfere na realização do tempo seguinte. Apesar das diferenças entre as diversas técnicas cirúrgicas, as principais etapas incluem: incisão, capsulorrexe, paracentese lateral (*side port*), hidrodissociação, hidrodelineação, facoemulsificação, irrigação, aspiração e sutura (MONTENEGRO; REZENDE, 2002).

A incisão corneana deve ser feita na região periférica superior da córnea, próxima ao limbo (*clear cornea*), com lâminas de bisturi pré-calibradas, para apresentar uma dimensão precisa e proporcionar um selamento adequado à ponteira de facoemulsificação. Se a incisão for grande, haverá vazamento de líquido e instabilidade da câmara anterior. Por outro lado, se a incisão for pequena, o aquecimento produzido pela ponteira e a movimentação da caneta produzirão danos aos tecidos adjacentes. A incisão ideal deve propiciar exposição adequada para facoemulsificação e implantação de LIO, e deixar pouca cicatriz (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

A capsulorrexe curvilínea contínua proporciona grande parte da segurança necessária à execução da facoemulsificação, mas constitui também uma das etapas mais difíceis. Consiste na abertura e remoção da parte central da cápsula anterior, de borda contínua, sem qualquer ponto de falha que permita à cápsula rasgar-se no sentido radial. Deve ser grande o suficiente para permitir a remoção do cristalino e a introdução de uma LIO, e pequena o suficiente para manter essa lente centrada. É realizada com o auxílio de cistítilmo ou pinça de Ultrata após a incisão corneana, levantando um *flap* que será rebatido para formação da abertura (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

Alguns autores preferem realizar a facoemulsificação endocapsular (ou ensacular) que consiste numa abertura linear na cápsula anterior e emulsificação do cristalino dentro do saco capsular praticamente fechado. Apesar do risco de ruptura da cápsula posterior decorrente da tensão imposta dentro do saco capsular, alega-se haver menor dano endotelial. Nesses casos, a capsulotomia é realizada após a facoemulsificação do cristalino (DZIEZYC, 1990; WILLIAMS; BOYDELL; LONG, 1996).

A paracentese lateral é uma abertura acessória que serve para a introdução de um segundo instrumento para manipulação do núcleo ou LIO, bem como para injeção de líquidos ou substância viscoelástica. A hidrodissecção tem a finalidade de liberar o material do cristalino de suas aderências capsulares, permitindo que gire livremente dentro desse espaço. A principal vantagem é facilitar a manipulação do cristalino pelo cirurgião, reduzindo o risco de danos à cápsula posterior, além de favorecer a aspiração de todo o córtex. É realizada pela injeção de fluido abaixo da borda da capsulorrexe, causando a separação entre o córtex e o epinúcleo. A hidrodelineação, aplicada a pacientes humanos, é indicada em núcleos menos densos para separar sua parte interna (mais dura) de seu epinúcleo. É realizada pela injeção de líquido na parte mais profunda do cristalino, próximo à borda da capsulorrexe. Como essas regiões são menos diferenciadas no cristalino do cão, a hidrodelineação traz poucos benefícios, não sendo executada rotineiramente (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

Existem diversas técnicas de facoemulsificação *in situ*, que podem ser agrupadas como: técnica de emulsificação por inteiro, técnica de núcleo-fratura e técnicas de *chop*. A técnica de emulsificação por inteiro consiste em escavar o núcleo progressivamente até obter um formato de “tigela”. Essa técnica requer maior tempo de ultra-som e só pode ser utilizada em cataratas menos densas. A técnica de núcleo-fratura “Dividir e Conquistar” foi apresentada por Gimbel em 1986, tendo sido modificada posteriormente por diversos autores. Ela permitiu a redução do tempo de ultra-som e expandiu a realização da facoemulsificação para cataratas mais densas. É realizada pela criação de dois sulcos perpendiculares no centro do cristalino, seguida

de fratura em dois hemisférios e deslocamento de cada quadrante formado para a região central onde é realizada a emulsificação. A primeira técnica de *chop* foi apresentada por Nagahara em 1993 (*Phaco Chop*) e utilizava instrumento especial (*chopper*) para dividir e desmembrar pedaços do cristalino, economizando muito tempo de ultra-som mesmo em cataratas mais densas. Muitas variações foram descritas a partir da idéia original. Para execução das técnicas de *chop*, são necessários altos níveis de vácuo e muita habilidade em manusear o segundo instrumento (MONTENEGRO; REZENDE, 2002).

Após a emulsificação e a aspiração de todas as massas, o sistema de irrigação e aspiração (IA) pode ser utilizado para polimento da cápsula posterior com auxílio da caneta de IA. Esse procedimento tem sido defendido por alguns autores, a fim de minimizar a proliferação de células epiteliais do cristalino sobre a cápsula posterior com conseqüente opacificação; entretanto, os benefícios reais ainda não foram estabelecidos (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

A sutura corneana pode ser realizada em pontos simples separados com fio monofilamentado 9-0 ou 10-0 (GAIDDON, 1989).

Uma das principais complicações da facoemulsificação é a lesão de células endoteliais da córnea. O edema corneano pós-operatório pode ser decorrente de: energia ultra-sônica liberada, turbulência da solução de irrigação, presença de bolhas de ar, manipulação cirúrgica, contato com fragmentos nucleares, ou contato com a LIO no momento da implantação (BEESLEY; OLSON; BRADY, 1986; HAYASHI et al., 1996). Além disso, espécies reativas de oxigênio (EROs) têm sido associadas aos mecanismos de lesão endotelial durante a facoemulsificação (HULL et al., 1984).

Pressupõe-se que pequenas bolhas de ar produzidas pela ponteira de facoemulsificação, com potência de ultra-som acima de 60%, armazenem grande quantidade de energia, gerando aumento de pressão, temperatura e liberação de radicais livres que causam lesões em tecidos biológicos. Essas bolhas diminuem o contato entre a ponteira e o cristalino, reduzindo seu poder de corte. Para minimizar a formação de bolhas, deve-se utilizar a potência mínima efetiva, uma ponteira com junção afilada e um bisel com uma pequena superfície de contato (GILGER, 1997). Durante muitos anos, a utilização de ar foi preconizada nas cirurgias oculares de segmento anterior para manter a profundidade da câmara e proteger o endotélio corneano. Entretanto, estudos recentes têm demonstrado que a utilização de substâncias viscoelásticas ou solução salina balanceada promovem muito mais proteção mecânica e química ao endotélio (CRAIG et al., 1990; KOSRIRUKVONGS; SLADE; BERKELEY, 1997).

As uveítes pós-operatórias ocorrem com frequência elevada em cães após a facoemulsificação (BAGLEY; LAVACH, 1994). Outras complicações incluem hifema, glaucoma, hipotonia ocular acentuada, ruptura de cápsula posterior, opacidade e fibrose capsulares, descolamento de retina e endoftalmite (DZIEZYC, 1990; MELLO; ARAÚJO FILHO, 1993; WILLIAMS; BOYDELL; LONG, 1996). Nasisse et al. (1991) relataram a ruptura de cápsula posterior como a complicação per-operatória mais importante em cães.

O entendimento das propriedades de cada substância viscoelástica permite a escolha da mais adequada a cada etapa cirúrgica, uma vez que ainda não há disponibilidade de uma substância ideal para todos os momentos. De acordo com suas características específicas, essas substâncias podem ser classificadas como

dispersivas ou coesivas, conforme sua viscosidade e o comprimento da sua cadeia molecular (ARSHINOFF, 1995). A associação de substâncias viscoelásticas dispersivas e coesivas em um mesmo procedimento cirúrgico, conhecida como técnica *soft shell*, pode ser muito útil, uma vez que maximiza as vantagens e minimiza as desvantagens de cada substância isoladamente (ARSHINOFF, 1999).

As substâncias viscoelásticas têm como finalidade: proteger o endotélio corneano e demais tecidos intra-oculares, manter o volume da câmara anterior e diminuir a turbulência intra-ocular (ASSIA et al., 1998). As substâncias viscoelásticas servem ainda para expandir o saco capsular, facilitando a introdução da LIO. As substâncias comercialmente disponíveis são feitas de uma, ou de uma combinação, dos seguintes princípios: hialuronato de sódio, sulfato de condroitina, hidroxipropilmetilcelulose e poliacrilamida (HARRISON et. al, 1982; HÖFLING de LIMA; CHALITA, 2002; WILKIE; WILLIS, 1999).

Apesar das numerosas vantagens da utilização das substâncias viscoelásticas, elas podem ocasionar um aumento da pressão intra-ocular imediatamente após a cirurgia por oferecer certa resistência na drenagem do HA pela via trabecular. Para minimizar esse aumento, deve-se realizar uma aspiração minuciosa antes de proceder à sutura corneana. Esse aumento transitório da pressão intra-ocular, nas primeiras 24 horas pós-operatórias (MILLER et al., 1987), também está relacionado a vários fatores fisiológicos, apesar do mecanismo envolvido não estar muito bem esclarecido. Tem sido proposto um bloqueio do ângulo de drenagem por restos de material do cristalino associado a edema local, ou em decorrência de uma produção compensatória de HA após as cirurgias intra-oculares. A pressão intra-ocular pode atingir valores elevados e passar despercebida, se não for aferida. Pode-se utilizar colírios à base de inibidores

de anidrase carbônica para diminuir a produção de HA (SMITH et al., 1996). Segundo Shingleton et al. (2000), o aumento da pressão intra-ocular após a cirurgia de catarata está relacionado às substâncias viscoelásticas, sinéquias anteriores e comprometimento do ângulo iridocorneano.

Alguns trabalhos têm realizado comparações entre a taxa de sucesso obtida pela extração unilateral *versus* bilateral da catarata. Conforme demonstrado por Davidson et al. (1990), não há nenhuma diferença no sucesso da cirurgia e na recuperação da acuidade visual entre a remoção unilateral ou bilateral da catarata, tanto a curto prazo (4 a 6 semanas) quanto a longo prazo (3 a 9 meses), quando se considera o número total de olhos com visão. Entretanto, a taxa de recuperação visual em um ou nos dois olhos após a extração bilateral mostrou-se superior em relação à extração unilateral, tanto a curto quanto a longo prazos, servindo como incentivo para a realização de cirurgia bilateral como rotina. Não foram observadas diferenças em relação às complicações per-operatória e pós-operatória entre os dois procedimentos.

A seleção criteriosa do paciente, a avaliação pré-operatória minuciosa e os cuidados pós-operatórios são fundamentais para o sucesso da facoemulsificação. Os melhores resultados são obtidos em cães jovens com cataratas imaturas. Porém, outros tipos de catarata também podem ser submetidos à facoemulsificação, incluindo cães que apresentaram complicações per-operatória ou pós-operatória decorrentes da incisão ampla da técnica extracapsular no olho contralateral (MILLER et al., 1987).

O tratamento medicamentoso à base de antibióticos, midriáticos e antiinflamatórios esteróides e não-esteróides é utilizado antes e depois da cirurgia, envolvendo diferentes fármacos e vias de administração. O tratamento inicia-se em geral de três a quatro dias antes do procedimento cirúrgico para minimizar a inflamação

per-operatória e reduzir a carga microbiana (WILLIAMS; BOYDELL; LONG, 1996). As intercorrências per-operatórias podem ser minimizadas com a utilização de um protocolo medicamentoso prévio adequado e com uma manipulação intra-ocular delicada durante a remoção da catarata (MURPHY, 1980).

Existe a possibilidade de contaminação ocular por microrganismos presentes no fórnice conjuntival, a qual pode levar à endoftalmite pós-operatória. Entretanto, o índice de contaminação ocular é maior em animais submetidos à técnica extracapsular em comparação com a facoemulsificação (TAYLOR et al., 1995).

2.5 IMPLANTE DE LENTE INTRA-OCULAR (LIO)

A exemplo do que já era preconizado na oftalmologia humana, o implante de LIOs após a cirurgia de catarata em cães tem sido realizado como rotina em alguns serviços desde 1984, embora ainda constitua um procedimento que gera controvérsias. Os olhos submetidos à cirurgia de catarata sem implante de LIO são denominados afácicos, e os olhos que recebem uma LIO, pseudofácicos (DAVIDSON et al., 1993).

O cálculo do poder dióptrico da lente a ser implantada é feito por meio de fórmulas matemáticas, levando em consideração o comprimento axial do bulbo ocular (por ecografia ocular - modo A) (SCHIFFER et al., 1982), a curvatura corneana (por ceratometria) e a posição que essa lente irá ocupar dentro do olho (câmara anterior, sulco ciliar ou saco capsular). Em média, uma LIO de +18 dioptrias esféricas (D),

colocada no plano da pupila, é capaz de tornar o homem emétrope (DAVIDSON et al., 1993).

Em contrapartida, os cães necessitam da adaptação de LIOs com poder dióptrico alto e positivo em função de diferenças anatômicas em relação ao homem, tais como menor comprimento axial do bulbo ocular, curvatura corneana mais plana, e câmara anterior mais profunda (GAIDDON et al., 1991).

Estudos em cães têm demonstrado que a maioria da população apresenta-se emétrope ou próxima à emetropia (MURPHY; ZADNIK; MANNIS, 1992). Apesar disso, existem diferenças em relação a idade, sexo, raça e principalmente o porte do animal, que influenciam diretamente no cálculo do poder dióptrico da LIO a ser implantada. Por isso, não seria adequado indicar o implante de LIOs com o mesmo poder dióptrico para todos os cães (GÖRIG et al., 2000). No entanto, nas situações em que não é possível estabelecer a biometria e a ceratometria pré-operatórias de cães para o cálculo preciso do poder dióptrico do implante, que representa a maioria dos casos, tem-se preconizado a utilização de LIOs com +41,5 dioptrias esféricas, independentemente da raça ou porte do animal (DAVIDSON et al., 1993).

Inicialmente, as primeiras LIOs para cães foram confeccionadas com poder de +14,5D, visto ser esse o seu erro refracional após a remoção do cristalino. Entretanto, o cálculo considerava a distância a partir da córnea, e quando essa lente era implantada dentro do olho não corrigia adequadamente a hipermetropia. Sendo assim, seu poder foi aumentando gradativamente até atingir o valor de +41,5D preconizado atualmente, capaz de aproximar a maioria dos olhos caninos pseudofácicos da emetropia (DAVIDSON et al., 1993). Com a correção da hipermetropia pelo implante, observa-se uma melhora significativa na visão para perto (GAIDDON, 1989).

De acordo com Glover e Constantinescu (1997), as LIOs para cães mais utilizadas até hoje apresentam entre 6 e 7 mm de corpo e entre 13,5 e 17 mm de comprimento total, o que requer a ampliação da incisão corneana após a facoemulsificação para a introdução da lente. É imperativo que esta seja bem moldada, leve, durável, biocompatível, não antigênica, esterilizável e altamente polida. O material mais utilizado para a confecção dessa lente é o polimetilmetacrilato (PMMA). A lente pode ser de peça única ou de três peças, com corpo de PMMA e alças de outro tipo de material, como, por exemplo, polipropileno. As alças mais utilizadas tem formato de “C” modificado, com uma angulação de 2° a 15° (média de 10°). Após o implante da lente dentro do saco capsular, suas alças devem ser giradas até a posição de 3 e 9 horas, de modo a não exercer nenhuma pressão na região da incisão corneana. Quanto menos rígido for o material da alça, maior deverá ser o comprimento total da lente para manter contato com o saco capsular, na região do equador, e prevenir descentração (NASISSE; DAVIDSON, 1999).

As lentes mais comumente utilizadas em cães até os dias atuais são de peça única, compostas por PMMA, rígidas, biconvexas, para implante na câmara posterior (DAVIDSON, 2001).

Apesar dos resultados satisfatórios obtidos com o implante da LIO rígida de PMMA, novas LIOs têm sido desenvolvidas para pacientes humanos nos últimos anos. Uma vez que a ocorrência do astigmatismo pós-operatório é diretamente proporcional ao tamanho da incisão corneana, foram viabilizados novos materiais para a confecção de LIOs dobráveis para o homem, as quais pudessem ser adaptadas à incisão corneana de 2,5 a 3,5 mm. As primeiras LIOs dobráveis eram de silicone e, mais recentemente, de polímero acrílico modificado, e têm mostrado excelentes resultados,

com uma redução acentuada na incidência da opacidade de cápsula posterior do cristalino no homem. As LIOs utilizadas em cães tendem a seguir a mesma evolução das utilizadas na medicina. Porém, a dificuldade técnica e o custo elevado para o desenvolvimento de LIOs dobráveis, com o alto poder dióptrico necessário para o cão, têm limitado as pesquisas nessa área. Pesquisadores franceses desenvolveram uma LIO dobrável para cães, composta de hidroxietilmetacrilato ou metilmetacrilato, que pode ser injetada através de pequena incisão corneana. Os resultados iniciais tem se mostrado promissores, mas estudos adicionais e acompanhamento a longo prazo são necessários (DAVIDSON, 2001). As lentes dobráveis francesas comercialmente disponíveis para implante, utilizando injetor por pequena incisão corneana em cães, são compostas por material acrílico, apresentam 6 mm de zona óptica e 14 mm de comprimento total, angulação de 10° e poder dióptrico de +41D (comunicação pessoal)⁶.

O posicionamento da LIO dentro do saco capsular (*in the bag*) proporciona uma redução na opacificação de cápsula posterior pós-operatória, presumivelmente por um retardo na migração das células epiteliais a partir da cápsula anterior para o eixo visual. Em razão dessa opacidade ocorrer com uma grande frequência e corresponder a uma das principais complicações pós-operatórias da cirurgia de catarata, alguns oftalmologistas veterinários norte-americanos consideram-na como o fator mais importante na indicação do implante de lente (WILLIAMS; BOYDELL; LONG, 1996).

⁶ Comunicação pessoal com representante da empresa Corneal, Rio de Janeiro, 2002.

2.6 OS RADICAIS LIVRES

Sugere-se o envolvimento de radicais livres ou de espécies reativas de oxigênio (EROs) em um grande número de doenças, apesar de não estar estabelecido se sua participação constitui a causa ou a consequência dessas doenças. Em muitas delas, a natureza da espécie radicalar que amplifica a lesão primária não é conhecida, tornando difícil o planejamento correto de medicações antioxidantes (ABDALLA, 1993).

Radical livre é qualquer espécie química capaz de existir independentemente e contém um ou mais elétrons não pareados ocupando orbitais atômicos ou moleculares. Em geral, essas espécies são instáveis, têm uma meia-vida muito curta (de minutos a nanossegundos) e reagem de forma rápida e inespecífica com diversos compostos e alvos celulares, podendo danificar DNA, proteínas, carboidratos e lipídeos (SIES, 1986).

Os radicais livres podem ser gerados a partir de várias fontes, tais como radiação solar, metabolismo de oxigênio, metabolismo de leucócitos, respiração mitocondrial e reações metabólicas intracelular e extracelular (ROSE; RICHER; BODE, 1998). Os radicais livres mais importantes, do ponto de vista biológico, são aqueles derivados do oxigênio (PUNCHARD; KELLY, 1996).

As reações oxidativas são muito importantes para o metabolismo celular; entretanto, muitas delas apresentam potencial para gerar radicais livres sob condições fisiológicas. Estima-se que em torno de 1% a 5% de todo o oxigênio utilizado no metabolismo celular escape na forma de espécies reativas (PUNCHARD; KELLY, 1996).

Espécies de oxigênio de alta energia podem ser geradas durante as diversas reações químicas associadas ao metabolismo aeróbico celular. Na natureza, existem substâncias que são radicais livres, tais como o oxigênio no estado fundamental (O_2) e o óxido nítrico ($\cdot NO$), um poluente atmosférico que também é sintetizado em diversas células do organismo. O $\cdot NO$ apresenta efeitos regulatórios sobre o tônus vascular (relaxamento do endotélio), adesão celular, permeabilidade vascular, neurotransmissão, broncodilatação e agregação plaquetária, além de participar da atividade microbicida das células fagocitárias. Em razão de a molécula de oxigênio ser um birradical, ela apresenta limitada capacidade de reagir com biomoléculas, o que minimiza os seus danos diretos em alvos celulares importantes. Entretanto, o oxigênio pode dar origem a diversas espécies reativas, seja por absorção de energia seja por transferência de elétrons. Quando o oxigênio no estado fundamental absorve energia (luz ou radiação), formam-se as espécies excitadas denominadas oxigênio singlete (1O_2) delta e sigma, que, apesar de não constituírem radicais livres, apresentam um maior poder oxidante e reagem rapidamente com biomoléculas. Uma outra via de formação de EROs consiste na redução univalente do oxigênio à água, promovendo o aparecimento de radical ânion superóxido ($\cdot O_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($\cdot OH$), o mais reativo de todos. Portanto, a toxicidade do oxigênio decorre da formação dessas espécies reativas que podem interagir e lesar diversas biomoléculas e estruturas celulares. Em condições normais, a concentração dessas espécies dentro das células é extremamente baixa pelo fato de existirem enzimas antioxidantes que as removem ou impedem sua formação. As EROs são geradas no citoplasma,

mitocôndrias, retículo endoplasmático, membrana celular e núcleo de todas as células aeróbias (ABDALLA, 1993; DIPLOCK, 1991).

O radical ânion superóxido isoladamente é pouco reativo em solução aquosa e seus efeitos nocivos estão mais relacionados aos seus derivados, principalmente o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila (WEISS; BUGLIO, 1982). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um potente oxidante, mas suas reações com compostos orgânicos são lentas. O radical hidroxila pode ser formado a partir de radiações ionizantes ou interações entre o radical ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e metais de transição, podendo interagir rapidamente com compostos orgânicos e inorgânicos (ABDALLA, 1993).

As EROs são potencialmente tóxicas para as células. Por sua natureza altamente reativa, elas podem se combinar rapidamente com outras moléculas, tais como enzimas, receptores e bombas de íons, causando oxidação e inativando ou inibindo a sua função normal. Um dos efeitos mais destrutivos das EROs é a inicialização da peroxidação lipídica, que pode levar à destruição da membrana celular, com graves repercussões metabólicas (PUNCHARD; KELLY, 1996).

2.7 SISTEMAS DE DEFESA ANTIOXIDANTE

Antioxidantes são compostos que protegem sistemas biológicos contra os efeitos potencialmente lesivos de processos ou reações que promovem a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares. Os sistemas de defesa antioxidante do

organismo compreendem uma gama variada de substâncias que atuam em diferentes níveis. O sistema de defesa primário impede a geração de espécies reativas ou seqüestram-nas de maneira a impedir sua interação com alvos celulares. É representado por enzimas antioxidantes, quelantes, proteínas transportadoras e outras substâncias, tais como urato, ascorbato, albumina, bilirrubina e carotenóides. O sistema de defesa secundário bloqueia a etapa de propagação da cadeia radicalar seqüestrando radicais intermediários, e é representado por alfa-tocoferol, tocotrienóis, flavonóides e vários antioxidantes sintéticos. O sistema de defesa terciário atua reparando as lesões oxidativas do DNA, proteínas e lipídeos, pela ativação do sistema de reparo do ácido desoxirribonucléico, de protease e de lipases, respectivamente (ABDALLA, 1993).

A importância dos processos oxidativos causados pelos radicais livres pode ser mensurada pela quantidade e diversidade de antioxidantes biológicos presentes nas células. Isso comprova a produção contínua de radicais livres em condições normais e a necessidade de controlar seus níveis adequadamente para garantir a sobrevivência celular (PUNCHARD; KELLY, 1996).

As enzimas antioxidantes, representadas por superóxido dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione transferase e catalase, entre outras, participam das reações responsáveis por manter as EROs em baixas concentrações intracelulares (PUNCHARD; KELLY, 1996).

A superóxido dismutase (SOD) está presente no citoplasma celular e nos fluidos extracelulares em todos os organismos aeróbios, catalisando a dismutação do radical

superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (FORRESTER, 2002; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1985).

A glutathione peroxidase (GPx) está presente no citoplasma celular e nas mitocôndrias. Atua catalisando a redução de hidroperóxidos orgânicos e inorgânicos, como, por exemplo, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) por meio da glutathione reduzida (GSH) para formar glutathione oxidada (GSSG) e água (ou álcoois). A continuidade do ciclo catalítico da GPx depende da redução da GSSG pela enzima glutathione reductase (GR), que utiliza NADPH formado pela via das pentoses (ABDALLA, 1993; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1985).

A catalase está localizada nos peroxissomos do fígado e rins e em microperoxissomos de outras células. Atua realizando a quebra do H_2O_2 a oxigênio e água. Tem especificidade pelo peróxido de hidrogênio, não atuando sobre peróxidos orgânicos. Pelo fato de estar compartimentalizada e possuir baixa afinidade ao peróxido de hidrogênio em comparação com a GPx, a catalase é mais importante em condições em que ocorre a formação de altas concentrações de peróxido de hidrogênio (ABDALLA, 1993; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1985).

Os antioxidantes não enzimáticos são divididos em dois grupos: os hidrossolúveis, representados por ácido ascórbico (vitamina C), glutathione, melatonina e metalotioneínas; e os lipossolúveis, representados por alfa-tocoferol (vitamina E), tocotrienóis, ubiquinonas e carotenóides (ABDALLA, 1993; PUNCHARD; KELLY, 1996).

Por sua elevada concentração no bulbo ocular, o ácido ascórbico é o antioxidante de maior importância nas doenças oculares, contribuindo com significativa

proteção antioxidante contra as EROs (ZENG et al., 1995). As plantas e os animais podem sintetizar ácido ascórbico a partir da glicose, mas o homem perdeu uma das enzimas necessárias para sua síntese durante a evolução, devendo obtê-lo a partir da dieta. O ascorbato é um antioxidante importante dos fluidos extracelulares e em estruturas com baixa atividade de SOD, como o cristalino (ROSE; BODE, 1991).

A GSH é formada por resíduos da glicina, cisteína e ácido glutâmico. Atua diretamente como antioxidante, seqüestrando radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), quando estes se encontram em baixas concentrações no tecido ocular (COSTARIDES; RILEY; GREEN, 1991). Entretanto, seu papel fundamental é como co-fator de várias enzimas em diferentes vias metabólicas, como, por exemplo, da GPx. Participa de diversos processos de detoxificação, como a remoção de peróxidos via GPx. Por outro lado, a geração de grandes quantidades de peróxido de hidrogênio pelas células pode promover um acúmulo de GSSG, gerando radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) como subprodutos. Essas espécies podem estar envolvidas com alguns efeitos tóxicos da glutathiona observados *in vitro* (ABDALLA, 1993).

A melatonina é uma indolamina formada na glândula pineal, olhos e outros tecidos em vertebrados. Sua ação antioxidante decorre da sua capacidade de seqüestrar radicais hidroxila (ABDALLA, 1993).

O alfa-tocoferol é importante na proteção das membranas celulares, e por ser lipossolúvel, tende a se acumular no interior das membranas. Ele suprime o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e seqüestra radicais superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$) e hidroxila ($\cdot\text{OH}$). Entretanto, sua principal ação antioxidante consiste em interromper a fase de propagação da

lipoperoxidação lipídica, doando um átomo de hidrogênio para os radicais peroxila e alcóxila derivados da oxidação dos ácidos graxos, interrompendo assim a cadeia radicalar. Se o processo de lipoperoxidação for muito intenso, o alfa-tocoferol da membrana será totalmente convertido a radical tocoferoxila, perdendo sua ação antioxidante. Portanto, o radical tocoferoxila deve ser regenerado por substâncias como o ácido ascórbico, que o reduz novamente a alfa-tocoferol. Tecidos animais deficientes em alfa-tocoferol apresentam maior índice de peroxidação lipídica e maior sensibilidade à ação tóxica do oxigênio puro. A deficiência de alfa-tocoferol por períodos curtos na dieta de humanos adultos não promove sinais agudos de doença, provavelmente pela ação de outros mecanismos de proteção antioxidante ou pela regeneração do alfa-tocoferol das membranas pelo ácido ascórbico (ABDALLA, 1993).

Os carotenóides são pigmentos presentes nos tecidos fotossintéticos e são obtidos pelo organismo por meio da dieta. Cerca de seiscentos carotenóides já foram identificados, sendo que sessenta deles apresentam atividade pró-vitamina A (retinol). Nesse sentido, o beta-caroteno é o mais potente, ao passo que outros carotenóides, como o licopeno e a luteína, não apresentam essa atividade. O beta-caroteno é um potente aniquilador do oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$). Carotenóides polares, tais como a luteína e a zeaxantina concentram-se mais na retina, onde têm como função suprimir espécies excitadas de oxigênio geradas pela luz, protegendo os fotorreceptores da retina (ABDALLA, 1993).

2.8 ESTRESSE OXIDATIVO X CATARATA

Quando os níveis de pró-oxidantes predominam em relação aos antioxidantes, instala-se o estresse oxidativo. Várias condições clínicas têm sido associadas ao estresse oxidativo, tais como inflamação, carcinogênese, envelhecimento, danos por radiação, agregação plaquetária, síndrome do desconforto respiratório, artrite, síndrome de isquemia/reperfusão e catarata (SIES, 1986; VARMA; DEVAMANO HARAN; MORRIS, 1995). Várias substâncias têm sido utilizadas como seqüestradores de radicais livres e antioxidantes em estudos *in vitro* e *in vivo*, com potencial aplicação futura no tratamento de algumas doenças (ARUOMA, 1996).

O olho é o único órgão exposto continuamente à radiação solar e ao oxigênio atmosférico, estando relativamente desprotegido. Por sua função visual, ele não poderia apresentar uma cobertura que o protegesse das agressões externas como ocorre com o resto do corpo (ROSE; RICHER; BODE, 1998). A exposição à radiação ultravioleta é uma grande indutora da formação de EROs e radicais livres (PUNCHARD; KELLY, 1996). O oxigênio atmosférico também é responsável por danos potenciais a estruturas oculares, como retina e córnea. A origem do oxigênio presente na câmara anterior pode ser oriunda do ar atmosférico (por difusão pela córnea) ou da vascularização da úvea anterior. Em associação à radiação e exposição ao ar atmosférico, a presença de peróxido de hidrogênio no HA contribui de forma importante para o estabelecimento de estresse oxidativo no olho. Apesar de existirem algumas controvérsias, muitos estudos associam mudanças nos níveis de peróxido de hidrogênio no HA à catarata (ROSE; RICHER; BODE, 1998).

Os agentes oxidantes identificados nos olhos de animais de vida diurna incluem oxigênio singlete, peróxido de hidrogênio, radical ânion superóxido, radical hidroxila, riboflavina e triptofano (TAYLOR et al., 1993).

Os principais compostos antioxidantes presentes no HA e no cristalino incluem enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase) e antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis (ácido ascórbico, alfa-tocoferol, carotenóides e glutathione). Sua atividade representa um importante mecanismo de defesa contra os danos oxidativos ao bulbo ocular (BARROS, 1998). O ascorbato e a glutathione constituem o principal mecanismo de defesa contra a fotoxidação do cristalino e no HA. As enzimas glutathione peroxidase e catalase podem ser encontradas em várias estruturas oculares, incluindo cristalino, epitélio e endotélio corneanos, íris, corpo ciliar e retina (BHUYAM; BHUYAM, 1976). A superóxido dismutase está presente predominantemente no cristalino, epitélio e endotélio corneanos, íris, fotorreceptores da retina e epitélio pigmentar da retina (RAO et al., 1985).

As principais fontes desencadeadoras da formação de EROs no bulbo ocular incluem radiação solar; reações metabólicas intracelulares e extracelulares (com formação de peróxido de hidrogênio); reações de redução do oxigênio a água; e respiração mitocondrial (ROSE; RICHER; BODE, 1998).

Os efeitos de cada espécie reativa não podem ser avaliados isoladamente, porque as EROs são geralmente encontradas em associação. A produção de uma pode levar à produção de outra, constituindo uma reação em cadeia, que resulta em danos morfo-funcionais às estruturas oculares, incluindo o cristalino (ROSE; RICHER; BODE, 1998).

A formação da catarata tem sido correlacionada com a exposição à radiação solar (HILLER; GIACOWETTI; YUEN, 1977). A radiação com comprimento de onda acima de 290 nm é capaz de atravessar a córnea e o HA, atingindo o cristalino e contribuindo para a patogenia da catarata (RINGVOLD, 1996).

Vários estudos correlacionam a prevenção ou desenvolvimento da catarata à concentração de ácido ascórbico. Devamanoharan et al. (1991) demonstraram a prevenção da catarata induzida por selenito de sódio em ratos jovens com a administração de ácido ascórbico. Bendich e Langseth (1995) associaram disfunções no metabolismo do ácido ascórbico à etiologia da catarata e diabetes. Goralska et al. (1998) observaram o aparecimento precoce de catarata bilateral em humanos associado a alterações hereditárias na síntese de ferritina, proteína responsável pelo armazenamento de ferro nas células epiteliais do cristalino. Evidenciaram ainda que o ácido ascórbico apresenta um efeito modulador sobre a homeostasia do ferro, aumentando a síntese de ferritina. Barros et al. (2002) observaram níveis de ácido ascórbico no HA e no plasma de animais diabéticos com catarata inferiores aos de animais normais, sugerindo uma associação entre a concentração de ácido ascórbico e a formação de catarata em cães diabéticos.

Altas concentrações de glutathione são encontradas no cristalino em condições normais. Concentrações menos elevadas foram associadas à catarata em ratos idosos (KASUYA et al., 1992).

As proteínas presentes no cristalino de pacientes com catarata contêm quantidades significantes de metionina sulfóxido, sugerindo o envolvimento de oxigênio singlete produzido pelas reações de fotossensibilização dessas proteínas. A enzima metionina sulfóxido redutase, que reduz a metionina sulfóxido, regenerando a

metionina e reativando as proteínas, está presente no cristalino, nos pulmões e nos neutrófilos (ABDALLA, 1993).

2.9 HUMOR AQUOSO E O ASCORBATO COMO ANTIOXIDANTE

O HA é um ultrafiltrado do plasma produzido pelo epitélio não pigmentado do corpo ciliar por meio de difusão, ultrafiltração e secreção ativa. É um líquido transparente, formado na câmara posterior, que passa através da pupila até a câmara anterior do bulbo ocular, onde é drenado pelas vias de drenagem convencional (trabeculado corneoescleral) e não convencional (fluxo uveoescleral). Sua circulação na câmara anterior ocorre por causa da diferença de temperatura entre a córnea e a íris. A taxa de formação do HA é equivalente à taxa de drenagem, o que mantém a pressão intra-ocular relativamente constante.

O HA é composto por proteínas, imunoglobulinas, enzimas, lipídeos, carboidratos, uréia, aminoácidos e compostos inorgânicos. Os principais cátions são sódio, potássio, cálcio e magnésio. A maioria dos ânions inclui cloro, bicarbonato, fosfato, ascorbato e lactato. A concentração de proteínas é extremamente baixa e é representada principalmente pela albumina. Como as imunoglobulinas são moléculas relativamente grandes e dificilmente alcançariam o HA a partir do plasma, acredita-se que ocorra a produção local por linfócitos da úvea (FORRESTER et al., 2002). A interação entre esses compostos, por transporte ativo e passivo, permite a formação

continua do HA, favorecendo a nutrição adequada da córnea e do cristalino, e removendo os resíduos do seu metabolismo.

As necessidades metabólicas da córnea e do cristalino podem alterar a composição do HA, assim como o nível de substâncias no sangue. O aumento de glicose pode ocorrer secundariamente à hiperglicemia observada no *diabetes mellitus* (GUM; GELATT; OFRI, 1999, p. 164).

Existe uma barreira anatômica hemato-aquosa que impede a passagem de moléculas com alto peso molecular do sangue para o HA. Em determinadas situações, pode ocorrer uma quebra nessa barreira, modificando a sua composição, principalmente por adição de proteínas e prostaglandinas, o que é clinicamente observado como *flare*. O aumento nos níveis de proteína total no HA que sucede os procedimentos cirúrgicos intra-oculares é explicado pelo aumento de permeabilidade capilar secundária ao processo inflamatório que se instala.

A análise do HA, colhido por paracentese da câmara anterior, pode ser usada como meio diagnóstico para muitas doenças oftalmológicas. Os métodos de análise mais utilizados incluem citologia, cultura para bactérias e fungos, análise da concentração de lactato desidrogenase e eletroforese de proteínas (HAZEL et al., 1985).

O corpo ciliar é o maior sítio ocular de expressão de enzimas antioxidantes, apresentando altas concentrações de catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase, além de corresponder ao maior centro de detoxificação de fármacos no olho. O HA nutre e protege os tecidos oculares avasculares do segmento anterior contra os danos causados pelo estresse oxidativo (MARTÍN-ALONSO; GHOSH; COCA-PRADOS, 1993). O sistema de proteção antioxidante presente no HA

geralmente é capaz de reverter as reações oxidativas, restabelecendo seu funcionamento. Todavia, se as agressões se estenderem por longo período, poderá ocorrer diminuição acentuada dos antioxidantes, com danos irreversíveis aos tecidos (KARAKUCUK et al., 1995).

As reações oxidativas na câmara anterior iniciam-se a partir de estímulos endógenos (inflamação, fagocitose, reações químicas) ou exógenos (luz, radiação, choque térmico) e podem resultar em efeito prejudicial à córnea, ao cristalino e ao ângulo de drenagem. Os tecidos avasculares, como córnea e cristalino, são os principais alvos das EROs no desenvolvimento das doenças oculares (MARTÍN-ALONSO; GHOSH; COCA-PRADOS, 1993).

A concentração de ascorbato encontrada no HA e nos tecidos oculares de espécies animais diurnas é várias vezes maior que a encontrada no plasma, por causa de um mecanismo de secreção ativa que conta com a presença de íon sódio e glicose (REISS et al., 1986). Os seus níveis são menores nos animais jovens em relação aos adultos, mas o motivo para isso ainda não foi elucidado (GUM; GELATT; OFRI, 1999, p. 164). Animais de hábitos diurnos apresentam uma concentração de ascorbato superior aos animais de hábitos noturnos; esse fato sugere uma possível função de proteção contra os danos ocasionados pela radiação associada à adaptação a longo prazo (REDDY et al., 1998). Trabalhos realizados por Reddy et al. (1998) e Ringvold (1996) sugerem que os altos níveis de ácido ascórbico presentes no HA, confirmam proteção às estruturas oculares, especialmente o cristalino e a retina contra o estresse oxidativo, uma vez que atuam como um filtro da radiação ultra-violeta (UV-A e UV-B). A capacidade de acumular ácido ascórbico é proporcional à quantidade de luz à qual a espécie normalmente está exposta (KOSKELA et al., 1989).

O HA, o cristalino e o vítreo apresentam níveis mais elevados de ascorbato em relação às outras estruturas oculares (BESSEY; KING, 1933), e a concentração de ascorbato no cristalino do cão é inferior à do HA (McLAREN et al., 1990).

O ascorbato auxilia no armazenamento de catecolaminas na íris, atua como co-fator nas reações de transferência de elétrons, age como agente redutor em reações de hidroxilação, absorve parcialmente a radiação ultravioleta, ajuda a regular a síntese de glicosaminoglicanos no trabeculado, além de atuar diretamente como antioxidante no bulbo ocular (GUM; GELATT; OFRI, 1999, p. 164).

O ascorbato, que tem um baixo potencial redutor, reage com a maior parte dos radicais oxidantes formados nos sistemas biológicos. Ao interagir com radicais ânion superóxido e hidroxila, gera o radical ascorbila, que pode ser considerado um indicador do estresse oxidativo. Além disso, interage com o oxigênio singlete, reduz radicais tiol e combina-se com o ácido hipocloroso, um potente oxidante gerado pela mieloperoxidase de leucócitos nos focos inflamatórios. O radical ascorbila é relativamente estável e não tóxico, podendo sofrer uma reação de dismutação com a formação de ascorbato e deidroascorbato. Este último pode ser novamente reduzido a ascorbato pela enzima deidroascorbato redutase (ABDALLA, 1993; ROSE; RICHER; BODE, 1998). O ascorbato também desempenha papel importante ao prevenir a oxidação do alfa-tocoferol. Estudos têm demonstrado que, na ausência de ascorbato, a glutathione reduzida não é capaz de evitar essa oxidação (STOYANOVSKY et al., 1995).

O fato de atuar em várias reações no combate às EROs e apresentar-se em altas concentrações justificam a classificação do ascorbato como o antioxidante mais importante e eficaz no bulbo ocular (ROSE; RICHER; BODE, 1998).

Por outro lado, o contato com metais de transição, como cobre e ferro, podem catalisar a oxidação do ascorbato em solução aquosa, gerando os radicais ânion superóxido e hidroxila. Por isso, a associação de ascorbato com metais de transição deve ser evitada para que não haja a formação de compostos nocivos (ABDALLA, 1993). Estudos experimentais demonstraram esse efeito tóxico do ácido ascórbico na presença de metais de transição ou de fotossensibilizadores exógenos em bovinos (WOLFF, 1987) ou como fonte de peróxido de hidrogênio (GIBLIN et al., 1984).

2.10 INFLAMAÇÃO OCULAR E ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Um dos primeiros eventos associados ao processo inflamatório é a ativação e migração de leucócitos (macrófagos e neutrófilos) para a área afetada. Os leucócitos possuem algumas enzimas capazes de catalisar reações com geração de EROs, dentre elas, a enzima NADPH oxidase que catalisa a redução do oxigênio ao radical ânion superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$). Algumas dessas EROs são normalmente utilizadas pelos leucócitos para eliminar bactérias do meio intracelular ou extracelular. Infelizmente, os radicais livres e outros compostos oxidantes produzidos no sítio da inflamação também podem lesar os tecidos, se não forem adequadamente controlados. Além disso, pode ocorrer lise de algumas células com liberação de compostos metálicos no local da inflamação, como, por exemplo, por meio da liberação de hemoglobina pelos eritrócitos. O ferro e outros metais podem reagir com as EROs presentes no meio e,

por intermédio de uma série de reações (reações de Fenton), gerar outras EROs ainda mais tóxicas, como o radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), contribuindo para a condição de estresse oxidativo (PUNCHARD; KELLY, 1996).

O dano tecidual causado durante a inflamação ocular é, em grande parte, atribuído à produção de radicais livres por essas células fagocitárias envolvidas no processo. Vários mecanismos enzimáticos e não enzimáticos são responsáveis pela detoxificação desses radicais livres (FORRESTER et al., 2002).

Além de causar lesões teciduais, as EROs podem potencializar a atividade pró-inflamatória dos metabólitos do ácido araquidônico e prolongar a ação de enzimas proteolíticas (PETRONE et al., 1981).

3 MATERIAL E MÉTODO

Doze cães (três machos e nove fêmeas), adultos jovens, sem raça definida, com peso médio de 15,8 kg, oriundos de centros de controle de zoonoses, foram utilizados com autorização da Comissão de Ética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

O experimento foi realizado no Laboratório Experimental de Oftalmologia Comparada, do Departamento de Cirurgia, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade de São Paulo, obedecendo aos critérios da *Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO)*.

3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os animais selecionados (APÊNDICE H) apresentavam temperamento dócil para permitir a manipulação, o tratamento e as avaliações freqüentes. Eles foram submetidos a exame físico e avaliação oftalmológica para descartar a presença de doenças sistêmicas ou oculares que pudessem comprometer os resultados do experimento.

No exame físico, avaliou-se temperatura, estado de hidratação, coloração de mucosas, tempo de preenchimento capilar, auscultação cardiopulmonar, palpação de linfonodos e abdome. O exame oftalmológico incluiu avaliação do reflexo pupilar à luz

direto e consensual, teste de lágrima de Schirmer I¹, teste de fluoresceína², biomicroscopia com lâmpada de fenda³, tonometria de aplanção⁴ e oftalmoscopia indireta⁵ sob midríase obtida 30 minutos após instilação de tropicamida⁶ 1%.

Os animais foram submetidos a quarentena mínima de 45 dias, período em que receberam vermifugação com praziquantel 50 mg, pamoato de pirantel 144 mg e febantel 150 mg⁷; imunização óctupla e anti-rábica⁸; prevenção contra ectoparasitos com fipronil⁹; contra ácaros com ivermectina¹⁰ 1% e contra hemoparasitos com dipropionato de imidocarb¹¹, nas doses preconizadas pela literatura. Após esse período, os animais foram orquiectomizados ou ovariosalpingohistectomizados para doação ao final do experimento.

Uma semana antes do início do experimento, foram realizados exames laboratoriais (hemograma, contagem de plaquetas e urinálise), que apresentaram resultados dentro do padrão da normalidade.

Inicialmente, foi realizado experimento “piloto” para averiguação da exeqüibilidade do projeto, acerto de técnicas e treinamento da equipe. Os resultados do experimento “piloto” não foram considerados.

¹ Teste de Lágrima de Schirmer Strips - Ophthalmos Ind. Com. Prod. Farmacêuticos Ltda.

² Fluoresceína Strips - Ophthalmos Ind. Com. Prod. Farmacêuticos Ltda.

³ KOWA® Portable Slit-Lamp SL-14

⁴ BIO-RAD, TONO-PEN™ XL TONOMETER

⁵ Oftalmoscópio Binocular Indireto NEITZ®, mod. IO-H

⁶ Mydracyl® 1% - Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.

⁷ Drontal Plus® – Bayer Produtos Veterinários S/A

⁸ Vanguard® HTLP 5/CV-L e Defensor® – Laboratórios Pfizer Ltda.

⁹ Frontline® Top Spot – Merial Saúde Animal Ltda.

¹⁰ Ivomec® – Merial Saúde Animal Ltda.

¹¹ Imizol® – Mallinckrodt Veterinária Ltda.

3.2 AMOSTRA

Os animais foram divididos por sorteio para minimizar os efeitos inerentes ao ato cirúrgico nos resultados das avaliações bioquímicas. Primeiramente, sorteou-se a ordem em que os olhos de cada animal seriam submetidos à intervenção cirúrgica, dividindo os animais em dois conjuntos. O olho contralateral foi operado imediatamente após o término da primeira cirurgia. Posteriormente, sorteou-se o olho em que a LIO seria implantada, formando quatro subconjuntos.

Dessa maneira, doze olhos foram submetidos à facoemulsificação sem implante de LIO, caracterizando o Grupo 1 (AFÁCICOS) e doze olhos foram submetidos a facoemulsificação com implante de LIO, caracterizando o Grupo 2 (PSEUDOFÁCICOS). Um olho de cada indivíduo serviu de controle para o outro olho, caracterizando uma amostra dependente não probabilística intencional, conforme demonstrado no APÊNDICE A.

3.3 PROCEDIMENTOS PRÉ-OPERATÓRIOS

Os animais foram mantidos em canis individuais com acesso a solário e alimentados com ração comercial¹², 2 vezes ao dia, e água *ad libitum*.

¹² Friskies® Alpo – Nestlé S/A

Foram medicados no período pré-operatório conforme o seguinte protocolo:

- Prednisona¹³ por via oral, na dose de 1,0 mg/kg, a intervalos regulares de 24 horas, pela manhã, iniciando-se três dias antes da cirurgia;
- colírio à base de dexametasona 1 mg e cloranfenicol 5 mg¹⁴, nos dois olhos, 4 vezes ao dia, iniciando-se três dias antes da cirurgia;
- colírio à base de atropina 1% associado à fenilefrina¹⁵ 10%, nos dois olhos, 3 vezes ao dia, na véspera da cirurgia e 30 minutos antes do seu início.

3.4 PROTOCOLO ANESTESIOLOGICO

Após jejum alimentar de 12 horas, os animais foram pré-medicados com acepromazina¹⁶, na dose de 0,1 mg/kg, associada à meperidina¹⁷, na dose de 2 mg/kg, por via intramuscular. Após 20 minutos, foi realizada a indução anestésica com tiopental sódico¹⁸, na dose de 6 mg/kg, seguido por midazolam¹⁹, na dose de 0,5mg/kg, por via intravenosa. A manutenção anestésica foi realizada com halotano²⁰ vaporizado em oxigênio em circuito semifechado. A centralização do bulbo ocular foi obtida com o

¹³ Meticorten® – Indústria Química e Farmacêutica Schering-Plough S/A)

¹⁴ Dexafenicol® – Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda.

¹⁵ Ophthalmos Ind. Com. Prod. Farmacêuticos Ltda.

¹⁶ Acepran® 0,2% – Univet S/A Indústria Veterinária

¹⁷ Dolosal® 50 mg/2 ml – Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda

¹⁸ Thionembotal® 1 g – Abbott Laboratórios do Brasil Ltda.

¹⁹ Dormonid® 15 mg/3 ml – Produtos Roche Química e Farmacêutica S/A

²⁰ Halothane® – Laboratórios Wyeth-Whitehall Ltda.

uso do bloqueador neuromuscular brometo de pancurônio²¹, na dose de 0,03 mg/kg, por via endovenosa, assistida por ventilação controlada (10 ml O₂/kg/min).

3.5 TÉCNICA CIRÚRGICA

As cirurgias foram realizadas em centro cirúrgico, sob condições adequadas de assepsia, por um único cirurgião. Os cães foram colocados em decúbito dorsal, com ventroflexão do pescoço, de modo a permitir o procedimento cirúrgico na região superior do bulbo ocular.

Após anti-sepsia da região periocular com Polivinilpirrolidona Iodo (PVPI) diluído em solução salina (1:25) e preparo do campo cirúrgico, foi realizada cantotomia lateral e afastamento das pálpebras com blefarostato para melhor exposição do bulbo ocular. Com auxílio de microscópio cirúrgico²² foi realizada incisão córneo-corneana (*clear cornea*) de aproximadamente 3,2 mm na posição de 11 horas, a 2 mm do limbo, com bisturi crescente angular²³ de 3,2 mm de largura. Os olhos sorteados para implante da LIO foram demarcados externamente com um sulco de 7,2 mm antes de se realizar a incisão corneana.

Após extravasamento parcial do HA, a câmara anterior foi preenchida com uma combinação de substâncias viscoelásticas de acordo com a técnica *soft shell*

²¹ Pavulon® 2 mg/ml – Akzo Nobel Ltda./ Divisão Organon Teknika

²² M 900 – DF Vasconcelos S/A

²³ Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.

(ARSHINOFF, 1999). Primeiramente, injetou-se 0,35 ml de sulfato sódico de condroitina 4% e hialuronato de sódio²⁴ 3% próximo ao endotélio corneano, para sua proteção e, logo abaixo, injetou-se 0,3 ml de hialuronato de sódio²⁵ 1% para garantir um espaço adequado para a manipulação cirúrgica.

Para irrigação, foi utilizada solução salina balanceada²⁶ associada ao cloridrato de adrenalina²⁷ (1 ml para cada 250 ml de BSS[®]), para manutenção da midríase per-operatória.

A capsulorrexe foi realizada com auxílio de cystíftimo e pinça de Ultrata. Em seguida, fez-se a introdução da caneta de facoemulsificação *standard*[®] na câmara anterior para irrigação, aspiração e emulsificação do cristalino com o facoemulsificador Universal[®] II²⁸, pela técnica de emulsificação do cristalino por inteiro (“tigela”). Os parâmetros do aparelho foram mantidos relativamente constantes em função da semelhança entre os cristalinos. O limite de vácuo utilizado foi de 149 mmHg, o fluxo de aspiração, de 26 cc/min, a potência ultra-sônica, de 60%, e a altura da garrafa foi de 75 cm em relação à cabeça do animal.

Após aspiração cuidadosa de todos os restos corticais do cristalino, os olhos que receberam a LIO (Grupo 2) tiveram a incisão corneana ampliada para 7,0 mm, e as substâncias viscoelásticas foram novamente injetadas. Nessa etapa, primeiro injetou-se 0,25 ml de hialuronato de sódio²⁵ 1%, seguido de 0,15 ml de sulfato sódico de condroitina 4% e hialuronato de sódio²⁴ 3%, injetado no centro do primeiro

²⁴ Viscoat[®] – Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.

²⁵ Provisc[®] – Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.

²⁶ BSS[®] – Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.

²⁷ Solução de Adrenalina[®] 1:1000 – Química Farmacêutica Gaspar Viana S/A

²⁸ Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.

viscoelástico, no sentido do saco capsular até a incisão corneana, de forma a facilitar a introdução da lente.

As LIOs foram enxaguadas com BSS[®] e inspecionadas sob magnificação do microscópio cirúrgico para descartar qualquer impropriedade. A colocação dentro do saco capsular foi realizada com pinça McPherson. Uma pinça auxiliar foi utilizada para manter a lente posicionada durante a introdução da segunda alça.

As lentes²⁹ eram constituídas de três peças, com zona óptica de polimetilmetacrilato (PMMA), e alças de polipropileno³⁰ em formato de “J” modificado e angulação de 10°, biconvexas, com poder dióptrico de +41 D, com dois furos de posicionamento, comprimento total de 15 mm e zona óptica de 7 mm, confeccionadas sob encomenda. Após a introdução da lente no saco capsular, suas alças foram giradas até a posição de 3 e 9 horas. As substâncias viscoelásticas foram cuidadosamente aspiradas para remoção da maior quantidade possível.

A sutura corneana foi realizada com fio inabsorvível mononylon 9-0³¹ e a cantorrafia, com fio de seda 4-0³¹, ambas utilizando pontos simples interrompidos.

Ao final de cada procedimento cirúrgico, injetou-se 0,4 ml de dexametasona³² 0,2%, por via subconjuntival, para controle da inflamação, e cloridrato de tramadol³³, na dose de 2 mg/kg, por via intramuscular, para alívio do desconforto no pós-operatório imediato.

²⁹ Modelo SK-72E; Lote K0116525 – Mediphacos Ltda.

³⁰ Prolene[®] – Ethicon[®]/ Johnson & Johnson Produtos Profissionais Ltda.

³¹ Ethicon[®] – Johnson & Johnson Produtos Profissionais Ltda.

³² Azium[®] – Indústria Química e Farmacêutica Schering-Plough Veterinária S/A

³³ Tramal[®] 50 mg/ml – Carlo Erba S/A

3.6 PROCEDIMENTOS PÓS-OPERATÓRIOS

Os animais operados foram mantidos com colar elizabetano durante todo o período pós-operatório, e submetidos a exames oftalmológicos diariamente.

A limpeza das pálpebras foi realizada com soro fisiológico, 2 vezes ao dia, e a medicação pós-operatória obedeceu ao seguinte protocolo:

- Prednisona¹³ por via oral, na dose de 1 mg/kg a cada 24 horas, pela manhã por 14 dias; em seguida de 0,5 mg/kg a cada 24 horas, por 7 dias, e 0,5 mg/kg a cada 48 horas, por mais 14 dias;
- colírio à base de dexametasona 1 mg e cloranfenicol¹⁴ 5 mg, nos dois olhos, 6 vezes ao dia na 1ª semana, 5 vezes ao dia na 2ª semana, 4 vezes ao dia na 3ª semana, 3 vezes ao dia na 4ª semana, e 2 vezes ao dia na 5ª semana;
- colírio à base de sulfato de atropina³⁴ 1%, nos dois olhos, 2 vezes ao dia, nos dois primeiros dias após a cirurgia;
- colírio à base de tropicamida⁶ 1%, nos dois olhos, 2 vezes ao dia na 1ª semana (iniciando a partir do 3º dia do pós-operatório), seguido de 1 vez ao dia na 2ª e 3ª semanas.

³⁴ Atropina® 1% – Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda.

3.7 COLHEITA DE AMOSTRAS DE HUMOR AQUOSO E SANGUE

As amostras do HA dos dois olhos foram colhidas com o auxílio de seringa de insulina, sem anticoagulantes ou conservantes, por paracentese da câmara anterior, com a utilização de microscópio cirúrgico, no período pré-operatório, uma semana antes do procedimento cirúrgico (T0) e no pós-operatório com 1 dia (T1), 2 dias (T2), 3 dias (T3), 7 dias (T7) e 14 dias (T14) decorridos da intervenção cirúrgica.

As amostras de sangue venoso foram colhidas por venopunção da safena, com uso de heparina³⁵, nos mesmos períodos.

Todas as colheitas foram realizadas com os cães em jejum de 12 horas e sob anestesia geral (acepromazina¹⁶ e meperidina¹⁷ por via intramuscular; em seguida, tiopental sódico¹⁸ e midazolam¹⁹ por via endovenosa, nas mesmas doses utilizadas para a cirurgia).

As amostras foram imediatamente acomodadas em tubos de Eppendorf (0,5 ml de HA) e tubos de ensaio heparinizados (10 ml de sangue), sob refrigeração, e transportadas até o Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. A avaliação da atividade antioxidante total do HA foi realizada imediatamente, enquanto as demais avaliações

³⁵ Heparina® Sódica 1 ml:5.000 IU – Organon Teknika Ltda

bioquímicas foram realizadas de acordo com a rotina do laboratório, ficando estocadas à temperatura de -80°C até o momento do processamento.

3.8 PARÂMETROS INDICADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo foi avaliado por três parâmetros, sendo eles: a determinação quantitativa das proteínas totais no HA; a avaliação da atividade antioxidante total do HA; e a avaliação da concentração de ácido ascórbico no HA e no plasma.

3.8.1 Determinação de proteínas totais no HA

A determinação quantitativa de proteínas no HA foi realizada com auxílio de espectrofotômetro³⁶, pelo método de Lowry (LOWRY et al., 1951).

3.8.2 Avaliação da atividade antioxidante total do HÁ

Para avaliação da atividade antioxidante total do HA, foi destinada uma fração das amostras para a determinação da sua atividade antioxidante total. O método

³⁶ Incibrás MF 200 UV VIS

escolhido utilizou o AAPH, cloreto de 2,2'-azobis (2-metilamidinopropano), que em solução aquosa produz radicais peroxila, os quais são detectados por emissão de quimiluminescência, em contador de cintilação³⁷. O sinal dessa quimiluminescência foi amplificado pela adição de luminol e, depois, inibido pelos antioxidantes presentes no meio (WAYNER, 1985).

3.8.3 Avaliação da concentração de ácido ascórbico no HA e plasma

A medida da concentração de ácido ascórbico no HA e no plasma foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) após extração em ácido metafosfórico 10%, centrifugação e detecção espectrofotométrica em comprimento de onda de 254 nm (WAYNER; BURTON, 1989).

O sistema cromatográfico foi composto de bomba Consta Metric 3200, com detector espectrofotométrico Waters³⁸ em comprimento de onda de 254 nm e coluna Waters³⁹. A fase móvel utilizada foi composta de ácido metafosfórico 0,2% em água com fluxo de 0,7 ml/min.

As amostras foram desproteinizadas com ácido metafosfórico 10%, diluídas com fase móvel e filtradas em membrana de acetato de celulose⁴⁰ 0,22 µm. As

³⁷ Liquid Scintillation Analyser, Tri-Carb® 1900 TR

³⁸ Modelo 481-LC.

³⁹ C18 (3,9 X 300 nm) 125 Å, 10 µm.

⁴⁰ Costar 8161.

⁴¹ Sigma Ultra – Sigma®.

concentrações foram calculadas a partir de uma curva padrão determinada pela diluição de ácido ascórbico comercial⁴¹.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SPSS for Windows 9.01. Após a verificação da normalidade na distribuição dos dados, a comparação dos resultados entre os dois olhos de cada animal foi realizada pelo teste *t* de Student para amostras pareadas, quando as variáveis apresentaram distribuição normal, e pelo teste de Wilcoxon, quando não houve distribuição normal, com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

Os resultados individuais de todos os animais, em cada tempo avaliado, a saber, T0 (pré-operatório), T1 (1 dia), T2 (2 dias), T3 (3 dias), T7 (7 dias) e T14 (14 dias) decorridos da cirurgia, correspondente a cada parâmetro, para as mensurações realizadas no HA, estão representados nos APÊNDICES B, C e D, distribuídos segundo a variável independente, qualitativa, dicotômica, do presente estudo, que é a ausência ou presença de LIO. As concentrações de ácido ascórbico no plasma, de todos os animais, nos tempos T0, T1, T2, T3, T7 e T14, encontram-se no APÊNDICE E.

As medianas e seus respectivos intervalos interquartis de cada tempo avaliado, para cada uma das avaliações bioquímicas no HA, nos Grupos 1 (**AFÁCICOS**) e 2 (**PSEUDOFÁCICOS**) estão apresentados nas tabelas 1, 2, e 3; e representados graficamente em diagrama de blocos (Figuras 1, 2 e 3). As medianas e respectivos intervalos interquartis da concentração de ácido ascórbico no plasma estão apresentados na tabela 4 e representados graficamente na figura 3.

A comparação dos resultados obtidos em cada grupo foi realizada pelo teste *t* de Student para amostras pareadas nos tempos T0 e T14 na determinação das proteínas totais do HA; T0, T1, T2, T3, T7 e T14 na avaliação da atividade antioxidante total do HA; e T0, T1, T2, T3 e T14 na avaliação da concentração de ácido ascórbico no HA, quando as variáveis apresentaram distribuição normal.

Quando as variáveis não apresentaram distribuição normal, o que correspondeu aos tempos T1, T2, T3 e T7 na determinação das proteínas totais do HA; e T7 na avaliação da concentração de ácido ascórbico no HA, foi aplicado o teste de Wilcoxon. O resultado das análises estatísticas na comparação entre os grupos, em cada tempo avaliado, revelou diferença estatisticamente significativa em relação aos três parâmetros bioquímicos em quase todos os tempos pós-operatórios avaliados (T1, T2, T3, T7 e T14), conforme detalhado a seguir, enquanto no tempo pré-operatório (T0) não houve nenhuma diferença. As comparações com nível descritivo menor que 0,05 (valor $p < 0,05$) foram consideradas estatisticamente significantes (Tabelas 1, 2 e 3).

O tempo médio dispendido no procedimento cirúrgico, a contar do momento da incisão até a sutura corneana, foi de 17,42 min para o Grupo 1 e de 29,25 min para o Grupo 2, conforme representado no APÊNDICE F.

O tempo médio de ultra-som utilizado na facoemulsificação foi semelhante nos Grupos 1 e 2, correspondendo a 200,5 seg no grupo de olhos afácicos e 199 seg no grupo de olhos pseudofácicos, conforme representado no APÊNDICE G. A potência ultra-sônica usada foi de 60%. O consumo médio de solução salina balanceada foi de 350 ml por olho nos dois grupos.

Todos os cães apresentaram um pós-operatório sem intercorrências, correspondendo às expectativas propostas na metodologia, e evoluíram satisfatoriamente até o final do período de observação, com sua função visual preservada. Nos animais 1, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11 e 12, a LIO apresentou algum nível de descentração pela falta de suporte para suas alças dentro do saco capsular, o que, no entanto, não ocasionou maiores complicações no pós-operatório. Embora descentrada, boa parte de sua zona óptica correspondia ao eixo visual.

4.1 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS NO HA

Ocorreu um aumento quantitativo nos níveis de proteína total no HA nos Grupos 1 e 2 no período pós-operatório, sendo mais evidente nas primeiras 72 horas após a cirurgia. Observou-se um aumento significativo nas primeiras 24 horas, seguido de um declínio gradativo nos tempos subsequêntes, tendendo à normalidade, sem, entretanto, retornar aos valores basais até o 14^o dia do pós-operatório.

A dinâmica da concentração de proteínas foi semelhante nos dois grupos, embora o Grupo 2 tenha revelado resultados estatisticamente mais elevados em todos os tempos pós-operatórios. Os resultados foram expressos em gramas (g) de proteína por litro (L) de humor aquoso (APÊNDICE B), em valores de mediana e respectivos intervalos interquartis (Tabela 1) e representados graficamente em diagrama de blocos (Figura 1).

Os níveis de proteína total no HA, que no T0 ($p= 0,655$) não apresentavam diferença estatisticamente significativa na comparação entre os grupos, aumentaram mais acentuadamente no Grupo 2 em relação ao Grupo 1 em todos os tempos pós-operatórios T1 ($p= 0,004$); T2 ($p= 0,002$); T3 ($p= 0,004$); T7 ($p= 0,003$) e T14 ($p= 0,009$) com diferença estatisticamente significativa (Tabela 1), o que caracteriza uma inflamação mais acentuada, decorrente do procedimento cirúrgico, nos olhos que receberam o implante de LIO.

Tabela 1 - Nível descritivo do teste, mediana e valores de 1º e 3º quartis para distribuição dos dados da concentração de proteínas totais no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em g de proteína/L de humor aquoso)

Tempo	Valor p ^(◇)	Grupo 1 (AFÁCICOS)		Grupo 2 (PSEUDOFÁCICOS)	
		Mediana	1º – 3º Q	Mediana	1º – 3º Q
T0	0,655	0,37	0,29 – 0,50	0,39	0,25 – 0,59
T1	0,004	3,48	2,44 – 4,46	6,89	4,28 – 13,9
T2	0,002	1,91	1,38 – 3,37	4,20	3,48 – 6,68
T3	0,004	1,69	1,11 – 2,46	2,44	1,88 – 3,14
T7	0,003	0,76	0,52 – 1,21	1,37	1,06 – 1,97
T14	0,009	0,60	0,39 – 0,75	0,97	0,70 – 1,25

(◇) Teste *t* de Student para amostras pareadas nos tempos T0 e T14; e teste de Wicoxon nos tempos T1, T2, T3, T7

p = nível descritivo do teste (com intervalo de confiança de 95%)

Q = quartil

T0 = período pré-operatório

T1 = período pós-operatório de 1 dia

T2 = período pós-operatório de 2 dias

T3 = período pós-operatório de 3 dias

T7 = período pós-operatório de 7 dias

T14 = período pós-operatório de 14 dias

Figura 1 - Diagrama de blocos representando as concentrações de proteínas totais no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofáticos e afáticos, respectivamente (resultados expressos em g de proteína/L de humor aquoso)

(o) Valor aberrante (*outlier*): casos com resultados muito diferentes do padrão de distribuição da amostra, correspondendo a 1,5 a 3 caixas (intervalos interquartis) acima do limite superior ou inferior.

(*) Valor extremo: casos com resultados muito diferentes do padrão de distribuição da amostra, correspondendo a mais de 3 caixas (intervalos interquartis) acima do limite superior ou inferior.

OBSERVAÇÃO: No Grupo 2 (olhos pseudofáticos), no 1º dia do pós-operatório (T1), existe um valor aberrante, igual a 43,7g/L, que não está representado graficamente.

4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DO HA

Ocorreu uma diminuição no tempo de emissão de luz nos períodos pós-operatórios, caracterizando menor quantidade de antioxidantes no HA nos Grupos 1 e 2. A diminuição foi mais evidente no 1º dia após a cirurgia, seguida por um aumento gradativo, com dinâmica semelhante nos dois grupos; entretanto, o Grupo 2 mostrou resultados mais baixos em todos os tempos, exceto no 7º dia do pós-operatório, quando os resultados foram iguais. Os resultados foram expressos em minutos, em relação ao tempo de indução da quimioluminescência (APÊNDICE C), em valores de mediana e respectivos intervalos interquartis (Tabela 2) e representados graficamente em diagrama de blocos (Figura 2).

A atividade antioxidante total do HA, que no T0 ($p = 0,862$) não mostrava diferença estatisticamente significativa na comparação entre os grupos, apresentou uma diminuição mais evidente no Grupo 2 em relação ao Grupo 1, com diferença estatisticamente significativa nos tempos T1 ($p = 0,013$); T2 ($p = 0,016$); T3 ($p = 0,002$) e T14 ($p = 0,033$), enquanto no tempo T7 ($p = 0,155$) essa diferença não foi observada (Tabela 2). A diminuição de antioxidantes no HA após o procedimento cirúrgico mostrou-se mais evidente nos olhos que receberam o implante de LIO.

Tabela 2 - Nível descritivo do teste, mediana e valores de 1º e 3º quartis para distribuição dos dados da capacidade antioxidante total no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em minutos-tempo de indução)

Tempo	Valor p ^(◇)	Grupo 1 (AFÁCICOS)		Grupo 2 (PSEUDOFÁCICOS)	
		Mediana	1º – 3º Q	Mediana	1º – 3º Q
T0	0,862	61,50	52,75 – 71,75	67,00	50,75 – 71,50
T1	0,013	48,00	36,25 – 54,50	39,50	33,25 – 44,75
T2	0,016	49,50	42,50 – 62,75	45,50	35,75 – 50,75
T3	0,002	57,00	51,50 – 64,50	47,00	42,00 – 52,75
T7	0,155	47,50	39,00 – 62,00	47,50	43,25 – 51,75
T14	0,033	58,00	50,75 – 68,75	54,50	45,75 – 62,00

◇) Teste *t* de Student para amostras pareadas nos tempos T0, T1, T2, T3, T7 e T14

p = nível descritivo do teste (com intervalo de confiança de 95%)

Q = quartil

T0 = período pré-operatório

T1 = período pós-operatório de 1 dia

T2 = período pós-operatório de 2 dias

T3 = período pós-operatório de 3 dias

T7 = período pós-operatório de 7 dias

T14 = período pós-operatório de 14 dias

Figura 2 - Diagrama de blocos representando a capacidade antioxidante total no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofáticos e afáticos, respectivamente (resultados expressos em minutos-tempo de indução)

(o) Valor aberrante (*outlier*): casos com resultados muito diferentes do padrão de distribuição da amostra, correspondendo a 1,5 a 3 caixas (intervalos interquartis) acima do limite superior ou inferior.

4.3 CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO NO HA E NO PLASMA

Ocorreu uma diminuição acentuada na concentração de ácido ascórbico no humor aquoso no 1º dia do pós-operatório, seguido por um aumento progressivo nos dias subseqüentes nos Grupos 1 e 2. Todavia, o Grupo 2 mostrou resultados mais baixos, caracterizando o consumo aumentado de ácido ascórbico pelo meio devido à presença de maior quantidade de radicais livres. Os resultados foram expressos em μmol de ácido ascórbico/L de humor aquoso (APÊNDICE D), em valores de mediana e respectivos intervalos interquartis (Tabela 3) e representados graficamente em diagrama de blocos (Figura 3).

A concentração de ácido ascórbico, que no T0 ($p= 0,484$) não apresentava diferença estatisticamente significativa na comparação entre os grupos, apresentou uma diminuição mais evidente no Grupo 2 em relação ao Grupo 1, com diferença estatisticamente significativa nos tempos T1 ($p= 0,003$); T3 ($p= 0,015$); T7 ($p= 0,004$) e T14 ($p= 0,007$), enquanto no tempo T2 ($p= 0,051$) essa diferença não foi observada (Tabela 3).

A concentração de ácido ascórbico no plasma apresentou uma flutuação discreta durante todo o período de avaliação, com medianas entre 39,90 e 53,00 $\mu\text{mol/L}$ (Tabela 4), que podem ser observadas graficamente (Figura 3). Os resultados foram expressos em μmol de ácido ascórbico/L de plasma (APÊNDICE E).

Tabela 3 - Nível descritivo do teste, mediana e valores de 1º e 3º quartis para distribuição dos dados da concentração de ácido ascórbico no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em μmol de ácido ascórbico/L de humor aquoso)

Tempo	Valor $p^{(\diamond)}$	Grupo 1 (AFÁCICOS)		Grupo 2 (PSEUDOFÁCICOS)	
		Mediana	1º – 3º Q	Mediana	1º – 3º Q
T0	0,484	295,6	271,6 – 343,3	303,8	272,5 – 344,1
T1	0,003	182,1	151,4 – 215,0	138,7	120,9 – 163,3
T2	0,051	184,0	173,1 – 211,3	153,1	119,7 – 202,1
T3	0,015	227,9	171,2 – 248,8	180,7	140,6 – 214,1
T7	0,004	235,0	210,2 – 290,6	189,0	164,7 – 251,7
T14	0,007	250,2	186,6 – 306,9	216,8	170,5 – 257,2

$^{(\diamond)}$ Teste t de Student para amostras pareadas nos tempos T0, T1, T2, T3 e T14; e teste de Wilcoxon no tempo T7

p = nível descritivo do teste (com intervalo de confiança de 95%)

Q = quartil

T0 = período pré-operatório

T1 = período pós-operatório de 1 dia

T2 = período pós-operatório de 2 dias

T3 = período pós-operatório de 3 dias

T7 = período pós-operatório de 7 dias

T14 = período pós-operatório de 14 dias

Tabela 4 - Mediana e valores de 1º e 3º quartis para distribuição dos dados da concentração de ácido ascórbico no plasma de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular (resultados expressos em μmol de ácido ascórbico/L de plasma)

Tempo	Mediana	1º – 3º Q
T0	40,91	36,34 – 50,71
T1	40,24	33,30 – 43,97
T2	53,00	40,06 – 64,07
T3	46,74	34,20 – 51,78
T7	42,32	33,74 – 58,99
T14	39,90	30,58 – 46,30

Q = quartil

T0 = período pré-operatório

T1 = período pós-operatório de 1 dia

T2 = período pós-operatório de 2 dias

T3 = período pós-operatório de 3 dias

T7 = período pós-operatório de 7 dias

T14 = período pós-operatório de 14 dias

Figura 3 - Diagrama de blocos representando a concentração de ácido ascórbico no humor aquoso e no plasma de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, compondo os grupos pseudofáticos e afáticos, respectivamente (resultados expressos μmol de ácido ascórbico/L de humor aquoso ou plasma)

(o) Valor aberrante (*outlier*): casos com resultados muito diferentes do padrão de distribuição da amostra, correspondendo a 1,5 a 3 caixas (intervalos interquartis) acima do limite superior ou inferior.

5 DISCUSSÃO

Com o intuito de proporcionar resultados cada vez mais satisfatórios, a cirurgia de catarata vem sofrendo modificações na sua técnica ao longo dos anos. Aliados a essas modificações, novos equipamentos e produtos têm sido empregados na cirurgia, tais como os facoemulsificadores, o corante azul de tripano, novas substâncias viscoelásticas e as LIOs. Apesar de toda essa inovação tecnológica, a extração da catarata ocasiona um processo inflamatório, com produção de radicais livres capazes de causar lesão tecidual às estruturas intra-oculares. O mecanismo de lesão endotelial e os danos causados a outras estruturas oculares durante o procedimento cirúrgico têm sido relacionados à ação desses radicais livres (SHIMMURA et al., 1992). Por esse motivo, a realização deste trabalho propôs um estudo comparativo do estresse oxidativo após a facoemulsificação experimental em cães, com e sem a presença de uma LIO.

O implante da LIO no cão ainda é motivo de controvérsias, sendo necessária a realização de estudos adicionais, tanto para avaliar a necessidade do implante quanto suas possíveis complicações. O implante de LIO tem por objetivo restabelecer a emetropia ou uma baixa ametropia, evitando a redução drástica da acuidade visual, como se verifica nos pacientes humanos mantidos afácicos após a cirurgia de catarata. Por outro lado, por causa da ausência de visão foveal nos cães e por sua pequena capacidade acomodativa, a afacia torna-se muito menos debilitante do que em seres humanos (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997).

Embora proporcione ao paciente humano muitas vantagens, tendo causado uma revolução na cirurgia da catarata, as LIOs estão associadas com maior incidência de complicações pós-operatórias, comparativamente aos olhos operados sem implante, porque podem provocar uveíte crônica (MELTZER, 1980). A utilização de LIO também tem sido associada com o glaucoma secundário, com a motricidade limitada da íris por causa do mau posicionamento das alças, ou ainda, com a extrusão da lente (CLERC; TAPISSIER, 1989). Davidson et al. (1991), ao avaliarem 160 olhos com implante de LIO, observaram algumas complicações, tais como incidência de 15% de descentração da lente, 2,5% de localização da alça superior fora do saco capsular, e necessidade de remoção da lente em 2,5% dos olhos. Dez anos depois, o mesmo autor cita a qualidade do material utilizado na confecção da LIO, sua biocompatibilidade e a utilização de técnica cirúrgica adequada como fatores que contribuem para uma taxa de sucesso satisfatória, de modo que a LIO não represente risco adicional de complicações (DAVIDSON, 2001). Nasisse et al. (1991) não observaram alterações per-operatórias em 160 olhos submetidos ao implante de LIO, mas consideraram a importância da utilização das substâncias viscoelásticas para a colocação adequada do implante, de maneira menos traumática. Em nosso estudo, não observamos complicações inerentes ao implante da LIO no per-operatório, e a única complicação observada no pós-operatório, durante os 35 dias de observação, foi a descentração da lente em 75% dos olhos submetidos ao implante (nove em doze olhos). Um dos motivos para essa descentração pode ter sido o porte dos animais, com influência direta no tamanho do saco capsular, uma vez que os animais de menor porte utilizados no experimento não apresentaram descentração.

Ao considerar as características anatômicas e funcionais do olho do cão, é necessário saber se os benefícios proporcionados pelo implante da LIO superam as possíveis complicações per-operatórias e pós-operatórias, assim como se justificam o seu custo elevado (WILLIAMS; BOYDELL; LONG, 1996). Muitos cães orientam-se normalmente após a cirurgia de catarata sem o implante de LIO. Entretanto, alguns autores alegam uma melhoria na qualidade da visão quando uma LIO é implantada, em relação aos cães mantidos afácicos (DAVIDSON et al, 1991; NASISSE et al., 1991; WHITLEY et al., 1993). Ao final do período de observação do nosso estudo, aos 35 dias após a cirurgia, todos os animais apresentaram visão satisfatória nos dois olhos, mesmo naqueles mantidos afácicos, à avaliação subjetiva. Clinicamente, todos os olhos apresentavam condições semelhantes ao exame oftalmológico e evoluíram de forma favorável.

Segundo Glover e Constantinescu (1997), a acuidade visual do cão fático é estimada em aproximadamente 20/80, o que corresponderia a uma pessoa que vê a 20 pés (6 metros) o que uma outra pessoa com acuidade visual normal 20/20 veria a 80 pés (24 metros) de distância. Em cães afácicos, verifica-se uma hipermetropia de aproximadamente +14D, o que, em teoria, leva a uma redução da acuidade visual para menos de 20/800. No homem, a acuidade visual de 20/800 é classificada como visão subnormal, o que legalmente equivale a uma deficiência visual grave (sem visão útil), uma vez que isto impossibilita o indivíduo de realizar grande parte de suas atividades. Em contrapartida, essa observação não se aplica aos cães que, a despeito da afacia, são capazes de desenvolver suas atividades normalmente. Apesar da possibilidade de aferição objetiva da visão dos cães por meio de testes eletrofisiológicos, como potencial visual evocado (MURPHY et al, 1997), sua realização ainda não ocorre rotineiramente.

A visão dos cães é avaliada mais comumente de forma subjetiva (teste de ameaça, teste de movimento, locomoção em ambientes claros e escuros, e avaliação comportamental), o que pode induzir a erro. A retinoscopia pode avaliar se o olho está emétrope após o implante de LIO, porém não pode determinar se a qualidade da visão está melhorando com o uso da lente. Essa é uma questão cuja resposta continua sendo subjetiva na maioria dos casos reportados na literatura (DZIEZYC, 1990) e avaliados no dia-a-dia.

As cirurgias intra-oculares por si só desencadeiam uma resposta inflamatória que, dependendo da intensidade, pode comprometer o sucesso da cirurgia de catarata (NASISSE; DAVIDSON, 1999). Além disso, o contato da LIO, implantada no sulco ciliar, com a face posterior da íris em pacientes humanos pode levar a irritação uveal crônica, síndrome de dispersão pigmentar e glaucoma pigmentar, o que raramente ocorre quando a lente é implantada dentro do saco capsular (MASTROPASQUA; LOBEFALO; GALLENGA, 1994). Em cães, não foram descritas tais alterações, com exceção da irritação uveal crônica (NASISSE; GLOVER, 1997).

A necessidade de ampliar a incisão corneana para a passagem da LIO rígida de 7 mm após a facoemulsificação, como foi feito neste trabalho, contribui para o agravamento do processo inflamatório em relação aos procedimentos sem implante de LIO, o que pode ser minimizado pela utilização de LIOs dobráveis que possam ser implantadas pela incisão da facoemulsificação de até 3,2 mm.

Apesar de não haver uma importante ativação de complemento ou quimiotaxia de leucócitos associada à utilização de lentes de PMMA, uma reação celular geralmente ocorre na superfície da lente (GILGER; WHITLEY; McLAUGHLIN, 1993). O local da junção entre os diferentes tipos de materiais que compõem as lentes de três

peças torna-se mais propício ao acúmulo de células inflamatórias e debris em relação às lentes de peça única. Outra desvantagem das lentes de três peças com alças de polipropileno é o maior risco de descentração devido à grande flexibilidade das alças (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997), o que também pode ter contribuído para a ocorrência das descentrações observadas no nosso estudo.

O conhecimento dos materiais utilizados na confecção das LIOs e seu potencial em desencadear um processo inflamatório é importante na sua seleção. Existe uma vasta literatura na oftalmologia humana correlacionando os tipos de materiais e sua biocompatibilidade. Os critérios de avaliação incluem o processo inflamatório desencadeado pela cirurgia, o desenvolvimento de opacidade de cápsula posterior e a diminuição na contagem de células endoteliais da córnea (PANDE; SHAH; SPALTON, 1995; UMEZAWA; SHIMIZU, 1993; WERNER et al., 1997).

Carlson, Cameron e Lindstrom (1993) realizaram um estudo no qual compararam o processo inflamatório decorrente da utilização de lentes de silicone, hidrogel e polimetilmetacrilato no saco capsular após facoemulsificação em coelhos, por biomicroscopia com lâmpada de fenda, fluorofotometria e histopatologia. Todas as lentes foram bem toleradas e a inflamação clínica regrediu a partir da 4ª semana do pós-operatório. Os olhos com implante de lentes de hidrogel e silicone revelaram uma reação não granulomatosa crônica na região do limbo, que não foi observada nos olhos com lentes de PMMA; porém, não se pode estabelecer o significado clínico desse resultado. A fluorofotometria de segmento anterior mostrou uma quebra persistente da barreira hemato-aquosa com a utilização dos três tipos de lentes, consistindo em um método mais sensível na detecção da inflamação subclínica que persistiu após a cirurgia.

Poucos estudos foram realizados em cães para comparar a biocompatibilidade desses materiais, assim como para estabelecer as possíveis complicações que decorrem do implante da LIO. Gilger et al. (1993) realizaram um estudo experimental prospectivo, com implante de LIOs de polimetilmetacrilato, poliidroxiethylmetacrilato e silicone na câmara anterior de quinze cães, com ancoragem no limbo, para comparar a intensidade de inflamação, espessura corneana, irritação uveal e edema corneano induzido pelos três diferentes tipos de materiais. Nos olhos contralaterais, foi realizado o mesmo procedimento cirúrgico, sem implante de LIO, para servir como controle. Os olhos pseudofácicos desenvolveram uma inflamação de intensidade média, com presença de *flare* e edema corneano, de forma mais acentuada, embora transitória, comparativamente aos olhos mantidos afácicos. Os olhos que receberam as lentes de poliidroxiethylmetacrilato apresentaram maior irritação uveal e um aumento na concentração de proteínas no HA, em relação aos olhos com lentes de PMMA e silicone. Todavia, além do fato de ter utilizado uma amostra pequena (apenas cinco animais por grupo), o implante da LIO na câmara anterior e a sutura para sua fixação podem ter contribuído significativamente para a indução de um processo inflamatório mais acentuado do que se a LIO tivesse sido implantada no saco capsular, como foi realizado no nosso estudo.

A opção pela cirurgia de forma bilateral baseou-se no fato de que a cirurgia não constitui procedimento mutilante, que impede a visão ou causa grande desconforto no pós-operatório. Isto possibilitou a utilização de um número menor de animais, além de informações mais fidedignas quanto aos parâmetros avaliados, uma vez que um olho serviu de controle para o outro em um mesmo animal, evitando variações que poderiam decorrer da comparação entre indivíduos diferentes. Isso pode ser verificado pelo

tempo de ultra-som dispendido para a realização da facoemulsificação (APÊNDICE F) nos dois grupos, que foi bem semelhante, com média de 200,50 seg para o Grupo 1 (AFÁCICOS) e 199 seg para o Grupo 2 (PSEUDOFÁCICOS). Uma vez que o poder de ultra-som e o tempo de sua utilização são importantes fatores determinantes do estresse oxidativo, era imprescindível formar dois grupos homogêneos e comparáveis entre si, o que foi favorecido pela comparação entre os dois olhos do mesmo indivíduo. A potência máxima de ultra-som foi de 60% em todos os olhos. O tempo de ultra-som variou bastante entre os animais, porém, variou discretamente entre os dois olhos de cada animal. Isso pode ser justificado pelo fato da consistência do cristalino ser semelhante nos dois olhos de um mesmo indivíduo sem catarata. O animal nº 6, com cerca de 5 anos de idade, requereu um tempo de ultra-som maior em decorrência de apresentar um cristalino mais denso, devido a ser o animal mais velho utilizado no experimento; o que, entretanto, não ocasionou resultados fora do padrão obtido no experimento. Embora todos os cães fossem adultos jovens, os animais mais jovens apresentaram maior facilidade na emulsificação do cristalino, com menor necessidade de utilização do estágio de facoemulsificação. É importante ressaltar que o cristalino do cão é maior e mais denso do que o cristalino do homem, o que justifica a utilização de mais tempo de ultra-som do que geralmente é observado na oftalmologia humana.

A LIO foi escolhida de acordo com os critérios preconizados pela literatura. As lentes foram confeccionadas sob encomenda pela empresa Mediphacos[®] Ltda, em razão da dificuldade de sua obtenção no país à época do experimento.

A metodologia empregada seguiu o que é proposto na literatura para cirurgia de catarata em cães, visando reproduzir, da melhor maneira possível, o que ocorre na rotina clínico-cirúrgica. A escolha de animais sem catarata deveu-se ao fato da

dificuldade em se obter animais com catarata num mesmo estágio evolutivo nos dois olhos, assim como formar grupos de animais com catarata homogêneos e comparáveis. Como a indicação mais apropriada para a facoemulsificação é a cirurgia em cataratas imaturas, com núcleos menos densos, o que foi realizado no nosso estudo com cristalinos transparentes não difere enormemente dos casos da rotina.

O cão foi escolhido como modelo experimental por corresponder à espécie mais acometida de catarata dentre os animais domésticos. Apesar da facoemulsificação poder ser empregada em outras espécies, os procedimentos, em sua maioria, são realizados nos cães. Por ter utilizado o cão como modelo experimental, os resultados obtidos neste estudo podem ser transpostos diretamente para a nossa realidade clínica, o que não ocorreria se tivéssemos optado por trabalhar com animais de laboratório. Os cães foram selecionados de acordo com os critérios de inclusão já mencionados, mas principalmente de acordo com um temperamento que permitisse a manipulação, a medicação e a higienização. O cão mostrou-se um bom modelo para esse tipo de experimento por causa da cooperação e docilidade dos animais utilizados; entretanto, cuidar desses animais demandou grande esforço e dedicação, além de um custo elevado com ração e materiais de consumo.

O protocolo medicamentoso utilizado nos períodos pré-operatório e pós-operatório baseou-se na literatura e na experiência do nosso grupo, visando minimizar o desconforto dos animais e reproduzir da melhor forma possível o que se realiza em pacientes com catarata. Utilizamos medicação à base de antibióticos, antiinflamatórios (tópico e sistêmico) e midriáticos. No pré-operatório, os midriáticos tiveram a finalidade de propiciar o acesso cirúrgico ao cristalino; e no período pós-operatório, a finalidade de evitar a formação de sinéquias, o que poderia comprometer os resultados visuais e a

dinâmica do HA. A partir do 3º dia do pós-operatório, a atropina foi substituída por tropicamida, a exemplo do que se realiza em crianças; por ser menos potente e ter uma duração menor em relação a atropina, a tropicamida é capaz de promover uma midríase satisfatória e de curta duração, exercitando a íris, de modo a evitar a formação de sinéquias. Comparando os resultados clínicos desse procedimento com o que foi realizado no projeto piloto, quando só utilizamos a tropicamida, pudemos observar uma melhora significativa na motricidade da íris em todos os animais do experimento, ao final do período de observação (35º dia pós-operatório).

O protocolo anestesiológico foi adequado à metodologia proposta, e a utilização do bloqueador neuromuscular (brometo de pancurônio) na metade da dose preconizada possibilitou uma boa centralização do bulbo ocular, por tempo adequado ao procedimento, com segurança satisfatória. Poucos animais apresentaram apnéia com o uso do bloqueador neuromuscular, tendo sido mantidos sob ventilação controlada.

Apenas a partir de 1969 os radicais livres ganharam a atenção dos biomédicos, quando foi demonstrado haver a geração de EROs altamente tóxicas para as células a partir de reações enzimáticas, bem como a existência de mecanismos antioxidantes endógenos capazes de neutralizar a ação dos radicais livres formados pelo metabolismo oxidativo. Quando a produção de radicais livres ou EROs predominam em relação às defesas antioxidantes instala-se o estresse oxidativo (SIES, 1986). Existem vários estudos em oftalmologia associando a resposta inflamatória ocular à condição de estresse oxidativo (RAO et al., 1987; ROSE; RICHER; BODE, 1998). Vários fatores podem contribuir para a geração de EROs, incluindo os procedimentos cirúrgicos intra-oculares, com destaque especial para a facoemulsificação. Já se sabe que existe uma

correlação entre o poder de ultra-som do facoemulsificador e a quantidade de radicais livres formados (HOLST et al., 1993).

Muitos estudos correlacionam a produção de radicais livres ou EROs à catarata (VARMA et al., 1984; VARMA; RICHARDS, 1988) e à realização da facoemulsificação (CAMERON; POYER; AUST, 2001; HOLST et al., 1993; JUROWISKI et al., 2000; JUROWISKI; GOS, 2000; SHIMMURA et al., 1992). Outros estudos sugerem a atuação de antioxidantes na proteção contra os danos causados pelo estresse oxidativo no olho (BARROS et al., 1999; ROBERTSON; DONNER; TREVITHICK, 1991; VARMA; SRIVASTAVA; RICHARDS, 1982). Em função da variedade de reações químicas levadas a efeito durante o metabolismo celular aeróbico, com produção de vários compostos distintos, os estudos disponíveis na literatura utilizam marcadores bem diversificados para avaliação do estresse oxidativo (MAYNE, 2003). Alia-se a isso o fato de as EROs e os radicais livres constituírem moléculas altamente instáveis e de difícil detecção laboratorial. Apesar da diversidade de metodologias, os estudos que avaliaram a geração de radicais livres após a cirurgia de catarata concordam com o fato de que a facoemulsificação contribui diretamente para a produção de EROs ou radicais livres.

JUROWISKI et al., 2000 avaliaram a concentração de óxido nítrico no HA de coelhos, por fluorometria, em condições fisiológicas e após a cirurgia de catarata com e sem implante de LIO acrílica dobrável. As concentrações mais elevadas de óxido nítrico no HA foram observadas após a facoemulsificação, tanto no grupo de olhos pseudofácicos quanto nos afácicos, em comparação com o grupo controle. Nos olhos

submetidos à técnica de extração extracapsular, as concentrações de óxido nítrico foram menos elevadas.

Cameron et al. (2001) reproduziram condições semelhantes à facoemulsificação para detectar, identificar e quantificar os radicais livres produzidos por meio de ressonância paramagnética eletrônica. Apenas o radical hidroxila foi identificado sob as condições apresentadas no experimento e sua concentração foi diretamente proporcional ao tempo de facoemulsificação. No mesmo estudo, a utilização de BSS Plus^{®1} propiciou uma redução de 21% na formação do radical hidroxila em relação ao uso de BSS^{®1}, que usa acetato e citrato como solução tampão. O BSS plus[®] difere do BSS[®] porque sua composição contém glutatona, glicose e bicarbonato de sódio como solução tampão.

Shimmura et al. (1992) sugeriram o envolvimento de EROs após a facoemulsificação em condições experimentais, através da avaliação por meio de quimioluminescência e ensaios espectrofotométricos que utilizaram o citocromo C.

A câmara anterior do bulbo ocular representa um compartimento onde as reações oxidativas são desencadeadas em decorrência de estímulos exógenos (luz, radiação, cirurgia) e endógenos (inflamação, enfermidades), com geração de EROs que podem causar danos às estruturas oculares. Acredita-se que os tecidos avasculares, tais como córnea, cristalino e trabeculado, sejam os principais alvos da ação prejudicial do radical ânion superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio gerados (MARTÍN-ALONSO; GHOSH; COCA-PRADOS, 1993). O HA tem um papel importante na proteção das estruturas oculares contra o estresse oxidativo, por apresentar em sua

¹ Solução salina balanceada (Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.)

composição vários compostos antioxidantes e por atuar como um filtro para a radiação ultravioleta (REDDY et al., 1998; RINGVOLD, 1996).

Em nosso estudo, avaliamos o estresse oxidativo gerado após a facoemulsificação, propondo uma comparação entre os olhos afácicos e os pseudofácicos, uma vez que a técnica cirúrgica foi idêntica para os dois olhos, salvo pela a ampliação da incisão corneana, necessária ao implante da LIO utilizada no Grupo 2. A escolha dos métodos bioquímicos utilizados para a avaliação do estresse oxidativo baseou-se em trabalhos anteriores do nosso grupo e na vasta literatura existente sobre radicais livres e antioxidantes.

A concentração de proteínas totais no HA relaciona-se com as EROs, pois durante o processo inflamatório que sucede os procedimentos cirúrgicos, o aumento de permeabilidade é responsável pela exsudação de proteínas, cujos níveis podem ser medidos por técnicas espectrofotométricas. A presença de proteínas no HA reflete a intensidade da inflamação, com presença de células inflamatórias que contribuem para a produção de mais EROs com conseqüente consumo de antioxidantes do meio, o que contribui para a instalação do estresse oxidativo. A determinação dos níveis de proteínas totais do HA possibilitou um seguimento do pós-operatório, mostrando um aumento quantitativo acentuado no 1º dia do pós-operatório, seguido por um declínio gradativo nos tempos de avaliação subseqüentes, tendendo à normalidade no último tempo de avaliação. Como aos 14 dias do pós-operatório a concentração de proteínas já tinha atingido valores próximos aos basais, podemos supor que, se tivéssemos realizado outra avaliação aos 21 dias, esses níveis provavelmente teriam alcançado a normalidade, considerando a evolução dos resultados. O grupo de olhos pseudofácicos mostrou resultados significativamente mais elevados em todos os tempos pós-

operatórios, o que nos permite sugerir que a LIO representa um fator causador ou perpetuador do processo inflamatório iniciado a partir do ato cirúrgico. O método de Lowry (LOWRY et al., 1951) foi utilizado para esse fim, por ser um método muito eficaz e consagrado na literatura.

A avaliação da capacidade antioxidante total do HA, empregando-se o AAPH, cloreto de 2,2'-azobis (2-metilamidinopropano), como gerador de radicais peroxila, num sistema químico controlado, constitui técnica amplamente preconizada na literatura (WAYNER, 1985). A decomposição térmica de uma solução aquosa de AAPH gera espontaneamente radicais peroxila em fluxo constante, com emissão de quimioluminescência que pode ser quantificada em contador de cintilação. Antioxidantes adicionados ao meio de reação, como, por exemplo, aqueles presentes no HA, promovem uma diminuição significativa dessa emissão, por consumo dos radicais livres formados, que volta a aumentar após o seu consumo total. O tempo decorrido entre a adição do HA e a elevação da quimioluminescência varia de acordo com a concentração de antioxidantes. Quanto mais antioxidantes estiverem presentes no fluido biológico maior será o tempo para retorno de emissão de luz. Assim, por meio dessa medida, tem-se uma estimativa, de forma indireta, das variações das quantidades de antioxidantes totais presentes na amostra. No presente estudo, esse parâmetro serviu para demonstrar a diminuição na quantidade de antioxidantes presentes no HA após a cirurgia, pela observação da diminuição no tempo de emissão de luz. Pode-se especular que a diminuição desses antioxidantes tenha ocorrido secundariamente ao aumento da demanda devido à produção de EROs. Nos olhos pseudofácicos, o consumo dos antioxidantes foi mais evidente em quase todos os tempos pós-operatórios, exceto no 7^o dia. Isso nos faz crer que a produção de EROs foi

mais importante nos olhos nos quais a LIO foi implantada. Exceto pelo tempo T3 do Grupo 1 (AFÁCICOS), a concentração de antioxidantes sofreu uma queda acentuada no 1º dia do pós-operatório, seguida por um aumento gradativo, atingindo quase a normalidade ao término das avaliações, caracterizando uma recuperação gradativa nas concentrações de antioxidantes com o passar dos dias. No entanto, como se trata de uma estimativa indireta para avaliação do estresse oxidativo, não é possível afirmar se essa recuperação ocorreu por um aumento na produção dos antioxidantes ou uma diminuição na formação de EROs. De uma forma ou de outra, pode-se sugerir que houve diminuição do estresse oxidativo.

A avaliação dos níveis de ácido ascórbico no HA e no plasma também permitiu um acompanhamento do pós-operatório. O ácido ascórbico foi escolhido como parâmetro de avaliação pela sua alta concentração no HA, além de sua participação em várias reações químicas, com atuação sobre as EROs e os radicais livres (ROSE; RICHER; BODE, 1998). As análises foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) por constituir técnica rápida e segura (WAYNER; BURTON, 1989). A diminuição acentuada de ácido ascórbico observada no 1º dia do pós-operatório nos dois grupos pode ser justificada pelo processo inflamatório agudo desencadeado pela cirurgia, com produção de radicais livres e EROs, que colaboraram para um consumo aumentado de ácido ascórbico no meio. A partir do 2º dia do pós-operatório, as concentrações de ácido ascórbico foram aumentando progressivamente, à medida que a inflamação foi sendo controlada e a demanda de antioxidantes no HA foi declinando. Os dois grupos apresentaram algum grau de recuperação dos níveis de ácido ascórbico no 14º dia de avaliação pós-operatória, sem, entretanto, atingir os valores basais observados no pré-operatório.

A concentração de ácido ascórbico no plasma foi realizada como uma tentativa de observar correlação entre seus níveis e os do HA. As flutuações sanguíneas foram discretas, compatíveis com a normalidade, não podendo ser relacionadas com os procedimentos cirúrgicos ou com a concentração de ácido ascórbico avaliada no HA.

Silva et al. (2000) realizaram trabalho semelhante em cães submetidos à facoemulsificação experimental, comparando a participação do estresse oxidativo por meio dos mesmos parâmetros utilizados no presente estudo, pela avaliação de amostras de HA no período pré-operatório e no pós-operatório aos 1, 2, 3, 7 e 15 dias. No seu experimento, apenas um olho de cada animal foi submetido à facoemulsificação; o outro olho funcionou como controle. Os animais não receberam medicação pré-operatória e pós-operatória, salvo midriáticos no pré-operatório para possibilitar o acesso cirúrgico ao cristalino. Os resultados das avaliações de ácido ascórbico e da atividade antioxidante total do HA indicaram um declínio em sua concentração em relação ao olho controle em todos os tempos avaliados, o que pode ser atribuído à diminuição das defesas antioxidantes após a cirurgia. Após 15 dias da cirurgia, todos os animais apresentavam um determinado grau de recuperação das defesas antioxidantes. O extravasamento de proteínas no HA aumentou após a cirurgia, com retorno à normalidade decorridos 7 dias da cirurgia. Vale comentar que diferentemente do que ocorreu no trabalho de Silva et al. (2000), em nosso estudo ainda observamos um aumento (discreto) nos níveis de proteínas aos 14 dias do pós-operatório nos dois grupos, a despeito de termos utilizado medicação antiinflamatória. Aos 14 dias de avaliação (T14), a concentração de proteínas encontrava-se próxima da normalidade, mas ainda não atingira os valores basais obtidos no período pré-operatório, mesmo nos olhos afácicos, que correspondiam à mesma condição proposta

por Silva et al. (2000). No campo da farmacologia, novas alternativas de protocolos medicamentosos para suprimir a inflamação decorrente das cirurgias intra-oculares em cães podem ser pesquisadas, apesar do amplo arsenal terapêutico já disponível.

Barros et al. (2000) avaliaram o estresse oxidativo do HA de 14 cães submetidos à extração extracapsular experimental do cristalino, pelos mesmos parâmetros utilizados no presente estudo. Na comparação com os olhos contralaterais (mantidos como controle), aos 1, 2, 3, 7 e 15 dias do pós-operatório, foi observado um aumento acentuado nos níveis de proteínas no HA no 1º dia do pós-operatório, seguido por um declínio que se normalizou no 7º dia. A capacidade antioxidante total do HA mostrou valores reduzidos até o 3º dia do pós-operatório, tendo se normalizado no 7º dia. As concentrações de ácido ascórbico no HA apresentaram uma diminuição importante no 1º dia após a cirurgia, seguidas por um aumento progressivo, atingindo a normalidade aos 15 dias pós-cirurgia. Ao considerar que a técnica utilizada foi a extração extracapsular, pelos resultados obtidos com o AAPH pode-se supor que o estresse oxidativo se mantenha por um tempo menor do que foi observado no presente estudo, quando notamos alterações nos parâmetros avaliados inclusive aos 14 dias do pós-operatório. A dinâmica de concentração do ácido ascórbico se mostrou semelhante àquela encontrada no presente estudo, exceto pelo fato de que, aos 14 dias, ainda observamos valores abaixo dos basais, embora já próximos à normalidade. Porém, o que chama mais a atenção no trabalho desenvolvido por Barros et al. (2000) é a normalização dos níveis de proteína total do HA aos 7 dias do pós-operatório, uma vez que não foi utilizada medicação antiinflamatória e sabe-se que a inflamação gerada pela extração extracapsular do cristalino é maior quando comparada com a facoemulsificação (CHEE et al., 1999; WILLIAMS; BOYDELL; LONG, 1996). No

presente estudo, não observamos o retorno dos valores de proteína total no HA aos valores basais em todas as mensurações avaliadas até o 14^o dia pós-operatório, embora na avaliação ao T14, os valores estivessem próximos a normalidade.

Laurell et al. (1997) observaram uma resposta inflamatória mais intensa, com significativa quebra da barreira hemato-aquosa, após a extração extracapsular convencional do cristalino, em comparação com a facoemulsificação, em trabalho experimental utilizando treze coelhos, com avaliações aos 1, 3, 7, 14 e 30 dias decorridos da cirurgia. Os níveis de prostaglandina E2, a concentração de proteínas totais e o edema corneano pós-operatório foram significativamente mais acentuados nos olhos submetidos à extração extracapsular do cristalino.

Padovani et al. (2000) avaliaram a inflamação ocular em dez cães submetidos experimentalmente à extração extracapsular do cristalino, comparando os níveis de ácido ascórbico no HA e o aspecto do olho operado aos 1, 2, 3, 7 e 15 dias do pós-operatório. Os resultados mostraram uma diminuição acentuada na concentração de ácido ascórbico no olho operado em relação ao olho controle em todos os animais avaliados, principalmente até o 3^o dia do pós-operatório. Na avaliação aos 15 dias decorridos da cirurgia, os níveis de ácido ascórbico apresentaram um grau de recuperação, à semelhança do que observamos no presente estudo, apesar da utilização de técnicas cirúrgicas diferentes e de os animais no estudo de Padovani et al. (2000) não terem recebido medicação antiinflamatória. No estudo de Padovani e seus colaboradores, os olhos operados apresentaram inflamação leve a moderada; entretanto, os olhos que apresentaram processo inflamatório mais intenso curiosamente não mostraram diminuição mais acentuada nos níveis de ácido ascórbico.

Em outro estudo, Padovani (2001) comparou os níveis de ácido ascórbico no HA de cães submetidos à facectomia experimental, pelas técnicas de facoemulsificação e extração extracapsular convencional, no período pré-operatório e no pós-operatório aos 1, 2, 3, 7 e 15 dias decorridos do procedimento cirúrgico. No seu experimento, os animais foram divididos em dois grupos, sendo 14 cães submetidos à técnica extracapsular convencional e 11 cães à facoemulsificação. O olho direito de todos os animais foi submetido ao procedimento cirúrgico e o olho esquerdo serviu como controle para as mensurações de ácido ascórbico no HA. Os animais não receberam medicação, salvo midriáticos no período pré-operatório. Ocorreu um declínio na concentração de ácido ascórbico nos olhos operados em relação aos olhos controle em todos os tempos pós-operatórios avaliados. Aos 15 dias da cirurgia, todos os animais apresentaram um determinado grau de recuperação na concentração de ácido ascórbico nos olhos operados, sem entretanto, retornar aos valores iniciais, obtidos no pré-operatório. Ambas as técnicas induziram diminuição na concentração de ácido ascórbico no olho operado, a qual foi mais duradoura na técnica extracapsular convencional. Entretanto, as análises estatísticas revelaram não haver diferença estatisticamente significativa ao longo do experimento em cada um dos grupos, quando comparado com os olhos controle, assim como na comparação entre os procedimentos (extracapsular convencional e facoemulsificação). Apesar de não ter havido diferença estatisticamente significativa na avaliação individual de cada resultado, observa-se que a dinâmica de seus resultados foi semelhante a obtida em nosso estudo, sugerindo a hipótese de haver uma diminuição das defesas antioxidantes após a remoção do cristalino.

Nesses trabalhos realizados por Barros et al. (2000), Padovani (2001); Padovani et al. (2000) e Silva et al. (2000), os resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão, o que não permite uma correlação direta dos valores obtidos com os nossos. Os resultados do presente estudo foram expressos em valores de mediana e intervalos interquartis devido a distribuição dos dados não apresentar normalidade em todos os tempos avaliados, de cada parâmetro bioquímico. Nos tempos T1, T2, T3 e T7 para avaliação das proteínas totais no HA; e no tempo T7 para concentração de ácido ascórbico no HA, as amostras apresentaram uma distribuição fora da normalidade, justificando a aplicação do teste de Wilcoxon, por serem amostras dependentes.

As colheitas pré-operatórias de HA do presente estudo, realizadas por paracentese de câmara anterior, foram realizadas uma semana antes da cirurgia, com o intuito de possibilitar a recuperação de um possível processo inflamatório desencadeado pela punção, até o momento da cirurgia. A paracentese pode resultar na alteração imediata da natureza do HA como consequência da ruptura da barreira hemato-aquosa (BLOGG; COLES, 1971). Entretanto, Hazel et al. (1985) consideraram que o aumento de proteínas, enzimas e células no HA em decorrência da paracentese é insignificante em comparação com as alterações observadas no HA de pacientes com doença ocular. As colheitas pós-operatórias foram realizadas nos dias 1, 2, 3, 7 e 14 após a cirurgia, à similaridade do que havia sido realizado por Barros et al. (2000), Padovani (2001); Padovani et al. (2000) e Silva et al. (2000). A paracentese de câmara anterior para colheitas de amostras de HA foi descrita por Hazel et al. (1985). Em nosso estudo, as punções foram executadas com auxílio de microscópio cirúrgico, de forma simples, rápida e segura, permitindo a obtenção de quantidade suficiente de HA (0,4 ml/olho) para a realização das análises bioquímicas propostas, sob anestesia geral.

Embora nenhuma complicação tenha decorrido da paracentese de câmara anterior, em alguns animais o volume de HA colhido no 1º dia do pós-operatório foi menor por causa da presença de fibrina na câmara anterior, a qual, obliterava o bisel da agulha de insulina, impossibilitando a aspiração adequada do HA. Mesmo assim, o volume obtido foi suficiente para a execução das avaliações bioquímicas propostas, sem comprometimento das análises.

Os resultados apresentados revelaram diferença estatisticamente significativa entre os procedimentos realizados. O implante de LIO ocasionou um processo inflamatório mais acentuado, com formação de maior quantidade de EROs e radicais livres, e subsequente decréscimo da concentração de antioxidantes no grupo de olhos pseudofácicos, havendo conformidade entre os três parâmetros bioquímicos utilizados. Das quinze comparações pós-operatórias realizadas, considerando-se os três parâmetros bioquímicos, apenas em duas delas não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, sendo no 7º dia do pós-operatório, considerando a capacidade antioxidante total do HA, e no 2º dia do pós-operatório, considerando as concentrações de ácido ascórbico no HA. Isso corrobora o fato de realmente haver diferença entre os procedimentos propostos, e de que a utilização da LIO contribui para um estresse oxidativo maior.

Uma questão importante refere-se ao tempo total dispendido nos procedimentos cirúrgicos, que apresentou uma média de 17,42 min no Grupo 1 (AFÁCICOS) e 29,25 min no Grupo 2 (PSEUDOFÁCICOS). O implante da LIO e a sutura corneana de uma incisão de 7 mm, realizada para a passagem da lente, contribuíram para que o procedimento fosse mais demorado no Grupo 2. Quanto maior a manipulação intra-ocular mais intensa é a inflamação pós-operatória. Acreditamos que esse fato possa ter

contribuído para a condição de estresse oxidativo mais acentuada nos olhos pseudofácicos, principalmente nas primeiras avaliações pós-operatórias (T1, T2 e T3).

A possibilidade de o implante de LIO contribuir de forma importante para a geração ou perpetuação do estresse oxidativo após a facoemulsificação não contraindica sua utilização. Pode-se especular sobre uma possível diminuição da diferença, encontrada entre os grupos, se tivéssemos realizado um acompanhamento maior. Segundo Kraff et al. (1980), a extração da catarata, com ou sem implante de LIO, está associada a uma quebra na barreira hemato-aquosa que pode persistir por até dois anos. Sendo assim, pode-se sugerir um estudo prospectivo, semelhante ao que realizamos, com acompanhamento a longo prazo. A avaliação poderia ser feita de forma não invasiva, como demonstrado por KROHNE et al. (1995), com uso de *flare*-fotometria a laser em cães, na qual a técnica se mostrou adequada na quantificação das proteínas no HA em pacientes normais e naqueles com uveíte e catarata. Esse exame consiste na quantificação de *flare* por meio de um laser acoplado a uma lâmpada de fenda, tendo sido aplicado na medicina para comparação da intensidade da reação inflamatória no HA após determinados procedimentos (ARAÚJO FILHO et al., 1998). A utilização dessa técnica dispensa a realização da paracentese da câmara anterior e a anestesia geral realizada no presente estudo; entretanto, requer sedação com duração média de 10 minutos, a fim de posicionar adequadamente a cabeça do animal, além de implicar custos mais elevados.

Diante de resultados que sugerem maior estresse oxidativo nos olhos pseudofácicos em relação aos afácicos após a facoemulsificação, estudos adicionais são necessários para que sejam definidas com precisão as conseqüências do implante de LIOs. Mesmo entre os autores que as utilizam rotineiramente há alguns anos, essa

dúvida permanece. Alguns fatores podem contribuir para uma visão deficiente após a extração da catarata, mesmo com transparência corneana, sendo eles: astigmatismo induzido pela incisão corneana, proliferação de células epiteliais do cristalino sobre a sua cápsula, com conseqüente opacificação no eixo visual, e a própria hiperopia ocasionada pela afacia.

Apesar de todo o conhecimento disponível na literatura sobre as LIOs para cães, é preciso ter bom senso para avaliar o custo-benefício da indicação do implante das lentes em cada caso específico, considerando inclusive o temperamento do animal e a dedicação do seu proprietário, uma vez que o implante de LIO tem custo elevado e pode apresentar complicações per-operatória e pós-operatória. Também se faz necessário o aperfeiçoamento das LIOs dobráveis para cães, a exemplo do que ocorre na oftalmologia humana. Não se justifica realizar a facoemulsificação por uma incisão pequena, para usufruir de todas as vantagens previamente discutidas, e precisar ampliá-la para se introduzir uma LIO de 7 mm, contribuindo para o agravamento do processo inflamatório e para a indução de um astigmatismo mais elevado.

Existe um longo caminho a percorrer para a compreensão do estresse oxidativo envolvido nas doenças oculares. O humor aquoso é rico em outros antioxidantes, tais como glutathione, alfa-tocoferol, carotenóides e ácido úrico, os quais, a exemplo do que observamos com o ácido ascórbico neste estudo, também atuam no combate aos radicais livres e às EROs. Estudos adicionais poderão avaliar o comportamento de outros antioxidantes no olho, assim como a ação dos radicais livres, contribuindo para o entendimento da patogênese de várias doenças oculares, o que contribuirá positivamente para o planejamento de estratégias terapêuticas que utilizam antioxidantes.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na pesquisa, na forma como foi realizada, permitem admitir que:

❖ A técnica de facoemulsificação induziu um processo inflamatório de intensidade variada nos dois grupos (AFÁDICOS E PSEUDOFÁDICOS), em todos os tempos pós-operatórios avaliados, sendo, entretanto, mais acentuado nos olhos com implante de lente intra-ocular.

❖ A concentração de ácido ascórbico no plasma não sofreu interferência dos procedimentos cirúrgicos e não acompanhou as variações observadas no HA.

❖ Os parâmetros bioquímicos utilizados se mostraram adequados na mensuração indireta do estresse oxidativo após a facoemulsificação.

❖ De acordo com todos os parâmetros empregados, observou-se determinado grau de recuperação ao final do período de avaliação, aos 14 dias.

❖ O implante da lente intra-ocular no saco capsular de cães submetidos à facoemulsificação contribuiu para a condição de estresse oxidativo quando comparado com os olhos mantidos afácicos.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, D. S. P. Antioxidantes. Conceitos básicos e perspectivas terapêuticas. **ARS CVRANDI – A Revista da Clínica Médica**, p. 141-164, nov./dez. 1993.

ARAÚJO FILHO, A.; BARROS, P. S. M.; MELLO, P. A. A.; MIYAKE, K.; BELFORT Jr., R. Estudo da inflamação ocular após a extração extracapsular do cristalino por meio da “flare”-fotometria a laser. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 61, n. 2, p. 168-171, 1998.

ARUOMA, O. I. Characterization of drugs as antioxidant prophylactics. **Free Radicals Biology and Medicine**, v. 20, n. 5, p. 675-705, 1996.

ARSHINOFF, S. A. Dispersive and cohesive viscoelastic materials in phacoemulsification. **Ophthalmic Practice**, v. 13, n. 3, p. 98-104, 1995.

ARSHINOFF, S. A. Dispersive-cohesive viscoelastic soft shell technique. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 25, n. 2, p. 167-173, 1999.

ASSIA, E. I.; YEHEZKEL, M.; EZOV, N.; TREISTER, G.; BLUMENTHAL, M. Experimental studies on viscofluids for intraocular surgery. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 24, p. 78-83, 1998.

BAGLEY, L. H.; LAVACH, J. D. Comparison of postoperative phacoemulsification results in dogs with and without *diabetes mellitus*: 153 cases (1991-1992). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 205, n. 8, p. 1165-1169, 1994.

BARRIE, K. P.; GELATT, K. N.; GUM, G. G. Effects of alpha chymotrypsin on the canine eye. **American Journal of Veterinary Research**, v. 43, p. 207-216, 1982.

BARROS, P. S. M. Cirurgia de catarata no cão. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v. 27, n. 2, p. 199-208, 1990.

BARROS, P. S. M. Free radicals and cataract. In: ISVO/ SOLOVE/ WSAVA/ AVEACA CONGRESSES, 1998, Buenos Aires. **Proceedings...** Buenos Aires: s. n., out. 1998.

BARROS, P. S. M.; ANGELOTTI, A. C.; NOBRE, F.; MORALES, A.; FANTONI, D. F.; BARROS, S. B. M. Antioxidant profile of cataractous English Cocker Spaniels. **Veterinary Ophthalmology**, v. 2, p. 83-86, 1999.

BARROS, P. S. M.; PADOVANI, C. F.; SILVA, V. V.; BARROS, S. B. M. Antioxidant status of aqueous humor of dogs submitted to extracapsular lens extraction. In: AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY OPHTHALMOLOGISTS ANNUAL MEETING, 31., out. 2000, Montreal, Canadá. **Abstract...** Montreal, Canadá: ACVO, 2000, p. 20.

BARROS, P. S. M.; SAFATLE, A. M. V.; SILVA, H. A. R.; BARROS, S. B. M. Ascorbic acid levels in plasma and aqueous humor of dogs with diabetic cataract. In: AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY OPHTHALMOLOGISTS ANNUAL MEETING, 33., out. 2002, Denver, Colorado. **Abstract...**, Denver, Colorado: ACVO, 2002, p. 5.

BEESELEY, R. D.; OLSON, R. J.; BRADY, S. E. The effects of prolonged phacoemulsification time of the corneal endothelium. **Ann Ophthalmol.**, v. 18, p. 216, 1986.

BENDICH, A.; LANGSETH, L. The healthy effects of vitamin C supplementation. A review. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 14, n. 2, p. 124-136, 1995.

BESSEY, O. A.; KING, G. G. The distribution of vitamin C in plant and animal tissue. **Journal of Biology and Chemistry**, v. 103, p. 687-698, 1933.

BHUYAM, K.; BHUYAM, D. Regulation of hydrogen peroxide in eye humors. Effect of 3-amino-1H-1,2,4-triazole on catalase and glutathione peroxidase of rabbit eye. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 494, p. 641-651, 1976.

BLOGG, J. R.; COLES, E. H. Clinicopathological aspects of canine aqueous humor proteins. **Research in Veterinary Science**, v. 12, p. 95-100, 1971.

CAMERON, M. D.; POYER, J. F.; AUST, S. D. Identification of free radicals produced during phacoemulsification. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 27, p. 463-470, 2001.

CARLSON, K. H.; CAMERON, J. D.; LINDSTROM, R. L. Assessment of the blood-aqueous barrier by fluorophotometry following poly(methylmethacrylate), silicone, and hydrogel lens implantation in rabbit eyes. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 19, p. 9-15, 1993.

CHEE, S.; TI, S.; SIVAKUMAR, M.; TAN, D. T. H. Postoperative inflammation: Extracapsular cataract extraction versus phacoemulsification. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 25, p. 1280-1285, 1999.

CLERC, B.; TAPISSIER, J. Correction of aphakia with an in-the-bag implant in the dog. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF VETERINARY OPHTHALMOLOGY MEETING, 1989, Harrogate. **Abstracts...** Harrogate: ISVO, 1989.

COSTARIDES, A. P.; RILEY, M. V.; GREEN, K. Roles of catalase and the glutathione redox cycle in the regulation of anterior-chamber hydrogen peroxide. **Ophthalmic Research**, v. 23, n. 5, p. 284-294, 1991.

CRAIG, M. T.; OLSON, R. J.; MAMALIS, N.; OLSON, R. J. Air bubble endothelial damage during phacoemulsification in human eye bank eyes: The protective effects of Healon and Viscoat. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 16, p. 597-602, 1990.

DAVIDSON, M. G. Towards a better canine intraocular lens. **Veterinary Ophthalmology**, v. 4, p. 1, 2001.

DAVIDSON, M. G.; MURPHY, C. J.; NASISSE, M. P.; HELLKAMP, A. S.; OLIVERO, D. K.; BRINKMANN, M. C.; CAMPBELL, L. H. Refractive state of aphakic and pseudophakic eyes of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 1, p. 174-177, 1993.

DAVIDSON, M. G.; NASISSE, M. P.; RUSNAK, I. M.; CORBETT, W. T.; ENGLISH, R. V. Success rates of unilateral vs. bilateral cataract extraction in dogs. **Veterinary Surgery**, v. 19, n. 3, p. 232-236, 1990.

DAVIDSON, M. G.; NASISSE, M. P.; JAMIESON, V. E.; ENGLISH, R. V.; OLIVERO, D. K. Phacoemulsification and intraocular lens implantation: a study of surgical results in 182 dogs. **Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology**, v. 1, n. 4, p. 233-238, 1991.

DAVIDSON, M. G.; NELMS, S. R. Disease of the lens and cataract formation. In: GELATT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. 3. ed. Lippincott: Williams & Wilkins, 1999. p. 797-825.

DEVAMANOHARAN, P. S.; HENEIN, M.; MORRIS, S.; RAMACHANDRAN, S.; RICHARDS, R. D.; VARMA, S. D. Prevention of selenite cataract by vitamin C. **Experimental Eye Research**, v. 52, n. 5, p. 563-568, 1991.

DIPLOCK, A. T. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, p. 189S-193S, 1991.

DZIEZYC, J. Cataract surgery. Current approaches. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 737-754, 1990.

FORRESTER, J. V.; DICK, A. D.; McMENAMIN, P. G.; LEE, W. R. **The Eye – basic sciences in practice**. 2. ed. W. B. Saunders, 2002. p. 168- 174; 196-204.

FRÖHNER, E.; SILBERSIEPE, E. **Compêndio de patologia quirúrgica para veterinários**. 3. ed. Barcelona: Biblioteca de la Revista veterinária de Espanã, 1948. p. 30.

GAIDDON, J. Endocapsular phacoemulsification and I.O.L. implantation in canine. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF VETERINARY OPHTHALMOLOGY MEETING, 1989, Harrogate. **Abstracts...** Harrogate: ISVO, 1989.

GAIDDON, J.; ROSOLEN, S. G.; STERU, L.; COOK, C. S.; PEIFFER, R. Use of biometry and keratometry for determining optimal power for intraocular lens implants in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, n. 5, p. 781-783, 1991.

GELATT, K. N.; GELATT, J. P. Surgical procedures of the lens and cataracts. In: _____. **Small animal ophthalmic surgery**. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2001. p. 286-335.

GIBLIN, F. J.; MCCREADY, J. P.; KODAMA, T.; REDDY, V. N. A direct correlation between the levels of ascorbic acid and H₂O₂ in aqueous humor. **Experimental Eye Research**, v. 38, p. 87-93, 1984.

GILGER, B. C. Phacoemulsification. Technology and Fundamentals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 27, n. 5, p. 1131-1141, 1997.

GILGER, B. C.; WHITLEY, D. R.; McLAUGHLIN, S. A. Scanning electron microscopy of intraocular lenses that had been implanted in dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 54, p. 1183, 1993.

GILGER, B. C.; WHITLEY, D. R.; McLAUGHLIN, S. A.; WRIGHT, J. C.; BOOSINGER, T. R. Clinicopathologic findings after experimental implantation of synthetic intraocular lenses in dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 54, n. 4, p. 616-621, 1993.

GLOVER, T. D.; CONSTANTINESCU, G. M. Surgery for cataracts. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 27, n. 5, p. 1143-1173, 1997.

GORALSKA, M.; HARNED, J.; FLEISHER, L. N.; McGAHAN, M.C. The effect of ascorbic acid and ferric ammonium citrate on iron uptake and storage in lens epithelial cells. **Experimental Eye Research**, v. 66, n. 6, p. 687-697, 1998.

GÖRIG, C.; WAGNER, F.; MEYER-LINDENBERG, A.; NOLTE, I. Ocular biometry of canine breeds predisposed to cataracts. In: AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY OPHTHALMOLOGISTS ANNUAL MEETING, 31., out. 2000, Montreal, Canadá. **Abstract...** Montreal, Canadá: ACVO, 2000, p. 9.

GUM, G. G.; GELATT, K. N.; OFRI, R. Physiology of the eye. In: GELATT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. 3. ed. Lippincott: Williams & Wilkins, 1999. p. 151-181.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford: Clarendon Press, 1985. p.345.

HARRISON, S. E.; SOLL, D. B.; SHAYEGAN, M.; CLINCH, A. B. Chondroitin Sulfate - A new and effective protective agent for intraocular lens insertion. **Ophthalmology**, v. 89, n. 11, p. 1254-1260, 1982.

HAYASHI, K.; HAYASHI, H.; NAKAO, F.; HAYASHI, F. Corneal endothelial cell loss in phacoemulsification surgery with silicone intraocular lens implantation. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 22, p. 743-747, 1996.

HAZEL, S. J.; THRALL, M. A. H.; SEVERIN, G. A.; LAUERMAN Jr., L. H.; LAVACH, J. D. Laboratory evaluation of aqueous humor in the healthy dog, cat, horse, and cow. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 3, p. 657-659, 1985.

HELPER, L. C. Diseases and surgery of the lens. In: _____. **Magrane's canine ophthalmology**. 4. ed. Philadelphia: London, 1989. p. 215-237.

HILLER, R.; GIACOWETTI, L.; YUEN, K. Sunlight and cataract: an epidemiologic investigation. **American Journal of Epidemiology**, v. 105, n. 5, p. 450-459, 1977.

HÖFLING de LIMA, A. L.; CHALITA, M. R. C. Substancias viscoelásticas. In: REZENDE, F. **Cirurgia da catarata**. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2002. p. 223-226.

HOLST, A.; ROLFSEN, W.; SVENSSON, B.; OLLINGER, K.; LUNDGREN, B. Formation of free radicals during phacoemulsification. **Current Eye Research**, v. 12, p. 359-365, 1993.

HULL, D. S.; GREEN, K.; THOMAS, L.; ALDERMAN, N. Hydrogen peroxide-mediated corneal endothelial damage; induction by oxygen free radicals. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 25, p. 1246-1253, 1984.

JUROWISKI, P.; GOS, R. Direct measurement of nitric oxide levels in aqueous humor with selective iso-NO electrode under physiologic conditions and after phacoemulsification and artificial acrylic lens implantation in experiments on rabbits. **Clin Oczna**, v. 102, n. 5, p. 313-317, 2000.

JUROWISKI, P.; GOS, R.; KEDZIORA, J.; BLASZCZYK, J.; PIASECKA, G. Assessment of nitric oxide level in aqueous humor under physiologic conditions and after lens extraction and artificial foldable acrylic lens implantation during experimental work in rabbits. **Clin Oczna**, v. 102, n. 6, p. 395-398, 2000.

KARAKUCUK, S.; MIRZA, G. E.; EKINCILER, O. F.; SARAYMEN, R.; KARAKUCUK, I.; USTDAL, M. Selenium concentrations in serum, lens, and aqueous humor of patients with senile cataract. **Acta Ophthalmologica Scandinavica**, v. 73, n. 4, p. 329-332, 1995.

KASUYA, M.; ITOI, M.; KOBAYASHI, S.; SUNAGA, S.; SUZUKI, K. T. Changes in glutathione and taurine concentrations in lenses of rat eyes induced by galactose-cataract formation or ageing. **Experimental Eye Research**, v. 54, p. 49-53, 1992.

KELMAN, C. D. Phacoemulsification and aspiration. A progress report. **American Journal of Ophthalmology**, v. 67, p. 464-477, 1969.

KIM, E. K.; CRISTOL, S. M.; KANG, S. J.; EDELHAUSER, H. F.; KIM, H.; LEE, J. B. Viscoelastic protection from endothelial damage by air bubbles. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 28, p. 1047-1053, 2002.

KOSKELA, T. K.; REISS, G. R.; BRUBAKER, R. F.; ELLEFSON, R. D. Is the high concentration of ascorbic acid in the eye an adaptation to intense solar irradiation. **Investigative Ophthalmology Visual Science**, v. 30, p. 2265, 1989.

KOSRIRUKVONGS, P.; SLADE, S. G.; BERKELEY, R. G. Corneal endothelial changes after divide and conquer versus chip and flip phacoemulsification. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v.23, p. 1006-1012, 1997.

KRAFF, M. C.; SANDERS, D. R.; PEYMAN, G. A. Slit lamp fluorophotometry in intraocular lens patients. **Ophthalmology**, v. 87, p. 877-880, 1980.

KROHNE, S. G.; KROHNE, D. T.; LINDLEY, D. M.; WILL, M. T. Use of flaremetry to measure aqueous humor protein concentration in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 206, n. 8, p. 1167-1172, 1995.

LAURELL, C. G.; WICKSTRÖM, K.; ZETTERSTROM, C.; LUNDGREN, B. Inflammatory response after endocapsular phacoemulsification or conventional extracapsular lens extraction in the rabbit eye. **Acta Ophthalmologica Scandinavica**, v. 75, p. 401-404, 1997.

LOVE, W. G. Some diseases of the eye of animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 97, p. 254-260, 1940.

LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

MAGRANE, W. G. Cataract extraction: an evaluation of 104 cases. **Journal Small Animal Practice**, v.1, p. 163-168, 1961.

MAGRANE, W. G. Cataract extraction: a follow-up study (429 cases). **Journal Small Animal Practice**, v. 10, p. 545-553, 1969.

MARKOWITZ, J. **Experimental surgery**. 3. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1954, p. 129.

MARTÍN-ALONSO, J. M.; GHOSH, S.; COCA-PRADOS, M. Cloning of the bovine plasma selenium-dependent glutathione peroxidase (GP) cDNA from the ocular ciliary epithelium: expression of the plasma and cellular forms within the mammalian eye. **Journal of Biochemistry**, v. 114, p. 284-291, 1993.

MASTROPASQUA, L.; LOBEFALO, L.; GALLENGA, P. E. iris chafing in pseudophakia. **Documenta Ophthalmologica**, v. 87, p. 139-144, 1994.

MAYNE, S. T. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 133, p. 933S-940S, 2003.

McLAREN, J. W.; TROCME, S. D.; REIF, S.; BRUBAKER, R. F. Rate of flow of aqueous fluis. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 31, p. 339, 1990.

MELLO, P. A. A.; ARAÚJO FILHO, A. Atualização na cirurgia da catarata. Referência para clínicos. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 50, n. 8, p. 921-932, 1993.

MELTZER, D. W. Sterile hypopyon following intraocular lens surgery. **Archives of Ophthalmology**, v. 98, n. 1, p. 100-104, 1980.

MILLER, T. R.; WHITLEY, R. D.; MEEK, L. A.; GARCIA, G. A.; WILSON, M. C.; RAWLS, B. H. Phacofragmentation and aspiration for cataract extraction in dogs: 56 cases (1980-1984). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 190, n. 12, p. 1577-1580, 1987.

MONTENEGRO, L.; REZENDE, F. Transição extracapsular versus facoemulsificação. In: REZENDE, F. **Cirurgia da catarata**. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2002. p. 175-186.

MURPHY, J. M. Sequele of extracapsular lens extraction in the normal dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 16, p. 47-49, 1980.

MURPHY, C. J.; MUTTI, D. O.; ZADNIK, K.; HOEVE, J. V. Effect of optical defocus on visual acuity in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, p. 414-418, 1997.

MURPHY, C. J.; ZADNIK, K.; MANNIS, M. J. Myopia and refractive error in dogs. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 33, p. 2459-2463, 1992.

NASISSE, M. P.; DAVIDSON, M. G. Surgery of the lens. In: GELATT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. 3. ed. Lippincott: Williams & Wilkins, 1999. p. 827-856.

NASISSE, M. P.; DAVIDSON, M. G.; JAMIESON, V. E.; ENGLISH, R. V.; OLIVERO, D. K. Phacoemulsification and intraocular lens implantation: a study of technique in 182 dogs. **Progress in Veterinary & Comparative Ophthalmology**, v. 1, n. 4, p. 225-232, 1991.

NASISSE, M. P., GLOVER, T. L. Surgery for lens instability. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 27, n. 5, p. 1175-1192, 1997.

PADILHA, M. A. Facoemulsificação: 25 anos de Brasil. **Oftalmologia em Foco**, n. 68, p. 11, 2000.

PANDE, M.; SHAH, S. M.; SPALTON, D. J. correlation between aqueous flare and cells and lens surface cytology in eyes with poly(methyl methacrylate) and heparin-surface-modified intraocular lenses. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v.21, p. 326-330, 1995.

PADOVANI, C. F. **Estudo dos níveis de ácido ascórbico no humor aquoso de cães submetidos experimentalmente à facectomia pelas técnicas extracapsular convencional e facoemulsificação**. 2001. 66 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

PADOVANI, C. F.; BARROS, P. S. M.; SILVA, V. V.; QUEIROZ, L.; BARROS, S. B. M. Avaliação da inflamação ocular em cães submetidos experimentalmente à facectomia extracapsular convencional, através da comparação entre os níveis de ácido ascórbico no humor aquoso e o aspecto clínico do olho operado. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 7, suplemento, p. 162, 2000.

PETRONE, W. F.; ENGLISH, D. K.; WONG, K.; McCORD, J. M. Free radicals and inflammation: superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 77, p. 1159-1163, 1981.

PUNCHARD, N. A.; KELLY, F. J. Introduction. In: PUNCHARD, N. A.; KELLY, F. J. (Ed.). *Free Radicals: a practical approach*. Oxford: University Press, 1996. p. 1-8.

RAO, N. A.; ROMERO, J. L.; FERNANDEZ, M. A. S.; SEVANIAN, A.; MARAK Jr., G. E. Role of free radicals in uveitis. **Survey of Ophthalmology**, v. 32, n. 3, p. 209-213, 1987.

RAO, N. A.; THAETE, L. G.; DELMAGE, M. J.; SEVANIAN, A. Superoxide dismutase in ocular structures. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 26, p. 1778-1781, 1985.

REDDY, V. N.; GIBLIN, F. J.; LIN, L.; CHAKRAPANI, B. The effect of aqueous humor ascorbate on ultraviolet-B-induced DNA damage in lens epithelium. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 39, n. 2, p. 344-350, 1998.

REISS, G. R.; WERNESS, P. G.; ZOLLMAN, P. E.; BRUBAKER, R. F. Ascorbic acid levels in the aqueous humor of nocturnal and diurnal mammals. **Archives of Ophthalmology**, v. 104, p. 753-755, 1986.

REZENDE, F. Tipos de catarata. In: REZENDE, F. **Cirurgia da catarata**. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2002. p. 33-39.

REZENDE FILHO, F.; REZENDE, F. Histórico. In: REZENDE, F. **Cirurgia da catarata**. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2002. p. 3-8.

RINGVOLD, A. The significance of ascorbate in the aqueous humour protection against UV-A and UV-B. **Experimental Eye Research**, v. 62, p. 261-264, 1996.

ROBERTSON, J. M.; DONNER, A. P.; TREVITHICK, J. R. A possible role for vitamins C and E in cataract prevention. **American Journal of Clin Nutrition**, v. 53, n. 1 suppl, p. 346S-351S, 1991.

ROSE, R. C.; BODE, A. M. Ocular ascorbate transport and metabolism. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 100A, n. 2, p. 273-285, 1991.

ROSE, R. C.; RICHER, S. P.; BODE, A. M. Ocular oxidants and antioxidant protection. In: SOCIETY FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY AND MEDICINE, out. 1998. **Proceedings...** v. 217, p. 397-407, 1998.

SAMUELSON, D. A. Ophthalmic anatomy. In: GELATT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. 3. ed. Lippincott: Williams & Wilkins, 1999. p. 31-150.

SCHIFFER, S. P.; RANTANEN, N. W.; LEARY, G. A.; BRYAN, G. M. Biometric study of the canine eye, using A-mode ultrasonography. **American Journal of Veterinary Research**, v. 43, n. 5, p. 826-830, 1982.

SHIMMURA, S.; TSUBOTA, K.; OGUCHI, Y.; FUKUMURA, D.; SUEMATSU, M.; TSUCHIYA, M. Oxiradical-dependent photoemission induced by a phacoemulsification probe. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 33, n. 10, p. 2904-2907, 1992.

SHINGLETON, B. J.; WADHWANI, R. A.; O'DONOGHUE, M. W.; BAYLUS, S.; HOEY, H. Evaluation of intraocular pressure en the immediate period after phacoemulsification. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 27, p. 525-527, 2000.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 25, p. 1058-1071, 1986.

SILVA, V. V.; FRANÇA, D. D.; PADOVANI, C. F.; BARROS, P. S. M.; BARROS, S. B. M. Avaliação da capacidade antioxidante do humor aquoso (HA) em cães submetidos a facectomia pela técnica de facoemulsificação. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 36, supl. 1, n. 16, 2000.

SLATTER, D. Lens. In: _____. **Fundamentals of veterinary ophthalmology**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1990. p. 365-393.

SMITH, P. J.; BROOKS, D. E.; LAZARUS, J. A.; KUBILIS, P. S.; GELATT, K. N. Ocular hypertension following cataract surgery in dogs: 139 cases (1992-1993). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 209, n. 1, p. 105-111, 1996.

SPSS INC. **SPSS Project for Windows 95, version 9.01**. Chicago, 1999. Programa 1 CD-ROM.

STOYANOVSKY, D. A.; GOLDMAN, R.; DARROW, R. M.; ORGANISCIK, D. T., KAGAN, V. E. Endogenous ascorbate regenerates vitamin E in the retina directly and in combination with exogenous dihydrolipoic acid. **Current Eye Research**, v.14, n. 3, p. 181-189, 1995.

TAYLOR, A.; SMITH, D. E.; PALMER, V. J.; SHEPARD, D.; PADHYE, N.; THEIAULT, C.; MORROW, F. Relationships between acetone, cataracts and ascorbate in hairless guinea pigs. **Ophthalmic Research**, v. 25, n. 1, p. 30-35, 1993.

TAYLOR, M. M.; KERIN, T. J.; RIIS, R. C.; McDONOUGH, P. L.; ERB, H. B. Intraocular bacterial contamination during cataract surgery in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 206, n. 11, p. 1716-1720, 1995.

UMEZAWA, S.; SHIMIZU, K. Biocompatibility of surface-modified intraocular lenses. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 19, p. 371-374, 1993.

VARMA, S. D.; DEVAMANO HARAN, P. S.; MORRIS, S. M. Prevention of cataracts by nutritional and metabolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, n. 1-2, p. 111-129, 1995.

VARMA, S. D.; RICHARDS, R. D. Ascorbic acid and the eye lens. **Ophthalmic Research**, v. 20, n. 3, p. 164-173, 1988.

VARMA, S. D.; SRIVASTAVA, V. K.; RICHARDS, R. D. Photoperoxidation in lens and cataract formation: preventive role of superoxide dismutase, catalase and vitamin C. **Ophthalmic Research**, v. 14, p. 167-175, 1982.

WAYNER, D. D.; BURTON, G. W. Measurement of individual antioxidants and radical-trapping activity. In: MIGUEL, J.; QUINTANILHA, A.; WEBER, H. (Ed.). **CRC. Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine**. Boca Raton, FL: CRC Press, 1989. v. III, p 223-232.

WAYNER, D. D.; BURTON, G. W.; INGOLD, K. U.; LOCKE, S. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. The important contribution made by plasma proteins. **FEBS LETTERS**, v. 187, n. 1, p. 33-37, 1985.

WEISS, S. J.; LO BUGLIO, A. F. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. **Laboratorial Investigation**, v. 47, p. 5-18, 1982.

WERNER, L. P.; LEGEAIS, J. M.; DURAND, J.; SAVOLDELLI, M.; LEGEAY, G.; RENARD, G. Endothelial damage caused by uncoated and fluorocarbon-coated poly(methylmethacrylate) intraocular lenses. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 23, p. 1013-1019, 1997.

WHITLEY, R. D.; McLAUGHLIN, S. A.; WHITLEY, E. M.; GILGER, B. C. Cataract removal in dogs: The surgical techniques. **Veterinary Medicine**, v. 9, p. 859-866, 1993.

WILKIE, D. A.; WILLIS, A. M. Viscoelastic materials in veterinary ophthalmology. **Veterinary Ophthalmology**, v. 2, p. 147-153, 1999.

WILLIAMS, D. L.; BOYDELL, I. P.; LONG, R. D. Current concepts in the management of canine cataract: a survey of techniques used by surgeons in Britain, Europe and the USA and a review of recent literature. **The Veterinary Record**, v. 138, p. 347-353, 1996.

ZENG, L. H.; ROOTMAN, D. S.; FUNG, K. P.; WU, T. W. Comparative cytoprotection of cultured corneal endothelial cells by water-soluble antioxidants against free-radical damage. **Cornea**, v. 14, n. 5, p. 509-514, 1995.

SUBCONJUNTOS	Nº DO ANIMAL	1º OLHO OPERADO	IMPLANTE DE LIO
A	01	OD	OE
	06	OD	OE
	12	OD	OE
B	02	OE	OD
	07	OE	OD
	08	OE	OD
C	03	OD	OD
	05	OD	OD
	09	OD	OD
D	04	OE	OE
	10	OE	OE
	11	OE	OE

APÊNDICE A - Aleatoriedade dos procedimentos cirúrgicos a partir da escolha da seqüência cirúrgica entre os olhos e do olho em que a lente intra-ocular foi implantada

LIO = lente intra-ocular
OD = olho direito
OE = olho esquerdo

Nº DO ANIMAL	GRUPO	T0	T1	T2	T3	T7	T14
01	Pseudofácico	0,40	7,15	4,06	0,75	0,67	0,31
	Afácico	0,31	7,29	1,88	0,48	0,51	0,31
02	Pseudofácico	0,65	6,80	4,51	2,04	1,10	0,95
	Afácico	0,98	3,82	1,37	1,06	0,86	0,46
03	Pseudofácico	0,79	1,89	1,45	1,15	1,05	0,41
	Afácico	0,87	1,54	1,34	1,34	0,46	0,56
04	Pseudofácico	0,49	9,67	3,87	2,77	1,90	1,20
	Afácico	0,51	3,08	2,64	1,92	1,30	0,65
05	Pseudofácico	0,36	6,56	4,33	3,50	1,56	0,68
	Afácico	0,36	3,06	3,61	2,67	0,94	0,40
06	Pseudofácico	0,22	5,17	7,39	2,67	1,26	0,76
	Afácico	0,39	3,22	2,17	2,11	0,66	0,30
07	Pseudofácico	0,22	3,98	3,36	1,84	2,00	1,46
	Afácico	0,18	0,86	1,52	1,08	0,56	0,79
08	Pseudofácico	0,38	3,84	2,00	2,21	1,33	0,92
	Afácico	0,34	3,74	1,42	1,85	0,94	0,65
09	Pseudofácico	0,38	43,7	17,1	14,9	6,97	1,09
	Afácico	0,48	11,9	12,9	10,4	3,31	1,14
10	Pseudofácico	0,62	21,4	7,15	1,98	0,78	1,27
	Afácico	0,45	4,68	3,87	1,20	0,24	0,39
11	Pseudofácico	0,43	6,98	5,26	3,26	3,50	2,14
	Afácico	0,29	2,24	1,95	1,53	0,61	0,64
12	Pseudofácico	0,07	15,3	3,85	2,68	1,42	1,00
	Afácico	0,07	3,80	1,20	2,58	1,52	0,89

APÊNDICE B - Resultados individuais da concentração de proteínas no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, caracterizando os grupos de olhos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em g de proteína/L de humor aquoso)

T0 = período pré-operatório

T1 = período pós-operatório de 1 dia

T2 = período pós-operatório de 2 dias

T3 = período pós-operatório de 3 dias

T7 = período pós-operatório de 7 dias

T14 = período pós-operatório de 14 dias

Nº DO ANIMAL	GRUPO	T0	T1	T2	T3	T7	T14
01	Pseudofácico	66	32	46	52	44	51
	Afácico	67	32	54	67	34	43
02	Pseudofácico	38	32	26	36	35	38
	Afácico	61	55	34	56	39	50
03	Pseudofácico	58	34	32	29	28	28
	Afácico	50	34	42	37	34	36
04	Pseudofácico	56	41	41	42	44	53
	Afácico	55	40	44	42	41	68
05	Pseudofácico	86	39	41	50	51	56
	Afácico	72	52	47	60	54	56
06	Pseudofácico	76	40	47	51	64	68
	Afácico	74	58	83	84	99	60
07	Pseudofácico	69	46	63	53	50	62
	Afácico	62	53	66	57	63	69
08	Pseudofácico	49	46	45	44	45	65
	Afácico	52	49	51	56	42	68
09	Pseudofácico	68	41	47	54	52	51
	Afácico	71	42	38	57	39	55
10	Pseudofácico	72	38	54	43	57	61
	Afácico	81	35	59	58	76	69
11	Pseudofácico	70	33	34	42	51	62
	Afácico	61	47	48	50	59	76
12	Pseudofácico	47	57	52	65	43	44
	Afácico	43	80	64	66	53	53

APÊNDICE C - Resultados individuais da capacidade antioxidante total no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, caracterizando os grupos de olhos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em minutos-tempo de indução)

T0 = período pré-operatório

T1 = período pós-operatório de 1 dia

T2 = período pós-operatório de 2 dias

T3 = período pós-operatório de 3 dias

T7 = período pós-operatório de 7 dias

T14 = período pós-operatório de 14 dias

Nº DO ANIMAL	GRUPO	T0	T1	T2	T3	T7	T14
01	Pseudofácico	362,6160	112,1408	117,9988	184,9605	164,3894	197,1379
	Afácico	348,3580	150,2479	108,0686	174,7294	230,8683	286,2346
02	Pseudofácico	349,5644	133,4630	127,8948	176,4748	216,4047	225,2183
	Afácico	364,0259	216,4889	210,2734	233,8973	247,7194	280,7750
03	Pseudofácico	295,2507	194,7063	205,5239	202,9670	163,8033	143,5227
	Afácico	327,9778	190,0124	175,7825	206,0680	201,5007	166,4590
04	Pseudofácico	263,9943	116,8077	141,2233	149,5092	165,5247	146,9500
	Afácico	247,6718	135,8966	188,6369	167,2250	210,0582	174,6880
05	Pseudofácico	317,0898	92,29444	103,4899	107,8549	155,1400	165,2266
	Afácico	302,6257	101,2361	117,8328	229,8801	183,4520	174,5350
06	Pseudofácico	359,0272	133,2001	124,6487	163,1004	251,1737	270,3837
	Afácico	399,4698	228,3227	251,6063	249,4164	342,6617	340,9654
07	Pseudofácico	310,9327	151,9490	191,9687	199,6490	257,6467	233,3276
	Afácico	311,2818	157,8460	182,8896	246,7973	304,8425	313,8113
08	Pseudofácico	261,7279	153,9311	171,0903	217,8015	207,4937	208,3460
	Afácico	222,0057	154,6826	180,3674	225,9971	210,7677	222,3240
09	Pseudofácico	327,7661	138,4027	222,2394	263,2244	269,6187	275,6482
	Afácico	278,5517	174,2406	211,6577	266,6036	242,8754	240,5330
10	Pseudofácico	296,6760	183,0910	253,0650	292,8871	251,8710	254,3430
	Afácico	272,8270	221,8970	298,4900	289,7389	310,2850	333,8960
11	Pseudofácico	264,9565	139,0072	114,3530	137,6712	167,4544	258,1606
	Afácico	288,6668	200,2394	172,1483	169,5941	239,2074	245,2925
12	Pseudofácico	296,7280	166,4650	165,0710	135,625	170,5170	186,4780
	Afácico	271,2480	210,4099	185,0776	170,0402	230,4080	255,1320

APÊNDICE D - Resultados individuais da concentração de ácido ascórbico no humor aquoso de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular, caracterizando os grupos de olhos pseudofácicos e afácicos, respectivamente (resultados expressos em μmol de ácido ascórbico/L de humor aquoso)

T0 = período pré-operatório
T1 = período pós-operatório de 1 dia
T2 = período pós-operatório de 2 dias
T3 = período pós-operatório de 3 dias
T7 = período pós-operatório de 7 dias
T14 = período pós-operatório de 14 dias

Nº DO ANIMAL	T0	T1	T2	T3	T7	T14
01	52,1968	35,1076	61,7319	50,2127	62,0262	45,0242
02	40,1319	39,9384	29,6985	43,5663	32,4048	38,6626
03	41,6884	32,7030	31,4313	34,3816	34,2686	22,0264
04	61,0171	40,5374	59,4745	46,5706	48,0426	39,2145
05	39,8743	28,1185	48,7980	26,5266	33,5693	20,3417
06	72,5936	57,3524	52,3547	46,9093	65,2419	54,0809
07	42,9044	39,8556	67,7213	54,8340	39,0318	46,7284
08	46,2622	52,8954	85,5766	49,4686	62,3868	50,5022
09	38,3069	42,9853	64,8457	52,2989	49,8654	40,5942
10	35,6835	44,2992	53,6490	57,3637	45,6148	29,9650
11	31,3023	30,6169	38,2805	34,1405	32,7250	32,4202
12	35,2541	42,7500	45,3820	30,5184	38,5329	43,4344

APÊNDICE E - Resultados individuais da concentração de ácido ascórbico no plasma de cães submetidos à facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular (resultados expressos em μmol de ácido ascórbico/L de plasma)

LIO = lente intra-ocular

T0 = período pré-operatório

T1 = período pós-operatório de 1 dia

T2 = período pós-operatório de 2 dias

T3 = período pós-operatório de 3 dias

T7 = período pós-operatório de 7 dias

T14 = período pós-operatório de 14 dias

Nº DO ANIMAL	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	
	SEM IMPLANTE DE LIO	COM IMPLANTE DE LIO
01	16,00	35,00
02	20,00	40,00
03	15,00	32,00
04	10,00	25,00
05	13,00	24,00
06	20,00	32,00
07	11,00	23,00
08	21,00	30,00
09	40,00	30,00
10	15,00	30,00
11	10,00	22,00
12	18,00	28,00
MÉDIA	17,42	29,25

APÊNDICE F - Tempo cirúrgico utilizado para realização da facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular em cães, a contar do momento da incisão até a sutura corneana (resultados expressos em minutos)

LIO= lente intra-ocular

Nº DO ANIMAL	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	
	SEM IMPLANTE DE LIO	COM IMPLANTE DE LIO
01	348	324
02	60	96
03	258	318
04	96	114
05	258	270
06	450	474
07	60	150
08	204	132
09	192	114
10	324	234
11	90	114
12	66	48
MÉDIA	200,50	199

APÊNDICE G - Tempo de ultra-som utilizado para realização da facoemulsificação com e sem implante de lente intra-ocular em cães (resultados expressos em segundos)

LIO = lente intra-ocular

Nº DO ANIMAL	NOME
01	Philip
02	Cesar
03	Davi
04	Alcione
05	Elizabeth
06	Stephany
07	Leci
08	Iracema
09	Manuela
10	Frida
11	Brigitte
12	Lucíola

APÊNDICE H - Animais utilizados no experimento